



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE ABDELHAMID IBN BADIS–MOSTAGANEM



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Domaine : S.N.V

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie Moléculaire et Cellulaire

THESE

PRESENTEE POUR L'OBTENTION DU DIPLOME

DE DOCTORAT 3ème cycle LMD

Par

ZIADI Hajer

THEME

**Analyse et Caractérisation Moléculaire des populations des
Entérobactéries résistantes aux antibiotiques associées aux
infections urinaires**

Date de soutenance : 15 juin 2026

Membres de jury

Bouderoua Kaddour	Professeur	Université de Mostaganem	Président
Chougrani Fadela	Professeur	Université de Mostaganem	Directrice de these
Cheriguene Abdelrrahim	Professeur	Université de Mostaganem	Co-directeur
Dahou Abdelkader A	Maître de ConférenceA	Université de Mostaganem	Examineur
Bekada Ahmed	Professeur	Université de Tissemsilet	Examineur
Mora Azucena	Professeur	Univ de Santiago del Compostella (Espagne)	Invitée

Laboratoire de Biodiversité et de Conservation des Eaux et des Sols

Année universitaire 2025/2026

بسم الله الرحمن الرحيم

قال الله تعالى:

وكان فضل الله عليك عظيما

الآية 113 سورة النساء

Dédicaces

A mes très Chers parents !

Remerciements

‘Chacun de nous doit de sincères remerciement a ceux qui ont ravivé leur flamme’

Albert Schweitzer

Mon Dieu,

Toi qui m’as accompagnée dans les moments de doute comme dans ceux de joie, je Te rends grâce pour m’avoir donné la force, la patience et la persévérance nécessaires pour mener ce travail à terme. Que Ta lumière continue de me guider dans mes pas.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

Tout d’abord, un immense merci à mes superviseurs **Prof. Chougrani F et Prof. Cheriguene A**, pour m’avoir confié l’intitulé de cette recherche, ainsi que pour leur soutien constant, leur positivité et leurs encouragements tout au long de cette étude.

Je remercie chaleureusement **Prof. Azucena Mora et Dr. Vanessa García** pour leur encadrement précieux dans le cadre du programme *Erasmus+KA171*, fruit de la coopération entre l’Université de Mostaganem et l’Université de Santiago de Compostela.

Je tiens également à remercier les membres du jury pour l’intérêt qu’ils ont porté à mon travail et pour leurs remarques enrichissantes.

Je suis reconnaissante envers **Leticia Carballeira** pour sa précieuse contribution au travail d’analyse génomique, Je remercie aussi **Carla Cano, Pablo Arias** et Laura pour leur aide précieuse dans mes recherches à l’Université de Santiago de Compostela.

Ma gratitude va aussi aux membres du laboratoire centarl de l’hôpital de Bekaria-Tebessa, en particulier **Dr. Zouaoui A, M. Zoghlami**, Naoufel, ainsi qu’aux filles du laboratoire (Amel, Mouna, Assia, Aya, Kenza.. etc.), pour leur soutien et leur aide précieuse. Un grand merci à **Dr. Geussoum A**, directrice du laboratoire Analyse *Elite*, ainsi qu’à Dr. Khaoula et Chaïma, pour leur soutien inestimable.

Un immense merci au **Dr. Mustafa** pour toute son aide précieuse durant ma période doctorale, en particulier pour son soutien dans l’analyse bioinformatique.

Je remercie infiniment **Prof. El-Hadidy** pour m’avoir accueillie au Centre de Génomique de Zewail City, Egypt ainsi que **Salma, Sama, Mustafa, Omer, Youcef** et toute l’équipe du centre pour leur aide et leur soutien dans ma compréhension de l’analyse du génome entier, ainsi que pour les précieuses connaissances transmises en microbiologie et en bioinformatique.

Je tiens également à remercier mes collègues, les docteurs, **Othmani, Souidi, Tualbia, Feknous, Zaoui, Boudjela, Bekairi, Hemimid** ainsi qu’à tous mes collègues des universités de Mostaganem et de Tébéssa pour leur collaboration et leur encouragement constant et son suivi bienveillant tout au long de mon doctorat et un grand merci à

À mes amies **Mohja, Dr. Nagwa et Alzebta Ondrichova, Rima, Joujou** merci pour votre précieuse amitié et votre soutien inconditionnel.

Enfin, une pensée toute particulière à ma famille : **mes sœurs, mon frère et sa petite famille**, ainsi que tous les membres de ma famille et les proches qui m’ont soutenue tout au long de cette aventure.

Je conclus en adressant mes plus chaleureux remerciements à toutes les personnes dont le nom ne figure pas ici, mais qui ont contribué d’une manière ou d’une autre à la réalisation de ce travail.

ملخص:

يعد الانتشار العالمي لعائلة البكتيريا المعوية *Enterobacteriaceae* المقاومة للمضادات الحيوية المتعددة المرتبطة بكمية بعدوى المسالك البولية مصدر قلق كبير للصحة العامة. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم انتشار هذه العائلة في المستشفيات والمجتمعات في ولاية تبسة، الجزائر .

تم جمع 301 عزلة من عائلة *Enterobacteriaceae* بين جويلية 2022 وجانفي 2024 ثم تم تحديد الأنواع المتواجدة فيها، لنتيجة باختبار حساسية المضادات الحيوية مع تحديد النمط الظاهري لمقاومة المضادات الحيوية باستعمال نظام Vitek. تم بعدها قمنا باختيار 50 عزلة من *Escherichia coli* و 22 عزلة من *Klebsiella pneumoniae* متعددة المقاومة لمضادات الحيوية و ذات النمط الظاهري البيتا لاكتاماز واسع الطيف E-BLSE، كما تم في الأخير إجراء تسلسل الجينوم الكامل (WGS) على السلالة ST1193..

كشفت التحليل عن انتشار مرتفع للمقاومة، حيث تم التعرف على 48.50% من العزلات كمنتجة E-BLSE و 5.98% كمنتجة للبيتا لاكتاماز من نوع AmpC. بالإضافة إلى ذلك، أظهرت 18.9% من العزلات مقاومة للكاربينيم، مما يعقد العلاج. أظهرت *E. coli* أعلى إنتاج للـ (52.82%) *ESBL*، بينما كانت *Enterobacter cloacae* هي المنتج الرئيسي للـ *AmpC*..

ومن المثير للقلق، تم اكتشاف أن 80.73% من العزلات كانت مقاومة للأدوية المتعددة مع مؤشر المقاومة المتعددة المضادات الحيوية أكبر من 0.2، من جهة أخرى 64.78% من العزلات المسببة للعدوى البولية كانت مكتسبة في المستشفيات. علاوة على ذلك، الفحص الجزيئي يكشف أن جميع عزلات *K. pneumoniae* تقريباً، باستثناء واحدة، كانت تحمل *blaCTX-M-15*، مع عزلة واحدة تحمل *blaCTX-M-194*، منهما عزلتين كلاهما تحمل النمط الجيني المزدوج *blaCTX-M-15* و *blaNDM* مع اظهارها لخصائص شديدة الخطورة (*hvKp*).. أما في *E. coli*، تم تحديد عدة جينات مقاومة AmpC *blaCTX-M-15* و *blaCTX-M-27* و *blaOXA-48* في ثلاث عزلات. أظهرت التحليلات للنمط الجيني أن معظم عزلات *E. coli* كانت تنتمي إلى المجموعة النمط الجيني B2، كما وجدنا 3 أنواع من المجموعات الكلونية عالية الخطورة *CC131 CH40-30* (عزلة 17) *CC14* (عزلة 1) و *CC 38* (عزلة 12)

تُظهر هذه الدراسة انتشار سلالات *E. coli CC131* و *E. coli CC 38* والعزلات (*hvKp*) في الجزائر لأول مرة مقارنة بدراسات سابقة، كما تقدم أول تقرير عن *E. coli ST1193* في الجزائر مع قلة الأبحاث عليه في افريقيا، بالإضافة إلى أول تقرير عن *blaCTX-M-27* المرافق لـ *blaOXA-48* تشير هذه النتائج إلى الحاجة الملحة لتعزيز برامج المراقبة وإدارة المضادات الحيوية لمكافحة تهديد الصحة العامة المتزايد.

الكلمات الرئيسية: التهاب المسالك البولية (UTI) ، /يشيريشيا كولاي، كليبسيلا نيومونيا ، ST13153 ، ST1193 ، BLSE، الكاربابينيميزات، الجزائر

Résumé

La propagation mondiale des Entérobactéries résistantes aux antibiotiques (MDR) responsables des infections urinaires (IU) constitue un problème de santé publique majeur. Cette étude examine la prévalence des isolats uropathogènes d'Enterobacteriaceae résistants aux antibiotiques, acquis dans les hôpitaux et les communautés de Tébessa, en Algérie.

Un total de 301 isolats d'Entérobactéries a été collecté entre juillet 2022 et janvier 2024. L'identification des espèces, le test de sensibilité antimicrobienne et la détermination des phénotypes de résistance ont été réalisés à l'aide du système Vitek 2. 50 isolats d'*E. coli* et 22 de *K. pneumoniae* résistants aux céphalosporines à spectre étendu (ESC) ont été caractérisés phénotypiquement et génotypiquement, avec un WGS effectué sur le clone ST1193.

L'analyse a révélé une forte prévalence de résistance, avec 48,50 % des isolats identifiés comme producteurs de β -lactamases à spectre étendu (ESBL) et 5,98 % comme producteurs de β -lactamases AmpC. De plus, 18,9 % des isolats ont présenté une résistance aux carbapénèmes, compliquant le traitement. *E. coli* a montré la plus forte production d'ESBL (52,82 %), tandis qu'*Enterobacter cloacae* était le principal producteur d'AmpC. Alarmant, 80,73 % des isolats étaient MDR (indice MAR > 0,2), et 64,78 % des isolats uropathogènes étaient acquis à l'hôpital. De plus, tous les isolats de *K. pneumoniae*, à l'exception d'un, portaient *blaCTX-M-15*, avec un isolat portant *blaCTX-M-194*. Deux isolats de *K. pneumoniae* coportant *blaCTX-M-15* et *blaNDM* ont montré des caractéristiques de virulence hypergénique (hvKp). Chez *E. coli*, divers gènes de résistance ESC ont été identifiés, dont *blaCTX-M-15*, *blaCTX-M-27*, et *blaOXA-48* dans trois isolats. L'analyse phylogénétique a révélé que la plupart des isolats de *E. coli* appartenaient au groupe phylogénétique B2, incluant des complexes clonnaux à haut risque CC131 CH40-30 (17 isolats) et CC38 (12 isolats).

L'analyse in silico du génome ST1193 a montré une forte similarité avec un génome annoté précédemment dans un hôpital du nord-ouest de l'Espagne. Cette étude met en évidence la propagation des clones *E. coli* CC131 et des isolats hvKp en Algérie, rapportant pour la première fois le *E. coli* ST1193 en Algérie avec des rapports très limités en Afrique, ainsi que la première détection de *blaCTX-M-27* co-produit avec *blaOXA-48*. Ces résultats soulignent la nécessité d'améliorer la surveillance et la gestion des antibiotiques pour faire face à la menace croissante pour la santé publique.

Mots-clés: infection urinaire (IU), *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, 53 ST131, ST1193, BLSE, carbapénémases, Algérie.

Abstract

The global spread of multidrug-resistant (*MDR*) *Enterobacteriaceae* causing urinary tract infections (*UTIs*) is a significant public health concern. This study investigates the prevalence of *MDR* uropathogenic *Enterobacteriaceae* isolates acquired in hospital and community settings in Tébessa, Algeria.

A total of 301 *Enterobacteriaceae* isolates were collected between July 2022 and January 2024. Species identification, antimicrobial susceptibility testing, and resistance phenotype determination were performed using the Vitek 2 system. Fifty *Escherichia coli* and 23 *Klebsiella pneumoniae* isolates resistant to extended-spectrum cephalosporins (*ESC*) were phenotypically and genotypically characterized, with whole-genome sequencing (*WGS*) conducted on the *ST1193* clone.

The analysis revealed a high prevalence of resistance, with 48.50% of isolates identified as extended-spectrum β -lactamase (*ESBL*) producers and 5.98% as AmpC β -lactamase (*AmpC*) producers. Additionally, 18.9% of isolates exhibited carbapenem resistance, making treatment challenging. *E. coli* exhibited the highest *ESBL* production (52.82%), while *Enterobacter cloacae* was the main *AmpC* producer. Alarming, 80.73% of isolates were *MDR* (*MAR* index > 0.2). Notably, 64.78% of uropathogenic isolates were hospital-acquired. Furthermore, *K. pneumoniae* isolates, all but one harbored *blaCTX-M-15*, with a single isolate carrying *blaCTX-M-194*. Two *K. pneumoniae* isolates co-harboring *blaCTX-M-15* and *blaNDM* exhibited both phenotypic and genotypic hypervirulence (*hvKp*). In *E. coli*, various *ESC* resistance genes were identified, including *blaCTX-M-15*, *blaCTX-M-27*, and *blaOXA-48* in three isolates. Phylogenetic analysis revealed that the most of *E. coli* isolates belonged to phylogroup *B2*, including high-risk clonal complexes *CC131 CH40-30* (17 isolates) and *CC38* (12 isolates). Characterization of the *CC131* clone revealed virotypes *F* and *E* in 59% of isolates. *In silico* analysis of the *ST1193* genome showed similarity to a previously annotated genome from a hospital in Spain.

This study highlights the spread of *E. coli CC131* clones and *hvkp* isolate in Algeria, reporting for the first report of *E. coli ST1193* in Algeria with limit reports in Africa and first report of the variant *blaCTX-M-27* co-produced with *blaOXA-48*. These findings underscore the need for enhanced surveillance and antibiotic management to address the rising public health threat.

Keywords: urinary tract infection (UTI), *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, 53 *ST131*, *ST1193*, *ESBL*, carbapenemases, Algeria

Table de Matières

Table de Matières

Remerciements

ملخص

Résumé

Abstract

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations et symboles

Introduction 1

Partie bibliographique 4

Chapitre I 5

Généralité des Entérobactéries 5

I.1- Entérobactéries 6

I.1.1- Généralité sur les entérobactéries 6

I.1.2.- Habitat et Importance Écologique 6

I.1.3- Pathogénicité et Infections Associées 6

I.1.4- Classification et Évolution Taxonomique 9

I.1.5- Identification des Entérobactéries 9

I.1.5.1- Importance d'une identification bactérienne fiable 9

I.1.5.2- Nouvelles technologies d'identification bactérienne 11

Chapitre II 13

Antibiotiques et Mécanismes de Résistance des Entérobactéries 13

II.1- Antibiotiques et Mécanismes de Résistance des Entérobactéries 14

II.1.1- Facteurs favorisant la résistance aux antibiotiques 14

II.1.2.- Conséquences médicales et économiques 14

II.1.3- Origine ancienne de la résistance aux antibiotiques 15

II.1.4- Types de Résistance 15

II.1.4.1- Résistance naturelle 15

II.1.4.2- Résistance acquise 18

II.1.4.3- Résistance adaptative 19

II.1.5- Mécanismes de la résistance naturelle/acquise aux β -lactamines chez les entérobactéries	19
II.1.5.1- β -lactamines	19
II.1.5.2- Mode action des β -lactamines	21
II.1.5.3- Production de β -lactamases	21
II.1.5.4- Classification des β -lactamases	22
II.1.5.4.1- β -lactamases à spectre élargi (BLSE)	23
II.1.5.4.1- Carbapénemases	27
II.1.5.5- Production des inhibiteurs de β -lactamases	30
II.2- Mécanismes de la résistance aux Fluoroquinolones et la Résistance des Entérobactéries	33
II.2.1-Classification des Fluoroquinolones	33
II.2.2-Mécanisme d'action des fluoroquinolones	34
II.2.3-Mécanismes de résistance aux fluoroquinolones chez les entérobactéries	34
Chapitre III	36
Entérobactéries résistantes aux antibiotiques associées aux infections urinaires	36
III.1. Entérobactéries résistantes aux antibiotiques associées aux infections urinaires	37
III.1.1-Infections urinaires	37
III.1.2- Epidémiologie des infections urinaires	37
III.1.2.1- IUs non compliquées	37
III.1.2.2- IUs compliquées	38
III.1.3- Entérobactéries résistantes aux antibiotiques chez les IUs	38
III.1.3.1- <i>E coli</i>	38
III.1.3.1.1- <i>E coli</i> et les infections urinaires	39
III.1.3.1.2- Pathotypes d' <i>E.coli</i>	42
III.1.3.1.3- Clones ST à haut risque d' <i>E. coli</i> : Une menace pandémique internationale de bactéries MDR	43
III.2.2- <i>K. pneumoniae</i>	48
III.2.2.1- <i>K. pneumoniae</i> et les infections urinaires	48
III.2.2.2- Types de <i>k. pneumouniae</i>	48
Partie expérimentale	51
Chapitre IV	52

Materiel et Methodes	52
IV.1- Présentation de travail	54
IV.1.1-Présentation géographique de la wilaya de Tebessa	55
IV.1.2-Population cible	56
IV.1.3-Critères d'inclusion et exclusion	56
IV.2- Description les isolats Uropathogènes	56
IV.3- Isolement des souches	57
IV.4- Identification des souches	57
IV.5- Etude la résistance aux antibiotiques	58
IV.5.1-Sensibilité aux antibiotiques	58
IV.5.2-Détection des souches MDR/XDR	59
IV.5.3. Calcul de l'indice de résistance aux antibiotiques multiples	59
IV.5.4-Résistance aux ciprofloxacines	60
IV.5.5-Détection des entérobactéries productrices BLSE/AmpC	60
IV.6. Conservation des isolats	61
IV.7- Analyse Moléculaire	61
IV.7.1-Re-isolement des souches	61
IV.7.2-Évaluation de la fermentation du lactose	62
IV.7.3-Confirmation des souches productrices des BLSE/Carbapénémases	62
IV.7.4-Caractérisation moléculaire des souches multi-résistantes	62
IV.7.4.1- Extraction d'ADN	62
IV.7.4.2- Réaction du PCR	63
IV.7.4.3- Confirmation l'identification des souches	66
IV.7.4.4- Détection des gènes de résistance aux antibiotiques	67
IV.7.4.5- Caractérisation moléculaire de <i>E. coli</i> : Traits de virulence, Groupement phylogénétique, Clonotypage et Virotypage	68
IV.7.4.5.1- Traits de virulence	69
IV.7.4.5.2- Pathotypage d' <i>E. coli</i> pathogène extra-intestinal (ExPEC)/Uropathogène (UPEC)	69
IV.7.4.5.3- Groupement phylogénétique et clonotypage	70
IV.7.4.5.4- Virotypage	70

IV.7.4.6- Caractérisation moléculaire de <i>K. pneumoniae</i> hypervirulente : Gènes associés à la virulence	74
IV.7.4.6.1- Détection de l'hypermucoïdité	74
I.7.4.6.2- Détection des gènes de virulence de <i>K. pneumoniae</i> hypervirulent	75
IV.7.4.7- Test de sensibilité aux antimicrobiens (AST) des souches sélectionnées	77
IV.7.4.8- Purification les produits PCR pour séquençage	77
IV.7.4.9- Séquençage par l'utilisation de Sanger	80
IV.7.4.10- Analyse bio-informatique	80
IV.7.4.10.1- Lecture des séquences	80
IV.7.4.10.2- Analyse in silico	77
IV.8- Séquençage du Génome Entier (WGS) et Analyse Bioinformatique	80
IV.8.1-Protocole de séquençage du génome entier (WGS) et d'analyse bioinformatique d'un isolat d' <i>E. coli</i> (fliCH5-B2/CH14-64)	81
IV.8.1.1-Extraction et quantification de l'ADN	81
IV.8.1.2-Séquençage de l'ADN	81
IV.8.1.3-Assemblage et annotation du génome	81
IV.8.1.4-Analyses bioinformatiques	82
IV.8.1.5. Analyse phylogénétique	82
IV.8.1.6. Recherche complémentaire	83
Chapitre V :Résultats et discussion	85
V.1- Distribution des infections urinaires selon les espèces	86
V.2- Sélection des Entérobactéries productrices aux BLSE	87
V.2.1- Etude la résistance aux antibiotiques chez les Entérobactéries	87
V.2.2- Détection des E-BLSE/AmpC associées aux infections urinaires	88
V.3-Detection des MDR chez les Entérobactéries	89
V.4-Facteurs de risque liés à la production de BLSE	90
V.5- Distribution les espèces selon la production de BLSE/AmpC	92
V.6- Etude la résistance aux antibiotiques chez E-BLSE/AmpC et productrices de carbapénémases	94
V.6.1- Profil de résistance aux antibiotiques des souches E-BLSE/AmpC et productrices de carbapénémases	94

V.6.2- Détection des souches /MDR/XDR chez les BLSE-E/AmpC-E	97
V.6.3- Calcul de l'indice de résistance aux antibiotiques multiples (MAR)	98
V.6.4- Résistance aux Ciprofloxacines (FQR)	99
V.7- Molecular Analysis of <i>E. coli</i> and <i>K. Pneumoniae</i>	97
V.7.1- Molecular Analysis of <i>E. coli</i>	100
V.7.1.1- Confirmation l'identification d' <i>E.coli</i>	100
V.7.1.2- Distribution des uropathogènes <i>E. coli</i> sélectionnées en fonction de la fermentation de Lactose	101
V.7.1.3- Facteurs de risques liés aux <i>E coli</i> sélectionnées	102
V.7.1.4- Détection moléculaire des gènes de beta-lactamases	103
V.7.1.5- Analyse des souches BLSE discordantes par la PCR	108
V.7.1.6- Colistine : une efficacité conservée contre les <i>E. coli</i> producteurs de BLSE	109
V.7.1.7- Analyse des gènes de sérotypage O et H (O25b, H4, H5)	110
V.7.1.8-Phylougroupe associés aux IUs	111
V.7.1.9- Statut de ExPEC/UPEC	112
V.7.1.10-Phylogroupe-clonotype (PG-CH)	112
V.7.1.11-Clones à haut risque d' <i>E. coli</i>	114
V.7.1.11.1- Complexes Clones <i>E. coli</i> CC131	115
V.7.1.11.2- Complexe Clonal CC14 : Première Détection en Algérie	122
V.7.1.11.2.1- Caractérisation in silico du clone ST1193	124
V.7.1.11.2.1.1- Résistance aux antibiotiques in silico	121
V.7.1.11.2.1.2- Facteurs de virulence in silico	129
V.7.1.11.2.1.2- Analyse plasmidique in silico	134
V.7.1.11.2.1.3- Prédiction l'origine de clone in silico	131
V.7.1.11.2.1.4- Epidémiologie de ST1193	135
V.7.1.11.2.1.5- Typage cgMLST de ST1193 en Algérie : premières données génétiques et lien avec des souches européennes	136
IV.7.1.11.3- Complexe Clonal CC38	138
V.7.2- Analyse Moléculaire du <i>K. Pneumoniae</i>	141
V.7.2.1- Détection de gènes de résistances chez <i>K. pneumoniae</i>	141

V.7.2.2- Détection des <i>K. pneumoniae</i> hypervirulentes (hvKP)	143
Conclusion	146
Références bibliographiques	149
Annexes	202

Liste des figures

Tableau	Titre	Page
Tableau 01	Classification des entérobactéries	6
Tableau 02	Caractéristiques Bactériologiques, Biochimiques et Antigéniques des Entérobactéries Opportunistes	8
Tableau 03	Principaux caractères biochimiques de certaines entérobactéries	10
Tableau 04	Classification des <i>Entérobactéries</i> selon la production de β -lactamases.	17
Tableau 05	Classes de β -lactamines	20
Tableau 06	Classification des β -lactamases	23
Tableau 07:	BLSE mineurs	27
Tableau 08	Inhibiteurs des β -lactamases	32
Tableau 09	Classification des antibiotiques fluoroquinolones et leurs spectres d'activité	33
Tableau 10	Principaux mécanismes de résistance bactérienne aux fluoroquinolones.	35
Tableau 11	Principaux types d'adhésines chez <i>E. coli</i> uropathogènes	40
Tableau 12	Classification des pathotypes ExPEC et UPEC	42
Tableau 13	Caractéristiques d' <i>E. coli</i> ST131 et ST1193	44
Tableau 14	Caractéristiques des souches <i>E. coli</i> ST38	46
Tableau 15	Clones ST émergents et multirésistants d' <i>E. coli</i> : caractéristiques clés	47
Tableau 16	Caractéristiques principales de Ckp et hvKP	49
Tableau 17	Cibles et amorces utilisées pour l'identification de <i>E. coli</i> et <i>K. pneumoniae</i>	63
Tableau 18	Cibles et amorces utilisées pour les gènes de résistance 'BLSE'.	64
Tableau 19 :	Cibles et amorces utilisées pour les gènes de résistances 'Carbapénemases'	65
Tableau 20	Cibles et amorces utilisées pour <i>rfbO25b</i> , <i>fliCH₄</i> , <i>fliCH₅</i>	66
Tableau 21	Cibles et amorces utilisées pour les gènes du statut d'ExPEC.	67
Tableau 22	Cibles et amorces utilisées pour les gènes du statut d'UPEC.	67
Tableau 23	Cibles et amorces utilisées pour les gènes de phylougroupe d' <i>E. coli</i> .	68

Tableau 24	Cibles et amorces utilisées pour les gènes de clonotypage	69
Tableau 25	Schéma de désignation des virotypes pour <i>E. coli</i> CC131	69
Tableau 26	Cibles et amorces utilisées pour les gènes de déterminer les virotypes d' <i>E. coli</i> ST131.	71
Tableau 27	Cibles et amorces utilisées pour les gènes de hypervirulentes <i>K. pneumoniae</i> .	73
Tableau 28	Outils bioinformatiques utilisés pour l'analyse in silico des souches d' <i>E. coli</i> et leurs références associées.	79
Tableau 29	Matrice de distances SNP entre souches <i>E. coli</i>	80
Tableau 30	Matrice de distances SNP entre les souches ST1193 d' <i>E. coli</i>	81
Tableau 31	Facteurs de risque liés à la production de BLSE.	88
Tableau 32	Profil de résistance aux antibiotiques des souches E-BLSE/AmpC et productrices de carbapénémases.	92
Tableau 33	Répartition des Entérobactéries et leur profil de résistance.	94
Tableau 34	Distribution des espèces selon l'indice de résistance aux antibiotiques multiples.	95
Tableau 35	Facteurs de risques liés aux <i>E. coli</i>	99
Tableau 36	Gènes de résistance aux antibiotiques de souches d' <i>E. coli</i> isolées de patients hospitalisés.	104
Tableau 37	Gènes de résistance aux antibiotiques de souches d' <i>E. coli</i> isolées de patients de la communauté.	105
Tableau 38	Répartition des phylogroupes d' <i>E. coli</i> .	108
Tableau 39	Phylogroupes, clonotype, statut UPEC et ExPEC avec FQR pour les souches d' <i>E. coli</i> .	110
Tableau 40	Caractéristiques des isolats d' <i>E. coli</i> CC131 producteurs de CTX-M-15.	113
Tableau 41	Distribution temporelle et sources d'isolement du clone CC131 producteur de CTX-M-15 en Algérie.	116

Tableau 42	Caractéristiques préliminaires de l'isolat d' <i>E. coli</i> Ec1b/LREC468.	120
Tableau 43	Caractérisation du génome ST1193 in silico.	121
Tableau 44	Gènes de résistance acquis et mutations ponctuelles associés à la multirésistance chez <i>E.coli</i> ST1193.	124
Tableau 45	Détection de gènes de résistance aux antibiotiques par génomique fonctionnelle (ResFinderFG).	126
Tableau 46	Gènes de virulence de ST1193 in silico.	128
Tableau 47	Caractéristiques plasmidiques et classification phylogénétique de l'isolat <i>E. coli</i> ST1193 in silico.	131
Tableau 48	Caractéristiques phénotypiques et génétiques des isolats <i>E. coli</i> ExPEC CC38 : profils de résistance, gènes de virulence et clonotypes.	137
Tableau 49	Gènes de résistance aux antibiotiques de souches de <i>K. pneumoniae</i> isolées de patients du milieu hospitalier et la communauté.	139
Tableau 50	Principales caractéristiques de virulence et de résistance aux antibiotiques des quatre souches phénotypiques hypermucoviscieuses de <i>K. pneumoniae</i> .	141

Listes des Tableaux

Figure	Titre	Page
Figure 01	Exemples d'éléments génétiques mobiles (EGM) et processus impliqués dans la mobilité intracellulaire ou le transfert intercellulaire des gènes de résistance aux antibiotiques	18
Figure 02	Groupes du variantes ds <i>blaCTX-M</i>	26
Figure 03	Mécanismes de la résistance aux fluoroquinolones	35
Figure 04	Epidémiologie des infections urinaires	38
Figure 05	Système Vitek 2 (bioMérieux).	55
Figure 06	Cassette de ViteK2 AST 233 (bioMérieux SA)	56
Figure 07	Schéma explicatif du dépôt des disques d'antibiotiques	58
Figure 08	Procédure d'extraction d'ADN	60
Figure 09	Thermocycleur 2720 Applied Biosystem	61
Figure 10	Préparation du gel d'agarose.	62
Figure 11	Electrophorèse d'agarose	62
Figure 12	Gel Doc XE	63
Figure 13	Thermocycleur 96 puits	74
Figure 14	Test de sensibilité aux antimicrobiens	75
Figure 15	Extraction d'ADN	76
Figure 16	Distribution des infections urinaires selon les espèces.	83
Figure 17	Profil de résistance aux antimicrobiens des isolats d'Entérobactéries provenant de patients atteints d'infections urinaires (IUs) (n = 301) évalué par le système Vitek 2	85
Figure 18	Distribution des E-BLSE/AmpC associées aux IUs.	86
Figure 19	Distribution des espèces multirésistantes associées aux IUs.	87
Figure 20	Distribution les espèces selon la production de BLSE/AmpC.	90
Figure 21	Distribution de BLSE-E/AmpC-E selon la résistance aux FQR.	96
Figure 22	Résultats du PCR ciblant le gène <i>uidA</i> .	98

Figure 23	Répartition des souches uropathogènes selon leur capacité à fermenter le lactose.	99
Figure 24	Distribution des gènes de résistance.	101
Figure 25	Distribution des souches selon la production de <i>blaOXA-48</i> .	102
Figure 26	Sensibilité des souches BLSE d' <i>E. coli</i> à la colistine	106
Figure 27	Distribution des gènes O et H (O25b, H4, H5) chez les isolats étudiés.	107
Figure 28	Statut des souches ExPEC/UPEC.	109
Figure 29	Distribution des clones à haut risque parmi les isolats : répartition des complexes clonaux CC131, CC14 et CC38.	112
Figure 30	Virotypage de CC131	117
Figure 31	Fréquence des gènes <i>papAH</i> , <i>papGII</i> et <i>papGIII</i> chez les isolats ST131 responsables de pyélonéphrites.	118
Figure 32	Arbre phylogénétique basé sur l'analyse des SNP du génome entier	134
Figure 33	Distribution des gènes de résistance aux antibiotiques chez <i>K. pneumoniae</i> .	138
Figure 34	Test de "string" positif indiquant une hypermuco-viscosité.	141

Liste des abréviations et symboles

- **AAC** : Aminoglycoside Acetyltransferase (acétylation des aminoglycosides, inactivation)
- **aac(3)-IIa** : Aminoglycoside 3-N-acétyltransférase type IIa
- **aac(6')-Ib-cr** : Aminoglycoside 6'-N-acétyltransférase variant "cr" (confère aussi une faible résistance aux fluoroquinolones)
- **ADN** : Acide désoxyribonucléique
- **AmpC** : β -lactamase de classe C ou céphalosporinase
- **ARN** : Acide ribonucléique
- **aslA** : sulfatase putative
- **chuA** : récepteur de l'hème de la membrane externe
- **csgA** : sous-unité majeure des curli (CsgA)
- **fdeC** : adhésine de type intimin FdeC
- **fimH** : fimbriae de type 1
- **fyuA** : récepteur de sidérophore
- **gad** : glutamate décarboxylase
- **iha** : protéine d'adhérence
- **irp2** : protéine de haut poids moléculaire 2, synthétase de peptide non ribosomale
- **iucC** : synthétase de l'aérobactine
- **iutA** : récepteur de l'aérobactine ferrique
- **kpsE** : protéine d'export du polysaccharide capsulaire (membrane interne)
- **kpsMII_K1** : protéine de transport de l'acide polysialique, capsule de groupe 2
- **neuC** : protéine de biosynthèse de la capsule à acide polysialique
- **nlpI** : précurseur de la lipoprotéine NlpI
- **ompT** : protéase de membrane externe (protéase 7)
- **papA_F43** : sous-unité majeure des pilines F43
- **sat** : toxine autotransporteuse sécrétée
- **shiA** : homologue du gène *shiA* de l'îlot de pathogénicité SHI-2 de *Shigella flexneri*
- **sitA** : protéine de transport du fer

- **terC** : protéine de résistance aux ions telluriques
- **usp** : protéine spécifique des *E. coli* uropathogènes
- **vat** : toxine vacuolisante autotransporteuse
- **yehA** : lipoprotéine de membrane externe, cluster fimbrial YHD
- **yehB** : usher, cluster fimbrial YHD
- **yehC** : chaperon, cluster fimbrial YHD
- **yehD** : sous-unité majeure des pilines, cluster fimbrial YHD
- **yfcV** : protéine fimbriale
- **ATCC** : *American Type Culture Collection*
- **ATP** : Adénosine triphosphate
- **beta_lactamase** : Enzyme hydrolysant les β -lactamines (pénicillines, céphalosporines, etc.)
- **bla** : Gène codant une β -lactamase
- **blaCTX-M-15** : β -lactamase CTX-M-15 (résistance aux céphalosporines de 3^e génération)
- **blaOXA-1** : β -lactamase OXA-1 (résistance à certaines pénicillines)
- **BLAST** : *Basic Local Alignment Search Tool*
- **BLSE** : β -lactamases à spectre élargi ou étendu
- **C1G/C2G/C3G/C4G** : Céphalosporines de 1^{ère}, 2^{ème}, 3^{ème} et 4^{ème} génération
- **Cat** : Chloramphénicol acétyltransférase (enzyme inactivant le chloramphénicol)
- **catB3** : Chloramphénicol acétyltransférase B3
- **CC** : Clonal Complex (Complexe clonale)
- **cgMLST** : Core Genome Multi-Locus Sequence Typing (Typage par séquence de multiples loci du génome central)
- **cgST** : Core Genome Sequence Typing (Typage par séquence du génome central)
- **ChuA** : récepteur de l'hémine de la membrane externe
- **CMI** : Concentration minimale inhibitrice
- **CMY** : (classe de β -lactamases, souvent associée à AmpC)
- **CMY-59** : Beta-lactamase de type CMY-59 (résistance aux céphalosporines de 3^e génération)

- **CsgA** : sous-unité majeure de la curlin
- **CTX-M** : Famille de β -lactamases à spectre étendu (Extended Spectrum β -Lactamases)
- **Dfr** : Dihydrofolate réductase résistante (résistance au triméthoprim)
- **DHA** : (famille de β -lactamases AmpC plasmidiques)
- **EAEC** : Enteroaggregative *Escherichia coli* (*Escherichia coli* enteroagréatif, associé aux diarrhées et infections chroniques)
- **E-BLSE** : Entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu
- **EC-BLSE** : *Escherichia coli* productrice de β -lactamases à spectre étendu
- **EC-non-BLSE** : *Escherichia coli* non productrice de β -lactamases à spectre étendu
- **E-non BLSE** : Entérobactéries non productrices de β -lactamases à spectre étendu
- **EUCAST** : *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*
- **FdeC** : adhésine de type intimin-like
- **FimH** : fimbriae de type 1
- **FQ** : Fluoroquinolones
- **FQR** : Fluoroquinolone Resistance (Résistance aux fluoroquinolones)
- **FQR** : Fluoroquinolone-Resistant (résistant aux fluoroquinolones)
- **FyuA** : récepteur de sidérophore
- **Gad** : décarboxylation de glutamate
- **GES** : Famille de β -lactamases à spectre élargi
- **gyrA p.D87N** : Mutation D87N dans gyrA (fluoroquinolones)
- **gyrA p.S83L** : Mutation S83L dans gyrA (résistance aux fluoroquinolones)
- **Iha** : protéine d'adhésion
- **Inc** : Incompatibilité plasmidique (classification des plasmides)
- **IR** : Inhibiteur de β -lactamase (Inhibitor Resistant)
- **Irp2** : protéine de haut poids moléculaire 2
- **IU** : Infection(s) urinaire(s)
- **IucC** : synthétase d'aérobactine
- **IutA** : récepteur d'aérobactine ferrique
- **KpsE** : protéine de transport de la capsule

- **KpsMII_K1** : protéine de transport de l'acide polysialique
- **MBL** : Métallo- β -lactamase
- **MDR** : *Multidrug Resistance* (résistance à plusieurs antibiotiques)
- **MDR** : Multi-Drug Resistant (résistant à au moins trois classes d'antibiotiques)
- **MSLT** : Multi-Locus Sequence Typing (Typage par séquence de plusieurs loci)
- **NeuC** : protéine de biosynthèse de la capsule à acide polysialique
- **NLF** : *Non-Lactose Fermenter* (Non-fermentant du lactose)
- **NlpI** : précurseur de lipoprotéine
- **NpmA** : Enzyme de résistance aux aminoglycosides
- **OmpT** : protéase de membrane externe
- **OXA** : Famille de β -lactamases à spectre élargi ou carbapénémases
- **OXA-48** : Beta-lactamase OXA-48 (résistance aux β -lactamines, notamment les carbapénèmes)
- **PapA_F43** : sous-unité majeure des pilines F43
- **parC p.S80I** : Mutation S80I dans parC (fluoroquinolones)
- **parE p.L416F** : Mutation L416F dans parE (fluoroquinolones)
- **PCR** : *Polymerase Chain Reaction* (Réaction en chaîne par polymérase)
- **PER** : Famille de β -lactamases à spectre élargi
- **PLP** : Protéines de liaison à la pénicilline (*Penicillin-Binding Proteins*)
- **PMQR** : Résistance plasmidique aux quinolones (*Plasmid-Mediated Quinolone Resistance*)
- **Qnr** : Gènes codant des protéines de protection de l'ADN gyrase contre les quinolones
- **qPCR** : *Quantitative Polymerase Chain Reaction*
- **Sat** : toxine autotransportée sécrétée
- **ShiA** : homologue du gène SHI-2 de *Shigella flexneri*
- **SHV** : Famille de β -lactamases (sulfhydryl-variable)
- **SitA** : protéine de transport du fer
- **SNP** : Single Nucleotide Polymorphism (Polymorphisme de nucléotide unique)

- **ST** : Sequence Type (type de séquence multilocus)
- **TEM** : Famille de β -lactamases (du nom du premier patient *Temoniera*)
- **TerC** : protéine de résistance aux ions tellurium
- **Tia** : déterminant d'invasion
- **UFC** : Unités formant colonies
- **UPEC** : *Uropathogenic Escherichia coli* (E. coli uropathogène)
- **Usp** : protéine spécifique uropathogène
- **UV** : Ultra-violet
- **van_ligase** : Enzyme impliquée dans la résistance à la vancomycine (modification de la cible)
- **Vat** : toxine autotransportée vacuolante
- **WGS** : Whole Genome Sequencing (Séquençage du génome entier)
- **XDR** : *Extensively Drug-Resistant* (résistance étendue aux antibiotiques)
- **YehA** : lipoprotéine de la membrane externe du cluster fimbrial YHD
- **YehB** : usher du cluster fimbrial YHD
- **YehC** : chaperone du cluster fimbrial YHD
- **YehD** : sous-unité majeure du pilin du cluster fimbrial YHD
- **YfcV** : protéine fimbriale

Introduction

Les infections constituent une menace majeure pour la santé humaine quelle que soit leur origine. Parmi elles, les infections urinaires (IUs) qui sont considérées comme l'une des affections les plus fréquentes à l'échelle mondiale, affectant chaque année des millions de personnes. Elles représentent un enjeu de santé publique aussi bien en milieu communautaire qu'en milieu hospitalier, en raison de leur incidence élevée, de leur potentiel de complications et de l'augmentation des résistances antimicrobiennes associées (**X. Yang et al., 2022; H. Ahmed et al., 2023**), Il s'agit de la deuxième infection la plus fréquente après celles du système respiratoire. Constituant ainsi un fardeau sanitaire mondial qui affecte des individus de tous âges et indépendamment de leur état de santé (**Flores-Mireles et al., 2015; Amawi et al., 2021**).

Les IUs sont responsables d'une morbidité et d'une mortalité importantes, malgré les nombreuses stratégies de prévention mises en place. Elles entraînent également un lourd impact économique. (**Flores-Mireles et al., 2015; Brons et al., 2020; Zagaglia et al., 2022**). Aux États-Unis, le coût économique des IU récidivantes dépasse les 5 milliards de dollars par an (**Mancuso et al., 2023a**). À l'échelle mondiale, environ 375 106 décès ont été attribués aux IU en 2019 (**Ikuta et al., 2022**). Sur le plan clinique, les IU varient en fonction de leur gravité, allant de formes bénignes à des infections potentiellement fatales (**García et al., 2023**). Elles se classent généralement en deux catégories : les IUs non compliquées, qui surviennent en l'absence d'anomalies structurelles ou fonctionnelles des voies urinaires et sont habituellement traitées par antibiothérapie, et les IUs compliquées, qui sont causées par des dysfonctionnements anatomiques ou fonctionnels tels qu'une obstruction urinaire, une rétention, une immunosuppression, une insuffisance rénale, la grossesse ou un cathétérisme (**Jindal et al., 2022; Zagaglia et al., 2022; Grey et al., 2023; Mancuso et al., 2023a**).

Certaines populations sont particulièrement vulnérables aux IUs, les femmes sont les plus touchées en raison de la configuration anatomique de leur système urinaire, qui favorise la colonisation par des agents pathogènes (**Czajkowski et al., 2021; García-Meniño et al., 2024**). Les jeunes enfants, notamment en bas âge, sont également exposés, avec une prévalence plus élevée chez les filles après la première année de vie (**Tullus & Shaikh, 2020**). De plus, les personnes immunodéprimées, comme les patients diabétiques ou sous traitement anticancéreux, présentent un risque accru. Chez ces individus, les pathogènes peuvent franchir plus facilement la barrière urothéliale, parfois sans provoquer de symptômes classiques (**Tolkoff-Rubin & Rubin, 1997; Tandogdu et al., 2016**). L'antibiorésistance constitue une problématique majeure dans les IUs, souvent liée à la présence de bactéries multirésistantes (**Klein & Hultgren, 2020**). Ainsi, les IUs représentent la deuxième cause la plus fréquente de prescription

d'antibiotiques (Fésüs et al., 2023., García-Meniño et al., 2024). Les bactéries sont les principaux agents responsables des IUs (Grey et al., 2023), tandis que les levures, virus et parasites sont plus rarement impliqués, ce qui limite les recherches sur ces pathogènes. Parmi les bactéries, les espèces à Gram négatif sont prédominantes, représentant 90 % des IUs (Fares et al., 2023). Les Entérobactéries sont les principaux agents étiologiques des IUs acquises en milieu hospitalier et communautaire (Gupta et al., 2019).

L'augmentation de la résistance aux antibiotiques au sein des Entérobactéries est une préoccupation croissante, notamment contre des antibiotiques couramment utilisés tels que l'ampicilline, l'acide clavulanique, les céphalosporines, les fluoroquinolones et le triméthoprim/sulfaméthoxazole. Cette tendance est observée dans le monde entier, y compris en Algérie (Faine et al., 2022; Fares et al., 2023), et contribue à l'émergence de souches multirésistantes (Orakzai et al., 2021). Les IUs causées par des Entérobactéries produisant des bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE), des céphalosporinases (AmpC) ou des carbapénémases représentent une menace croissante pour la santé publique (Tamma et al., 2024). Ces MDR sont à l'origine de nombreuses infections nosocomiales et communautaires (Gupta et al., 2019; Mirzaei et al., 2021; Benmoumou et al., 2023). Dans cette famille, *Escherichia coli* est responsable de plus de 80 % des cas d'IUs (Klein & Hultgren, 2020) et est considéré comme l'agent pathogène le plus important (Iskandar et al., 2021), suivi par *Klebsiella Pneumoniae*, qui est impliqué dans environ 23 % des IUs (Khadka et al., 2023).

La résistance croissante aux antibiotiques des Entérobactéries est principalement responsable de la menace qu'il représente. La dissémination de ces souches a été associée à un fardeau économique considérable et à une pression accrue sur les systèmes de santé, entraînant potentiellement une augmentation de la mortalité et de la morbidité en raison des échecs thérapeutiques (Iskandar et al., 2021; Xedzro et al., 2023). Cette menace croissante résulte de la capacité d'Entérobactéries à acquérir des gènes situés sur des plasmides transférables codant pour des BLSE, permettant à ces enzymes d'hydrolyser la pénicilline, les céphalosporines (de troisième et quatrième générations) et les monobactames. Les β -lactamases TEM et SHV ont été les premières BLSE décrites. Chez l'*E. coli* et *K. pneumoniae*, les enzymes de type CTX-M sont les plus courantes (Mancuso et al., 2023b; Xedzro et al., 2023).

En Algérie, comme dans de nombreux pays à revenu faible et intermédiaire (LMICs), la résistance aux antimicrobiens constitue un enjeu majeur de santé publique, favorisé par l'usage inapproprié des antibiotiques et l'insuffisance de programmes efficaces de bon usage (antibiotic stewardship). À l'échelle régionale, l'étude *Global burden of bacterial antimicrobial*

resistance in 2019, publiée dans *The Lancet* (**Murray et al., 2022**), a mis en évidence l'impact considérable de la résistance bactérienne dans la région du Moyen-Orient et de l'Afrique du Nord (MENA), avec environ 7 687 décès (IC 95 % : 6 663–8 969) associés aux infections urinaires en 2019.

À l'échelle nationale, plusieurs études régionales ont rapporté la circulation préoccupante d'uropathogènes multirésistants, en particulier *E. coli* et *K. pneumoniae*. Dans la région de Tizi-Ouzou, les isolats d'*E. coli* responsables d'infections urinaires ont présenté des taux élevés de résistance à des antibiotiques couramment utilisés (**Ait-Mimoune et al., 2022**). De plus, la diffusion de souches multirésistantes de *K. pneumoniae* productrices de carbapénémases a été signalée dans différentes régions du pays, avec l'identification de clones à haut risque tels que ST258, ST101 et ST512 (**Bakour et al., 2015; Brahmia et al., 2021a**).

Par ailleurs, des études menées dans plusieurs hôpitaux algériens ont mis en évidence la présence de gènes de résistance de type BLSE (**Benbrahim et al., 2021**). À l'échelle locale, notamment dans la wilaya de Tébessa, une association significative entre l'usage inapproprié des antibiotiques et l'augmentation de la prévalence des bactéries productrices de BLSE a été rapportée (**Fares et al., 2023**). Ces observations s'inscrivent dans une tendance similaire à celle décrite dans d'autres régions du pays, où la dispensation d'antibiotiques sans prescription médicale demeure fréquente (**Nabti et al., 2019; Zenati et al., 2019**). L'ensemble de ces données souligne l'intérêt d'une approche de géographie épidémiologique pour analyser la distribution régionale de la résistance aux antimicrobiens en Algérie, dans un contexte caractérisé par l'absence d'un système national de surveillance structuré, les données disponibles provenant principalement d'études académiques isolées (**Touati & Mairi, 2020a**).

Malgré ces constats, l'analyse et la caractérisation moléculaire des Entérobactéries résistantes aux antibiotiques en Algérie, et plus particulièrement dans la région de Tébessa, restent limitées. En particulier, les données concernant les complexes clonaux à haut risque, tels que ST131 et ST1193 chez *E. coli*, demeurent rares. Or, la biologie moléculaire occupe une place centrale en microbiologie clinique, notamment grâce au séquençage du génome entier (Whole Genome Sequencing, WGS). Cette approche permet une identification précise des souches bactériennes, la détection des gènes de résistance et de virulence, ainsi qu'une meilleure compréhension des mécanismes de dissémination des bactéries multirésistantes.

Dans ce contexte, la présente étude vise à évaluer l'apport des techniques de biologie moléculaire, en particulier le séquençage du génome entier, dans l'analyse des Entérobactéries

résistantes aux antibiotiques. Elle s'intéresse spécifiquement à *E. coli* et *K. pneumoniae* isolées d'infections urinaires, dans le but de réaliser leur analyse et leur caractérisation moléculaire. L'étude a pour objectifs de déterminer la prévalence des clones *E. coli* ST131 et ST1193 résistants aux fluoroquinolones et producteurs de BLSE au sein de notre collection, ainsi que d'évaluer la prévalence de souches hypervirulentes de *K. pneumoniae* productrices de carbapénémases.

Le présent travail est structuré en deux parties.

La première partie est dédiée à une synthèse bibliographique structurée en trois chapitres : le premier présente les généralités sur les Entérobactéries ; le deuxième est consacré aux antibiotiques et aux mécanismes de résistance développés par les Entérobactéries ; tandis que le troisième traite des Entérobactéries résistantes aux antibiotiques associées aux infections urinaires.

La partie expérimentale est également subdivisée en deux chapitres :

- Le premier décrit le matériel et les méthodes utilisés ;
- Le second est dédié à la présentation et à la discussion des résultats obtenus.

Le manuscrit se termine par une conclusion générale résumant l'ensemble des résultats de l'étude.

Partie bibliographique

Chapitre I

Généralité sur les Entérobactéries

I.1- Entérobactéries

I.1.1- Généralité sur les *Entérobactéries*

Les Entérobactéries sont un groupe de microorganismes qui partagent des caractéristiques biochimiques et morphologiques communes. Elles se distinguent par leur forme de bacilles droits, Gram-négatifs et non sporulés. La plupart des espèces peuvent être cultivées sur des milieux de culture ordinaires ou sélectifs à 37°C pendant 24 heures, bien que certaines préfèrent des températures plus basses (Mlaga et al., 2017; Marathe et al., 2019).

I.1.2.- Habitat et Importance Écologique

La famille des Entérobactéries (**Tableau 01**) est taxonomiquement diverse et largement répandue dans l'environnement, notamment dans les végétaux, le sol, l'eau et les aliments. Elles sont également présentes dans le système digestif de l'homme et des animaux vertébrés, où elles jouent un rôle essentiel dans la digestion, l'immunité et la santé générale. Certaines espèces sont commensales, tandis que d'autres sont pathogènes (Santos et al., 2020).

Tableau 01 : Classification des entérobactéries (Whitman, 2015) :

Rangs taxonomiques	Classification
Domaine	<i>Bacteria</i>
Embranchement	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre	<i>Enterobacteriales</i>
Famille	<i>Enterobacteriaceae</i>

I.1.3- Pathogénicité et Infections Associées

Parmi les bactéries pathogènes de cette famille, on retrouve : *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, et *Morganella morganii*. Chaque espèce possède un profil biochimique spécifique permettant son identification et sa caractérisation, aussi bien phénotypiquement qu'à l'échelle moléculaire. Ces bactéries sont responsables de diverses infections humaines et animales, notamment des infections respiratoires qui sont les plus répandues, suivies des infections urinaires, gastro-intestinales, la septicémie et la méningite (Octavia & Lan, 2014). Ces entérobactéries peuvent être classées en fonction de leur pathogénicité, avec des souches commensales non pathogènes d'une part, et des souches pathogènes d'autre part, qui peuvent entraîner des maladies graves, surtout chez les personnes immunodéprimées. Le **Tableau 02** présente les caractéristiques bactériologiques,

biochimiques et antigéniques de ces entérobactéries, afin de mieux comprendre leur diversité et leur rôle dans les infections humaines.

Tableau 02: Caractéristiques Bactériologiques, Biochimiques et Antigéniques des Entérobactéries Opportunistes (Victoire, 2019).

	Caractères Bactériologiques	Caractères Biochimiques	Caractères Antigéniques
<i>E. coli</i>	BGN, bacilles polymorphes, mésophile (température optimale de 37°C et pH optimal de 7), multiplication rapide (18-24h à 37°C), et colonies rondes, plates, à bords réguliers.	Absence d'uréase, fermentation de lactose, absence de production d'oxydase, production d'indole, absence de croissance sur le citrate et pas de production de H ₂ S.	Trouvée en forme commensale dans le microbiote intestinal de l'homme et des animaux, responsables de troubles intestinaux (diarrhées aiguës), et causant des infections extra-intestinales.
<i>K. pneumoniae</i>	BGN immobile, colonies mucoïdes, volumineuses (3-4mm), bombées, brillantes, opaques et parfois filantes, et formation de dépôt muqueux en milieu liquide	Aéro-anaérobie facultative, fermentation du glucose avec production de gaz, et absence d'oxydase.	Responsable d'infections communautaires (pneumonies lobaires nécrosantes, abcès pulmonaires, pleurésies purulentes), infections nosocomiales (infections urinaires, bactériémies, pneumonies, infections de sites opératoires, infections néonatales).
<i>E. cloacae</i>	BGN anaérobie facultatif, colonies rondes, légèrement plates avec bords irréguliers, et flagelles péritriches.	Production d'acide à partir de la fermentation du glucose, test de Voges-Proskauer positif, test du rouge de méthyle négatif, et température optimale de croissance à 30°C.	Pathogène opportuniste hospitalier (infections urinaires, bactériémies, méningites, abcès cérébraux, infections de plaies, infections intra-abdominales), et source d'épidémies et transmission croisée entre patients.
<i>C. freundii</i>	Bacille ou coccobacille Gram négatif, anaérobie facultatif, et flagelles péritriches assurant la mobilité.	Fermentation du mannitol, production de H ₂ S, et utilisation du citrate de Simmons comme source de carbone.	Agent pathogène opportuniste d'origine nosocomiale, infections : voies urinaires, bactériémies, sepsis abdominaux, abcès cérébraux, pneumonies, infections néonatales, et infections du SNC plus fréquentes chez les nourrissons de moins de 2 mois.
<i>M. morganii</i>	BGN mobile, et colonies plates.	Capacité de produire l'uréase et la tryptophane désaminase, fermentation du glucose, réduction du nitrate en nitrite et production d'indole.	Trouvée dans l'environnement et le tractus intestinal de l'homme, mammifères et reptiles, majorité des bactériémies acquises dans la communauté, infections des voies urinaires, hépatobiliaires, cutanées et tissus mous et infections graves chez les immunodéprimés.

I.1.4- Classification et Évolution Taxonomique

D'un point de vue taxonomique, la famille des Entérobactéries comprend actuellement plus de 170 espèces, réparties en 53 genres différents, dont 26 sont associés à des infections humaines (Octavia & Lan, 2014; Mlaga et al., 2017). L'avènement de la taxonomie moléculaire a permis une classification plus précise. Des technologies récentes, comme la MLST (analyse de séquences multilocus), qui repose sur le séquençage de plusieurs gènes ménagers, ont été développées pour différencier les isolats et les souches au sein de cette famille (Bouaziz, 2018).

Grâce aux avancées du séquençage de nouvelle génération (NGS) et du séquençage du génome entier (WGS), la classification des Entérobactéries a subi d'importantes modifications. Récemment, certains membres ont été reclassés dans des familles distinctes, telles que : *Budviciaceae*, *Erwiniaceae*, *Hafniaceae*, *Morganellaceae*, *Pectobacteriaceae*, *Yersiniaceae*). Toutes ces familles appartiennent désormais à l'ordre des Enterobacterales (Marathe et al., 2019). La description taxonomique des nouveaux membres de la famille est importante pour comprendre les risques sanitaires associés et prévenir la propagation des infections (Marathe et al., 2019).

I.1.5- Identification des Entérobactéries

I.1.5.1- Importance d'une identification bactérienne fiable

L'identification des entérobactéries est cruciale pour diagnostiquer les infections liées à ces bactéries opportunistes, qui sont fréquemment responsables de pathologies dans les environnements communautaires et hospitaliers. Les entérobactéries, un groupe de bactéries Gram-négatives, sont classifiées et identifiées grâce à diverses techniques, parmi lesquelles les tests biochimiques, phénotypiques, et moléculaires. Les caractéristiques biochimiques jouent un rôle essentiel dans la distinction entre les genres et les espèces, en permettant d'analyser leur capacité à fermenter des sucres, à produire de l'indole, ou à réduire les nitrates en nitrites, l'utilisation du citrate de Simmons comme seule source de carbone, la production d'uréas, la désamination du tryptophane (Victoire, 2019)

Le tableau suivant (**Tableau 3**) présente les tests biochimiques couramment utilisés pour l'identification des principales espèces d'entérobactéries. Ces tests incluent des paramètres qui permettent d'affiner le profil biochimique de chaque souche et distinguer les genres et espèces au sein de la famille d'entérobactéries. Ils sont essentiels dans l'identification phénotypique

traditionnelle et sont également intégrés ces tests ont été intégrés dans des galeries miniaturisées comme API E20/Api E10 (bioMérieux), permettant une identification en 24 heures (**Riegel et al., 2016**), et l'utilisation d'automates couplés à des logiciels d'interprétation permet d'obtenir une identification encore plus rapide, en seulement 7 heures. Parmi ces systèmes, on retrouve le système Vitek 2 (bioMérieux) (**Funke & Funke-Kissling, 2004**) et le Phoenix (BD) (**Carroll et al., 2006**). Ces outils combinent plusieurs de ces tests pour établir un profil biochimique précis facilitant la classification et l'identification bactérienne en milieu clinique ou de recherche.

Tableau 03: Principaux caractères biochimiques de certaines entérobactéries (**Victoire, 2019**)

	<i>Esch</i>	<i>Citro</i>	<i>Entero</i>	<i>Kleb</i>	<i>Serr</i>	<i>Salm</i>	<i>Shig</i>	<i>Prot</i>	<i>Prov</i>	<i>Yers</i>	<i>Morg</i>
Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
ONPG	+	+	+	+	+	-	+/-	-	-	+	-
Indole	+	-	-	+/-	-	-	+/-	+/-	+	+/-	+
VP	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-
Citr	-	+	+	+	+	+/-	-	+/-	+	-	-
Mob.	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+
Urée	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+
TDA	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+
H ₂ S	-	+/-	-	-	-	+	-	+/-	-	-	+

ONPG = Ortho NitroPhényl Galactoside ; VP = Voges Proskauer ; Citr = citrate ; Mob = mobilité ; TDA = Tryptophane désaminase ; H₂S =

Hydrogène sulfureux ; Esch = Escherichia ; Citro = Citrobacter ; Entero = Enterobacter ; Kleb = Klebsiella ; Serr = Serratia ; Salm = Salmonella ; Shig = Shigella ; Prot = Proteus ; Prov = Providencia ; Yers = Yersinia ; Morg= Morganella ; (+) = positif ; (+/-) = variable ; (-)

= négatif

Cependant, ces dernières années, l'identification en microbiologie clinique a connu une véritable révolution grâce à l'émergence de nouvelles technologies offrant des résultats rapides et fiables, permettant ainsi de prendre des décisions thérapeutiques plus rapidement.

I.1.5.2- Nouvelles technologies d'identification bactérienne

Ces nouvelles techniques permettent d'obtenir des résultats en un temps record par rapport aux méthodes classiques :

- **Méthodes phénotypiques**, telles que la MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight), ont révolutionné l'identification bactérienne. Ce système offre une identification rapide et précise en analysant les profils protéiques des bactéries, permettant de contourner certaines limitations des tests biochimiques traditionnels (belbel, 2014; Mhaya, 2019; Victoire, 2019).
- **Méthodes Moléculaires**

- ✓ **L'analyse de l'ARN 16S ribosomique**

Toutes ces méthodes automatisées sont associées à des logiciels d'interprétation qui comparent les résultats obtenus à des bases de données de référence, facilitant ainsi une identification précise des bactéries (Riegel et al., 2016).

- ✓ **Méthodes moléculaires d'identification**

Avec les limites des techniques phénotypiques (lenteur, ambiguïtés d'interprétation), les **méthodes moléculaires** se sont imposées comme des outils de référence pour l'identification précise des entérobactéries. Elles reposent sur l'analyse directe du matériel génétique (ADN ou ARN), permettant de détecter des séquences spécifiques propres à chaque espèce ou à certains gènes de résistance. Parmi les techniques les plus utilisées, on retrouve :

- **Séquençage du gène 16S rRNA** : une méthode moléculaire permettant d'identifier les bactéries en se basant sur une séquence d'ARN spécifique à chaque espèce (Octavia & Lan, 2014).
- **PFGE (Pulsed-Field Gel Electrophoresis) et MLST (Multilocus Sequence Typing)** : techniques de typage utilisées dans les études épidémiologiques (belbel, 2014; Mhaya, 2019)
- **WGS (Whole Genome Sequencing)** : fournit une identification au niveau génomique complet, avec des applications en recherche, clinique et santé publique (Ziadi et al., 2025)

Chapitre II

Antibiotiques et Mécanismes de Résistance des Entérobactéries

II.1- Antibiotiques et Mécanismes de Résistance des Entérobactéries

Les antibiotiques sont des substances médicamenteuses utilisées pour traiter les infections bactériennes chez l'homme et l'animal en inhibant la croissance des bactéries. Certains antibiotiques sont également employés dans l'industrie de l'élevage intensif pour favoriser la croissance et le gain de poids des animaux, dans un objectif non thérapeutique (Arzanlou et al., 2017).

La découverte de la pénicilline en 1928 par Alexander Fleming a marqué une avancée majeure en microbiologie. À l'époque, les scientifiques pensaient que les antibiotiques permettraient de sauver des vies humaines et animales en offrant une protection efficace contre les infections. Cependant, il est rapidement devenu évident que les bactéries développent des mécanismes de résistance, leur permettant de contourner les antibiotiques créés par l'homme (Muylaert A., Mainil J.G., 2012).

II.1.1- Facteurs favorisant la résistance aux antibiotiques

L'émergence de la résistance bactérienne est favorisée par plusieurs facteurs, notamment l'usage excessif et inapproprié des antibiotiques. Par exemple :

- **Utilisation en élevage** : L'administration massive d'antibiotiques dans les élevages favorise la sélection de bactéries résistantes, qui peuvent ensuite être transmises à l'homme par contact direct ou indirect avec les animaux
- **Usage inapproprié en médecine humaine** : L'emploi abusif des antibiotiques pour traiter des infections mal diagnostiquées ou d'origine virale (telles que la grippe ou le Covid-19) contribue à la sélection et à la dissémination de bactéries résistantes (Laxminarayan et al., 2013).

Qu'elle soit innée ou acquise par le biais d'autres micro-organismes, la résistance bactérienne rend les antibiotiques courants moins efficaces et complique le traitement des infections.

II.1.2.- Conséquences médicales et économiques

L'augmentation de la résistance bactérienne aux antibiotiques entraîne des conséquences graves :

- **Augmentation des coûts médicaux** : Le traitement des infections résistantes nécessite des antibiotiques plus coûteux et prolongés, ce qui accroît les dépenses de santé.
- **Allongement des séjours hospitaliers** : Les infections résistantes ralentissent la guérison des patients et prolongent les durées d'hospitalisation.
- **Impact sur les interventions médicales essentielles** : La résistance bactérienne compromet l'efficacité des antibiotiques dans des domaines médicaux critiques, tels que les chirurgies, la chimiothérapie et les greffes d'organes. Cela augmente le risque de complications graves, voire mortelles.

II.1.3- Origine ancienne de la résistance aux antibiotiques

Des recherches récentes en métagénomique fonctionnelle ont révélé que la résistance aux antibiotiques est un mécanisme biologique ancestral. L'analyse d'échantillons de pergélisol a permis d'identifier des gènes de résistance datant de plus de 30 000 ans. Ces gènes, qui existaient bien avant l'exploitation des antibiotiques par l'homme, jouaient un rôle dans l'évolution des réservoirs naturels de résistance.

L'étude des génomes entiers de bactéries isolées du pergélisol et de sols anciens a également mis en évidence l'importance du transfert horizontal de gènes dans l'évolution de la résistance aux antibiotiques et l'émergence de maladies infectieuses. Ce processus, considéré comme l'un des principaux moteurs de la dissémination des gènes de résistance et de virulence, se produit principalement selon trois mécanismes génétiques (Mhaya, 2019).

II.1.4- Types de Résistance

II.1.4.1- Résistance naturelle

La résistance naturelle est un trait inhérent à toutes les souches d'une même espèce bactérienne. Elle se manifeste immédiatement, même en l'absence d'exposition préalable aux antibiotiques, et se transmet à la descendance sans impliquer de transfert horizontal de gènes. Cette résistance peut résulter de divers mécanismes, notamment :

- Une faible affinité de l'antibiotique pour sa cible bactérienne ;
- Une inaccessibilité de la molécule à la cellule bactérienne ;
- Une expulsion active de l'antibiotique par des pompes à efflux chromosomiques ;
- Une inactivation enzymatique innée du composé antibiotique (Muylaert A., Mainil J.G., 2012; Arzanlou Et Al., 2017).

Chez les entérobactéries, la production naturelle de β -lactamases constitue un mécanisme clé de résistance aux antibiotiques de la classe des β -lactamines, tels que les pénicillines et les céphalosporines. Selon la classification d'Ambler (**Ambler et al, 1980**), ces enzymes se répartissent principalement en deux classes :

- **Classe A** : ces β -lactamases sont sensibles à l'action des inhibiteurs de β -lactamases, tels que l'acide clavulanique et le tazobactam, couramment utilisés en thérapie.
- **Classe C**: ces β -lactamases sont résistantes aux inhibiteurs, ce qui peut compromettre l'efficacité des traitements antibiotiques contre les entérobactéries productrices de ces enzymes (**Frédéric Robin et al., 2012**).

Historiquement, la classification des entérobactéries selon leur résistance naturelle aux β -lactamines a permis d'identifier quatre groupes initiaux. Aujourd'hui, cette classification a évolué et distingue sept groupes d'entérobactéries (**Robin et al., 2012; Bouaziz, 2018**) (**Tableau 04**).

Tableau 04 : Classification des *Entérobactéries* selon la production de β -lactamases

Groupe	Espèces	Gènes	Phénotype de résistance
G 0	<i>Salmonella spp.</i> , <i>Proteus mirabilis</i>	Pas de gène codant pour une β -lactamase.	Naturellement sensibles à toutes les β -lactamines
G01	<i>E. coli</i> , <i>Shigella spp</i>	Une céphalosporinase de la classe C d'Ambler non inductible (gène AmpC)	Une sensibilité présente envers toutes les β -lactamines et/ou une sensibilité intermédiaire envers les céphalosporines de première génération et/ou les aminopénicillines, avec ou sans inhibiteurs.
G02	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>K. oxytoca</i> , <i>Citrobacter koseri</i> , <i>Raoultella planticola</i> , <i>Raoultella ornithinolytica</i> , <i>Raoultella terrigena</i> , <i>Escherichia hermannii</i> , <i>Citrobacter gillenii</i>	Production de pénicillinase de bas niveau, (chromosomique et constitutive)	Résistance aux aminopénicillines et aux carboxypénicillines
G03	<i>Enterobacter cloacae</i> , <i>E. aerogenes</i> , <i>E. asburiae</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>Citrobacter freundii</i> , <i>C. braakii</i> , <i>C. youngae</i> , <i>Morganella morganii</i> , <i>Providencia rettgeri</i> , <i>P. stuartii</i> et <i>Hafnia alvei</i>	Production de céphalosporinase à bas niveau, inductible par les β -lactamines	Résistance aux aminopénicillines seules/ associées aux inhibiteurs et une Résistance aux C1G.
G04	<i>enterocolitica</i> , <i>Serratia fonticola</i>	Produisant une pénicillinase de bas niveau plus une céphalosporinase de bas niveau	Résistance aux aminopénicillines, aux carboxypénicillines et aux C1G ainsi qu'une résistance aux associations aminopénicillines-inhibiteurs qui est généralement présente chez <i>Y. enterocolitica</i> .
G05	<i>Proteus vulgaris</i> , <i>Proteus penneri</i>	Produisant une céphalosporinase (céfuroximase) inductible	Résistance aux aminopénicillines, aux C1G et au céfuroxime, ainsi qu'une sensibilité aux associations d'aminopénicillines-inhibiteurs.
G06	<i>Kluyvera</i> (<i>K. ascorbata</i> , <i>K. cryocrescens</i> , <i>K. georgiana</i>), <i>Rahnella aquatilis</i> , <i>Erwinia perscinia</i> et <i>Citrobacter</i> (<i>C. amalonaticus</i> , <i>C. farmeri</i> et <i>C. sedlakii</i>).	Produisant une BLSE chromosomique de bas niveau	Résistances aux aminopénicillines, aux carboxypénicillines, aux C1G et au céfuroxime

II.1.4.2- Résistance acquise

La résistance acquise correspond au développement d'une caractéristique spécifique chez certaines souches bactériennes, entraînant l'émergence et la propagation de résistances au sein de populations bactériennes normalement sensibles. Ces résistances peuvent résulter de mutations génétiques ou du transfert horizontal de gènes de résistance aux antibiotiques, portés par l'ADN chromosomique et extra-chromosomique (plasmides) (Muylaert A., Mainil J.G., 2012).

Dans le cas des plasmides conjugatifs, le transfert s'effectue entre cellules bactériennes, contribuant ainsi à l'émergence de résistances plasmidiques aux antibiotiques. Les plasmides constituent une source essentielle d'évolution pour les bactéries. En revanche, la résistance chromosomique résulte d'une mutation rare, généralement spontanée et stable. Sa transmission est dite verticale, c'est-à-dire de la bactérie-mère aux bactéries filles (Mhaya, 2019).

Chez les entérobactéries, les supports génétiques de la résistance sont souvent associés à des éléments génétiques mobiles tels que les transposons ou les intégrons, qui peuvent mobiliser les gènes de résistance au niveau intracellulaire. En revanche, les plasmides conjugatifs assurent le transfert des gènes entre différentes cellules bactériennes, favorisant ainsi la dissémination des (Figure 01) (Blair et al., 2015; Partridge et al., 2018).

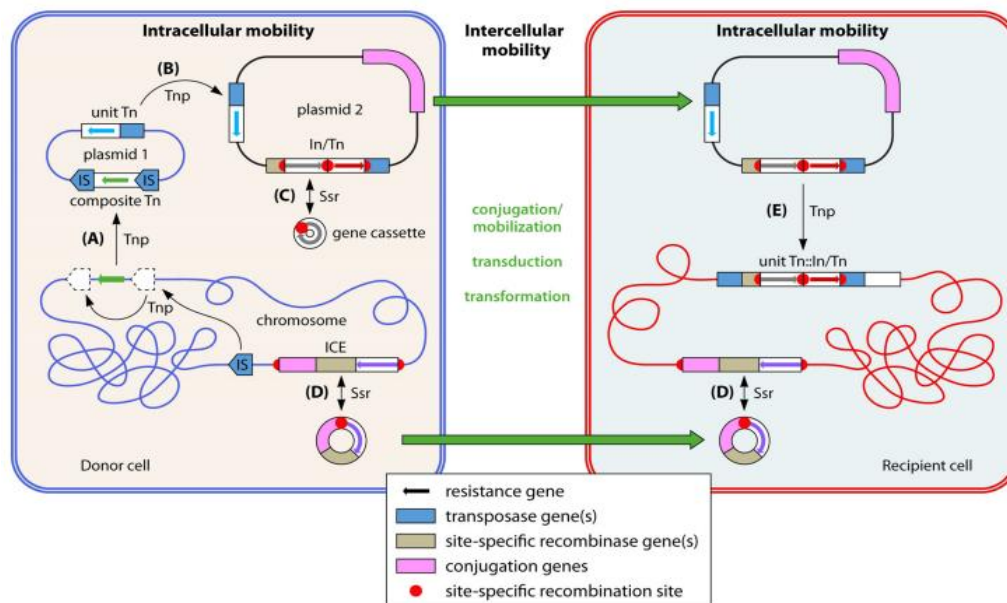


Figure 01 : Exemples d'éléments génétiques mobiles (EGM) et processus impliqués dans la mobilité intracellulaire ou le transfert intercellulaire des gènes de résistance aux antibiotiques (Partridge et al., 2018).

II.1.4.3- Résistance adaptative

L'expression différentielle de certains gènes permet à la bactérie d'adapter sa résistance en réponse aux contraintes du milieu extérieur, ce qui peut entraîner des changements dans son mode de vie tels que la formation de cellules persistantes ou de biofilms, ainsi que le développement de résistances temporaires à des composés toxiques. En effet, comprendre les mécanismes moléculaires à l'origine de toutes les formes de résistance chez les bactéries est crucial dans la lutte contre les infections bactériennes, en particulier celles causées par des bactéries multirésistantes aux antibiotiques (Amel Mhaya, 2019).

II.1.5- Mécanismes de la résistance naturelle/acquise aux β -lactamines chez les entérobactéries

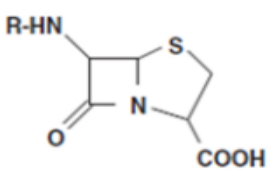
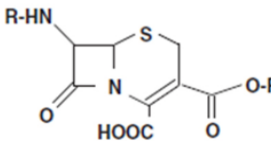
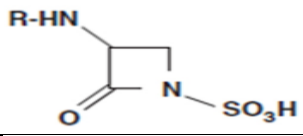
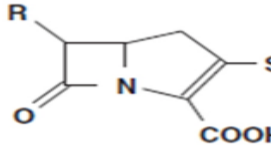
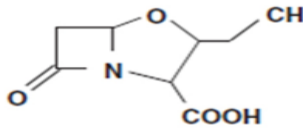
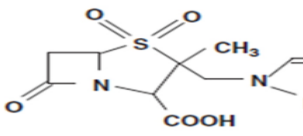
II.1.5.1- β -lactamines

Les antibiotiques de la famille des β -lactamines constituent la classe d'agents antibactériens la plus utilisée (Bush & Bradford, 2020). Ils restent la pierre angulaire de l'arsenal antibactérien. Leur statut de classe d'antibiotiques la plus prescrite et la plus importante en termes de ventes témoigne de leur rôle essentiel dans la lutte contre les infections bactériennes, en particulier celles causées par des bactéries Gram-négatives (Bush & Bradford, 2016). Ces antibiotiques représentent 65 % de toutes les prescriptions d'antibiotiques injectables dans le monde (Bush & Bradford, 2016).

Cependant, comme pour d'autres classes d'antimicrobiens, les β -lactamines ont fait l'objet d'un développement continu depuis leur introduction afin d'améliorer des propriétés telles que la puissance, le spectre d'activité, les profils pharmacocinétiques et de sécurité, tout en contrecarrant l'émergence de résistances. Leur principale toxicité est associée à des réactions allergiques chez un faible pourcentage de patients sensibles à certains déterminants de la chaîne latérale (Bush & Bradford, 2016).

À ce jour, quatre classes principales d'antibiotiques β -lactamines sont utilisées en clinique (Tableau 05), toutes possédant un cycle β -lactame essentiel à leur activité antibactérienne. Parmi ces molécules, on retrouve les pénames (pénicillines), les céphèmes (céphalosporines), les monobactames, les pénèmes (carbapénèmes) et les inhibiteurs des β -lactamases (Tooke et al., 2019).

Tableau 05 : Classes de β -lactamines (Nordmann et al., 2012; Mhaya, 2019) :

Classe	Sous-classe	Exemple	Structure
Pénicillines	Pénicillines G, V	Benzylpénicilline	
	Pénicillines M,	oxacilline, cloxacilline	
	Amidinopénicilline	amoxicilline, ampicilline	
	Amidinopénicilline	amoxicilline, ampicilline	
	Carboxypénicilline	Ticarcilline	
	Uréidopénicilline	Pipéracilline	
	6alpha-méthoxy pénicilline	Témocilline	
Céphalosporines	1 ^{ère} génération	Cefalotine, cefazoline	
	2 ^{ème} génération	Cefuroxime, céfixime, cefpodoxime, chephamycine (céfoxitine*, céfotétan)	
	3 ^{ème} génération	Ceftriaxone, céfotaxime, ceftazidime	
	4 ^{ème} génération	Céfepime, céfpirome	
	Céphalosporine Sidérophores	Cefderocol	
Monobactame		Aztreonam	
Carbapénèmes		Imipénème, ertapénème, méropénème	
Autres	Inhibiteurs des β -lactamases	Acide clavulanique,	
		Tazobactam,	

II.1.5.2- Mode action des β -lactamines

Les antibiotiques β -lactamines inhibent la croissance des bactéries en division en acylant une sérine du site actif des protéines de liaison à la pénicilline (PBPs), essentielles à la synthèse de la paroi cellulaire. L'activité de ces antibiotiques a été décrite par Tipper et Strominger (**Tipper & Strominger, 1965**) qui ont mis en évidence la similarité structurale entre la pénicilline et le dipeptide D-alanyl-D-alanine, un composant clé du peptidoglycane, constituant majeur de la paroi cellulaire en formation. Cette ressemblance permet aux β -lactamines de se fixer aux PBPs bactériennes, perturbant ainsi la biosynthèse de la paroi cellulaire. Le noyau β -lactame de ces antibiotiques se lie de manière covalente à un site spécifique des PBPs, inhibant leur fonction enzymatique et compromettant l'intégrité de la paroi bactérienne. Chaque espèce bactérienne possède un ensemble distinct de PBPs, dont le nombre et l'affinité pour les β -lactamines varient. Certaines PBPs présentent une forte affinité pour ces antibiotiques, tandis que d'autres y sont moins sensibles. En temps normal, les précurseurs du peptidoglycane signalent à la bactérie de remodeler sa paroi cellulaire, activant ainsi des hydrolases autolytiques impliquées dans son renouvellement. Cependant, l'inhibition des PBPs par les β -lactamines entraîne une accumulation de ces précurseurs, provoquant une activation incontrôlée des hydrolases autolytiques. Ces dernières dégradent la paroi cellulaire sans qu'une nouvelle structure ne puisse être synthétisée, amplifiant ainsi l'effet des β -lactamines. Ce mécanisme conduit progressivement à une altération irréversible de la paroi bactérienne et, in fine, à la lyse de la cellule (**Nordman et al., 2012; Bush & Bradford, 2016**).

II.1.5.3- Production de β -lactamases

Les β -lactamases sont des enzymes produites par les bactéries à Gram négatif et Gram positif, capables d'hydrolyser le noyau β -lactame des antibiotiques β -lactamines en clivant la liaison amide de leur cycle. Cette hydrolyse irréversible entraîne l'inactivation complète de l'antibiotique et la perte de son activité antibactérienne (**Bouaziz, 2018; Tooke et al., 2019**). Ces enzymes peuvent être codées par des gènes chromosomiques, conférant une résistance intrinsèque aux β -lactamines chez certaines espèces bactériennes. Toutefois, la résistance peut également être acquise par le transfert de gènes via des éléments génétiques mobiles, tels que les plasmides conjugatifs ou les intégrons (**Mhaya, 2019**).

Chez les entérobactéries, la production de β -lactamases constitue le principal mécanisme enzymatique de résistance aux β -lactamines. L'usage intensif de ces antibiotiques

a favorisé l'émergence et la diversification de différentes classes de β -lactamases, notamment les β -lactamases à spectre large (BLS), les β -lactamases à spectre étendu (BLSE), les céphalosporinases et les carbapénémases. Ces dernières représentent aujourd'hui un défi majeur en santé publique (Mhaya, 2019).

II.1.5.4- Classification des β -lactamases

Une classification courante des β -lactamases repose sur deux approches principales. La première est une classification moléculaire, introduite par Ambler en 1980, basée sur la structure primaire des β -lactamases (Ambler et al, 1980). La seconde est une classification fonctionnelle proposée par (Bush & Jacoby, 2010), qui regroupe ces enzymes en quatre classes principales (1 à 4) selon leur activité enzymatique et leur sensibilité aux inhibiteurs (Bouaziz, 2018).

- **Classe A** : regroupe la majorité des β -lactamases retrouvées chez les entérobactéries, notamment les enzymes TEM (Temoniera), SHV (Sulfhydryl Variable), les BLSE de type CTX-M (*Cefotaximase-Munich*), ainsi que certaines carbapénémases comme KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase) et certains variants de GES (Guiana Extended-Spectrum). Ces enzymes sont généralement inhibées par l'acide clavulanique.
- **Classe B** : inclut les métallo- β -lactamases (MBL), telles que NDM (*New Delhi Metallo- β -lactamase*), IMP (*Imipenemase*) et VIM (*Verona Integron-encoded Metallo- β -lactamase*). Ces enzymes nécessitent des ions métalliques pour leur activité et sont inhibées par l'acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA).
- **Classe C** : Correspond aux Céphalosporinases de type AmpC, qui confèrent une résistance aux céphalosporines de large spectre et sont inhibées par la cloxacilline.
- **Classe D** : Regroupe les Oxacillinases (OXA), une famille d'enzymes présentant des spectres d'hydrolyse variés, incluant certaines Carbapénémases (Ambler et al, 1980; Bush & Jacoby, 2010; Nabti, 2020).

Dans la pratique clinique, la classification fonctionnelle est souvent simplifiée en fonction des grandes familles de β -lactamases, telles que les BLSE, les Céphalosporinases de type AmpC et les Carbapénémases (Tableau 06), afin de mieux adapter les stratégies thérapeutiques (Cavallo et al., 2004; Nabti, 2020).

Tableau 06 : Classification des β -lactamases (Rubin & Pitout, 2014)

Enzyme	Classification d'Ambler		Exemples	Spectre de résistance	Inhibiteurs
BLSE	Classe A et D		TEM (sauf que TEM-1, 2 et 13), SHV (sauf que SHV-1), CTX-M.	Pénicillines, céphalosporines sauf les céphamycines et monobactames.	Acide clavulanique, tazobactame, sulbactame
AmpC	Classe C		CMY, FOX, ACT, MOX, ACC, DHA P.	Pénicillines, céphalosporines, céphamycines, monobactames.	Cloxacilline, acide boronique
Carbapénémase	MBL	Classe D	NDM, VIM, IMP.	Pénicillines, céphalosporines, céphamycines, carbapénèmes.	EDTA
	KPC	Classe A	KPC.	Pénicillines, céphalosporines, céphamycines, carbapénème, monobactame.	Acide clavulanique, tazobactame, acide boronique
	OXA	Classe D	OXA-48.	Pénicillines, monobactame, carbapénème.	NaCl

II.1.5.4.1- β -lactamases à spectre élargi (BLSE)

a) les gènes *blaSHV*

Les enzymes *blaSHV* (Sulfhydryl Variable) ont émergé au sein des entérobactéries et ont été impliquées dans des infections nosocomiales au cours des dernières décennies du XXe siècle. Elles sont désormais détectées dans divers contextes épidémiologiques, chez l'humain, les animaux et dans l'environnement (Liakopoulos et al., 2016). Le gène *blaSHV-1* a été identifié pour la première fois dans les années 1970 chez *E. coli* (Pitton, 1972). Il confère une activité contre les pénicillines et les céphalosporines de première génération (Matthew et al., 1979). Depuis, 46 variantes du gène *blaSHV* ont été caractérisés. Le premier cas de

résistance aux céphalosporines de troisième génération associée au gène *blaSHV* a été signalé en 1983 avec l'identification du *blaSHV-2*, dans un isolat clinique de *K. ozaenae* en Allemagne. Ce variant présentait peu de différences nucléotidiques avec *blaSHV-1*. Dans les années suivantes, quatre autres variantes de *blaSHV* conférant un phénotype BLSE ont été découverts, également portés par des plasmides dans des isolats cliniques de *K. pneumoniae* (Liakopoulos et al., 2016):

-*blaSHV-2a* : Ce gène a été isolées chez *K. pneumoniae* en 1991 (Podbielski et al., 1991) ;

-*blaSHV-3* : ce gène a été isolées chez *K. pneumoniae* (Nicolas et al., 1989) ;

-*blaSHV-4* : largement disséminé depuis la France en raison de la diffusion d'un seul clone de *K. pneumoniae*, et également identifié chez *E. aerogenes* et *Citrobacter koseri* dans différents pays (Liakopoulos et al., 2016) ;

-*blaSHV-5* : capable d'hydrolyser des céphalosporines à large spectre et des monobactames (Gutmann et al., 1989).

Parmi ces variantes initiaux, *blaSHV-2a* et *blaSHV-5* ont été les plus géographiquement réussis en Europe (Liakopoulos et al., 2016).

En Algérie, (Bouguessa et al., 2011) ont détecté pour la première fois les *blaSHV-98*, *blaSHV-99* et *blaSHV-100* qui ont été isolés en Algérie à partir de *K. pneumonie*, et le variant *blaSHV-12* a été rapporté dans des souches cliniques (Ayad et al., 2016a); et animales (Benameur et al., 2019) . Les enzymes *blaSHV-2a/blaSHV-2* ont également été décrites dans une souche clinique (Yahiaoui et al., 2015) et dans une souche a origine alimentations (Yaici et al., 2017; Nabti, 2020).

b) les Gènes *blaTEM*

Le Gène *blaTEM-1*, le premier variant *blaTEM* identifié, a été isolé à partir de bactéries résistantes à la pénicilline en 1963. Il exerce son action en hydrolysant l'anneau β -lactame des pénicillines, des céphalosporines et des antibiotiques apparentés. Ce variant est largement répandu dans les hôpitaux et les cliniques à travers le monde, et depuis sa découverte, plus de 170 variantes modifiées de *blaTEM-1* ont été répertoriées jusqu'à présent, avec l'apparition continue de nouvelles variantes. Toutes ces variantes de *blaTEM* se distinguent par leur séquence d'acides aminés (Salverda et al., 2010).

Cette enzyme est la plus fréquemment rencontrée chez les bactéries à Gram négatif. Jusqu'à 90% de la résistance à l'ampicilline chez *E. coli* est attribuable à la production de *blaTEM-1*. Bien que ce β -lactamases soient le plus souvent trouvées chez *E. coli* et *K. pneumoniae*, elles sont également présentes dans d'autres espèces de bactéries à Gram négatif avec une fréquence croissante. (Thomson & Amyes, 1993; Bradford, 2001).

En 1985, une autre enzyme plasmidique dérivée du *blaTEM-1*, capable d'hydrolyser le céfotaxime, a été isolée en France à partir d'une souche de *K. pneumoniae*. Cette enzyme, initialement désignée *blaCTX-1*, a finalement été renommée *blaTEM-3*. Le variant *blaTEM-52* est le plus fréquente chez *E. coli* en Europe (Cantón et al., 2008; Nabti, 2020).

En Algérie, les variantes *blaTEM-3*, *blaTEM-4*, *blaTEM-24* et *blaTEM-167* ont été identifiés dans des souches cliniques. Le variant *blaTEM-24* a été rapporté dans des souches d'*E. coli* isolées de poissons sauvages et aussi le variant *blaTEM-12* est détecté chez des *E. coli* isolées du fumier (Nabti, 2020).

c) les Gènes *blaCTX*

En 1989, Bauernfeind et al. Elles ont mené une caractérisation d'une nouvelle β -lactamase (non-*blaTEM* et non-*blaSHV*) dans une souche d'*E. coli*, isolée d'un exsudat d'oreille d'un nouveau-né, qu'ils ont nommée *blaCTX-M-1* (pour "cefotaximase Munich"). La désignation "cefotaximase" est liée à son activité hydrolytique plus élevée envers le céfotaxime, le "M" faisant référence à Munich, indiquant son lieu initial d'isolement (D'Andrea et al., 2013).

Depuis l'année 2000, ces enzymes se sont disséminées à l'échelle mondiale et sont devenues le type le plus répandu de BLSE. Elles peuvent être divisées en six groupes et appartiennent à une lignée assez hétérogène de β -lactamases de classe A avec un site actif à sérine (*blaCTX-M-1*, *blaCTX-M-2*, *blaCTX-M-8*, *blaCTX-M-9*, *blaCTX-M-25* et *blaKLUC*), qui diffèrent les uns des autres par ≥ 10 % de résidus d'acides aminés (D'Andrea et al., 2013; Bush & Bradford, 2020).

En général, les β -lactamases de type *blaCTX-M* hydrolysent mieux le céfotaxime et la céftriaxone que la ceftazidime, bien que le spectre puisse varier selon l'enzyme. Notamment, la *blaCTX-M-15* présente des taux d'hydrolyse de la ceftazidime plus élevés que la *blaCTX-M-3*, ce qui pourrait contribuer à la dissémination réussie de cette enzyme (Bush & Bradford, 2020).

Ces enzymes sont facilement inhibées par tous les inhibiteurs de β -lactamases disponibles commercialement, y compris les derniers ajouts d'avibactam et de vaborbactam. Les β -lactamases de type *bla*CTX-M sont couramment retrouvées dans *E. coli* et *K. pneumoniae* mais se retrouvent également dans d'autres espèces d'Entérobactéries (Bush & Bradford, 2020).

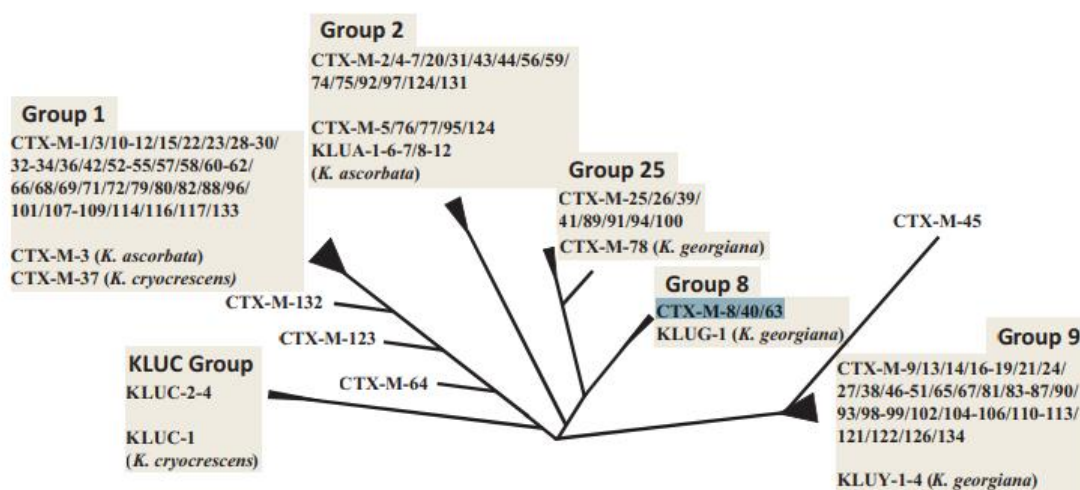


Figure 02: les groupes des variantes de *bla*CTX-M (D'Andrea et al., 2013).

d) BLSE Mineurs

Les β -lactamases mineures, telles que les types *bla*SFO-1, *bla*BES-1, *bla*BEL-1, *bla*TLA-1 et *bla*TLA-2, restent peu communes et géographiquement limitées (Philippon & Arlet, 2005; Naas et al., 2008) tandis que d'autres, comme *bla*GES, *bla*PER et *bla*VEB, sont plus répandues et observées sur plusieurs continents. Bien que leur distribution précise demeure largement inconnue en raison du manque d'enquêtes épidémiologiques approfondies, il semble que leur détection soit davantage influencée par l'intérêt des chercheurs que par leur véritable prévalence.

Le succès de la dissémination des *bla*CTX-M est remarquable, mais la possibilité pour certaines de ces enzymes d'acquérir une résistance aux carbapénèmes par des mutations simples, comme le montre *bla*GES-2, est préoccupante. De plus, la multiplication des variantes mutantes de *bla*GES et leur dispersion géographique signalent une évolution inquiétante dans cette famille d'enzymes. Contrairement aux gènes des enzymes de type *bla*TEM, *bla*SHV et *bla*CTX-M, la plupart des BLSE mineurs sont portées par des intégrons associés à d'autres gènes de résistance, favorisant ainsi une co-résistance et une co-sélection de phénotypes multirésistants. Bien qu'actuellement rares, les BLSE mineurs pourraient rapidement devenir

une préoccupation majeure, surtout si leur propagation régionale s'accélère par le transfert transcontinental de gènes de résistance. Cette situation souligne les défis liés au dépistage des patients porteurs d'isolats multirésistants lors de leur admission à l'hôpital (Naas et al., 2008).

Les principales BLSE mineurs identifiées à travers le monde, ainsi que les espèces bactériennes concernées et leur origine géographique, sont résumées dans le **Tableau 07..**

Tableau 07: BLSE mineurs (Naas et al., 2008) .

BLSE mineurs	Année et pays de détection	Souche
<i>blaSFO-1</i>	1988 (Japon)	<i>E. cloacae</i>
<i>blaTLA-1</i>	1993 (Mexico)	<i>E.coli</i>
<i>BlaPER</i>	1993 (France)	<i>P. aeruginosa</i>
<i>BlaVEB</i>	1996 (Vitname)	<i>E. coli</i>
<i>blaBES-1</i>	1996 (Brazil)	<i>S. marcescens</i>
<i>BlaGES</i>	1998	<i>P. aeruginosa</i> , <i>E. coli</i> et <i>K. pneumoniae</i>
<i>blaBEL-1</i>	2004	<i>P. aeruginosa</i>
<i>blaTLA-2</i>	2002 (Germany)	unidentified bacterial
<i>BlaOXA</i>	1991	<i>P. aeruginosa</i>

En Algérie, il y a eu jusqu'à présent une seule recherche portant sur la détection du gène *blaVEB*. L'étude a caractérisé un environnement génétique particulier du gène similaire à *blaVEB-1* à partir d'un isolat clinique de *P. stuartii* multi-résistant en 2003. Cette recherche constitue le premier rapport d'un gène similaire à *blaVEB* provenant d'Afrique, mettant en évidence la propagation mondiale des β -lactamases de type *blaVEB*. De plus, c'est la première fois que cet ESBL est identifié chez *P. stuartii* (Aubert et al., 2005).

II.1.5.4.1- Carbapénémases.

Trois familles principales de carbapénémases sont retrouvées chez les Entérobactéries :

a) Carbapénémases à la classe A d'Ambler

Le passage décrit des carbapénémases appartenant à la classe A d'Ambler, qui présentent un large profil hydrolytique pour tous les β -lactames à l'exception des céphamycines. Ces enzymes sont capables de catalyser l'hydrolyse dirigée par la sérine de divers antibiotiques, notamment les aminopénicillines, les uréidopénicillines, les céphalosporines de première et deuxième génération, l'aztréonam et les carbapénèmes (Hammoudi & Moubareck, 2020).

Elles peuvent être inhibées par des composés tels que le clavulanate, le tazobactam et les dérivés d'acide boronique (**Hammoudi et al., 2014**).

Les producteurs de *blaKPC* se sont répandus à l'échelle mondiale, avec des signalements en Amérique du Nord et du Sud, au Moyen-Orient, en Grèce, en Italie et en Chine, où ils sont maintenant considérés comme endémiques (**Nordmann et al., 2011**).

b) Ambler Class B Carbapenemases (Metallo- β -Lactamases)

Les métallo- β -lactamases (MBL) sont des enzymes capables de dégrader un large éventail d'antibiotiques β -lactamines, y compris les carbapénèmes, grâce à l'utilisation d'ions métalliques tels que le zinc pour leur activité catalytique. Ces enzymes, répandues parmi les espèces bactériennes à Gram négatif, conférant une multirésistance et limitant les options thérapeutiques. Différents types de MBL ont été identifiés, La première MBL est *blaIMP* qui signalée chez *P. aeruginosa* au Japon en 1991, Second type est *blaVIM* (Verona integron-encoded MBL) et le plus répandu chez les entérobactéries est *blaVIM 7 like* (**Hammoudi & Moubareck, 2020**).

D'autre type de MBL, est NDM initialement isolé à partir d'une souche de *K. pneumoniae*, peut hydrolyser tous les β -lactames à l'exception de l'aztréonam et présente une affinité plus forte pour la plupart des céphalosporines, ainsi que pour la pénicilline. Les *blaNDM* sont dominants dans les isolats de *K. pneumoniae* et d'*E. coli* et restera un défi majeur dans les établissements de santé, et des études supplémentaires sur les contre-mesures appropriées sont nécessaires (**Hammoudi & Moubareck, 2020**).

En Algérie, Debabza et al ont détecté la présence de *blaNDM-1* chez *E. cloacae* (**Debabza et al., 2023**), tandis que (**Loucif et al., 2022**). ont identifié *blaNDM-5* chez *E. coli*, *K. pneumoniae* et *Proteus mirabilis* d'origine animale, (**Nabti et al., 2021**) ont détecté *blaNDM-5* dans une souche clinique d'*E. cloacae* et (**Aggoune et al., 2018**) trouvé *blaNDM* dans des souches cliniques d'Entérobactéries. D'autres études ont rapporté la présence de *blaNDM-5* chez *E. coli* provenant de différentes sources (Sassi et al., 2014; M. Yousfi et al., 2015, 2016). Pour *blaVIM*, il y a. Une seule étude a décrit la présence du gène *blaVIM-19* chez les Entérobactéries d'origines cliniques (**Robin et al., 2010**).

c) β -lactamases de classe C d'Ambler

Les β -lactamases de classe C d'Ambler confèrent une résistance à la pénicilline, aux oxyiminocephalosporines, aux céphamycines. Ces enzymes ont été identifiées dans des isolats

cliniques de *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *Salmonella enterica* et *E. coli*. Les céphalosporinases AmpC ne sont pas significativement inhibées par d'autres inhibiteurs de β -lactamases comme l'acide clavulanique mais peuvent être inhibées par l'acide boronique et la cloxacilline. Elles peuvent être encodées par le chromosome de nombreuses espèces d'Entérobactéries comme *E. cloacae* et *S. marcescens*.

De plus, les enzymes AmpC peuvent être acquises sur des plasmides transmissibles trouvés dans des bactéries comme *E. coli*, *K. pneumoniae* et *P. mirabilis*. Certaines céphalosporinases AmpC présentent une activité carbapénémase, y compris les enzymes AmpC de type CMY-2, de type ACT-1 et de type DHA-1 présentes sur des plasmides, et CMY2 est le plus répandu chez les Entérobactéries. Des études ont montré qu'*E. cloacae* peut coder chromosomiquement une enzyme AmpC de type ACT-28, avec une hydrolyse légèrement accrue de l'imipénème par rapport à celle de l'ACT-1. CMY-10 a été la première carbapénémase signalée parmi les β -lactamases de classe C présentes sur des plasmides, et cette enzyme fonctionne également comme une BLSE de classe C avec une spécificité étendue des substrats pour les céphalosporines à spectre étendu (Hammoudi & Moubareck, 2020).

En Algérie, il y a plusieurs recherches qui confirment la présence de ces gènes (Koeck, 1997; Decre, 2002; Nedjai et al., 2012; Belmahdi et al., 2016; Yaici et al., 2016; L. Li et al., 2023).....etc

d) Carbapénémase de type OXA-48-like (serine β -lactamase de classe D)

Les enzymes de type *blaOXA48* représentent une préoccupation majeure dans le domaine de la résistance aux carbapénèmes, en particulier au sein des Entérobactéries. Elles constituent l'un des développements les plus alarmants de ces dernières années, avec une tendance mondiale à la hausse. Initialement identifiée chez *K. pneumoniae* en Turquie en 2003 (Poirel et al., 2004).

L'*blaOXA48* présente une activité hydrolytique de faible intensité contre les carbapénèmes, principalement l'imipénem, ainsi qu'une activité limitée contre la pénicilline et les céphalosporines à spectre étroit. Le niveau de résistance aux carbapénèmes tend toutefois à augmenter lorsque ces enzymes sont associées à la production BLSE et à des défauts de perméabilité membranaire (Hammoudi & Moubareck, 2020; Nordmann et al., 2011).

L'*blaOXA48* est désormais largement répandue, non seulement chez *K. pneumoniae* mais aussi chez d'autres Entérobactéries, la Turquie étant signalée comme ayant la plus forte prévalence (Hammoudi & Moubareck, 2020; Nordmann et al., 2011). La propagation des producteurs d'*blaOXA48* est souvent liée à la dissémination d'un seul plasmide présentant un taux de conjugaison élevé parmi différents isolats bactériens. Cependant, l'intégration chromosomique de l'*blaOXA48* a également été documentée chez *E. coli* au Royaume-Uni et en Égypte (Hammoudi & Moubareck, 2020). Plusieurs variantes de l'*blaOXA48* ont été identifiées (Hammoudi & Moubareck, 2020; Nordmann et al., 2011).

L'*OXA-244* étant la plus courante. Alors que certaines variantes présentent une activité similaire à l'*blaOXA48*, d'autres montrent des différences dans leurs capacités hydrolytiques (Hammoudi & Moubareck, 2020). Depuis lors, ces enzymes ont été impliquées dans la résistance aux carbapénèmes chez les mammifères sauvages et les oiseaux en Catalogne, Espagne (Darwich et al., 2019), ainsi que chez les animaux de compagnie en Allemagne (Pulss et al., 2018) (Hammoudi & Moubareck, 2020). L'*blaOXA48* a également été observée dans plusieurs pays d'Afrique, notamment en Égypte (El-Domany et al., 2021), en Lybie (Slimene et al., 2023), en Tunisie (Saïdani et al., 2012) et au Maroc (Girlich et al., 2014).

En Algérie, plusieurs études confirment la présence de ce type d'enzymes chez les entérobactéries d'origines diverses (Aggoune et al., 2014; Agabou et al., 2014a; Tafoukt et al., 2017; Aggoune et al., 2018; Bouaziz et al., 2018; Bourafa et al., 2018; Loucif et al., 2018; M. Yousfi et al., 2018; Mairi et al., 2019; Abderrahim et al., 2022).

II.1.5.5- Production des inhibiteurs de β -lactamases

Les inhibiteurs de β -lactamase sont des médicaments qui sont co-administrés avec des antimicrobiens β -lactamines pour prévenir la résistance antimicrobienne en inhibant les β -lactamases de classe A et dans une moindre mesure, les carbapénémases à sérine, qui sont des enzymes qui inactivent le noyau β -lactamine. Par conséquent, les inhibiteurs de la β -lactamase sont principalement indiqués pour les infections causées par des bactéries gram-négatives, car elles produisent cette enzyme. En particulier les bactéries productrice BLSE. De plus, la bactérie gram-positive *S. aureus* contient également l'enzyme β -lactamase. Cependant, les inhibiteurs de la β -lactamase sont moins couramment utilisés pour le traitement du staphylocoque en raison de la présence d'un autre mécanisme de résistance aux antimicrobiens, à savoir la présence d'une protéine de liaison à la pénicilline, qui est omniprésente parmi les bactéries gram-positives (Bush & Bradford, 2016).

L'utilisation de ces inhibiteurs de β -lactamines est commencé au milieu des années 1970, en raison de l'apparition de la pénicillinase *blaTEM-1* transférable chez *Neisseria gonorrhoeae* et *Haemophilus influenzae*. L'acide clavulanique a été identifié comme un inhibiteur à large spectre des pénicillinases et des enzymes *blaTEM* et *blaSHV*. Il agit en synergie avec les pénicillines et les céphalosporines pour inhiber les β -lactamases sensibles et tuer les bactéries (**Bush & Bradford, 2016**).

Deux classes de nouveaux inhibiteurs de β -lactamase ont été développées : les diazabicyclooctanones (DBOs) et les composés à base de boronate. Les DBOs, tels que l'avibactam et le relebactam, sont capables d'inhiber les β -lactamases des classes A et C. Des études structurales ont montré que l'avibactam peut adopter différentes conformations, ce qui influence sa stabilité. Les composés à base de boronate, tels que le vaborbactam, sont des inhibiteurs à large spectre des β -lactamases de classe A. Cependant, ils n'inhibent pas les enzymes de type *blaOXA* ou les MBLs (**Tooke et al., 2019**).

Le **Tableau 08** résume les principaux inhibiteurs, les associations avec les β -lactamines, leurs cibles bactériennes ainsi que les indications cliniques correspondantes.

Tableau 08 : Inhibiteurs des β -lactamases

Inhibiteurs	B lactamines	Traitement	Cible
Avibactam	Ceftazidime	Bactéries à Gram négatif productrice BLSE, <i>K. pneumoniae</i> productrices a carbapénemase de (KPC) et certaines enzymes OXA et de classe C.1 (Smith et al., 2020) et <i>P. aeruginosa</i> ne traite pas les souches productrices les MBLs et <i>Acinetobacter spp</i> (Shirley, 2018)-(Ng et al., 2016)	les infections des voies urinaires, les infections intra-abdominales, la pyélonéphrite et la pneumonie nosocomiale et autres infections (Shirley, 2018) (Ng et al., 2016)
L'acide clavulanique	Amoxicillin	Bactéries à Gram-positif et Gram-négatif productrices BLSE et Anaérobies. (Buxeraud & Buxeraud, 2005)	Les infections : respiratoires basses, ORL, gynécologiques, digestives et intra-abdominales, en particulier péritonites, rénales et urogénitales, septicémiques, endocardiques, cutanées et des tissus mous, ostéoarticulaires, à l'exclusion des méningites. (Buxeraud & Buxeraud, 2005)
Rélébactam	Imipénème et le cilastatine	Bactéries à Gram négatif. (Smith et al., 2020)	Infections compliquées des voies urinaires et infections intra-abdominales compliquées. (Smith et al., 2020)
Sulbactam	Ampicilline	Bactéries à Gram-positif, et Gram-négatif et bactéries anaérobies, spécifiquement les <i>acinetobacter spp</i> multirésistantes. (Rafailidis et al., 2007)	Les infections des voies respiratoires inférieures et la pneumonie par aspiration, les infections gynécologiques, les infections intra-abdominales, les infections pédiatriques telles que l'épiglottite aiguë et la cellulite périorbitaire, les infections du pied diabétique et les infections cutanées et respiratoires. infections des tissus mous. (Rafailidis et al., 2007)
Tazobactam	Pipéracilline	Gram positives et gram négatives (Bryson & Brogden, 1994)	traiter la pneumonie communautaire, les infections intra-abdominales, les infections cutanées et des structures cutanées, et les infections pelviennes chez les femmes (Bryson & Brogden, 1994)

II.2- Mécanismes de la résistance aux Fluoroquinolones et la Résistance des Entérobactéries

Les fluoroquinolones (FQs) sont des antibiotiques à large spectre, largement utilisés pour le traitement de diverses infections bactériennes. La résistance à ces molécules repose sur des mécanismes multiples, pouvant agir de manière isolée ou combinée. Parmi ceux-ci figurent les mutations au niveau des gènes cibles, l'augmentation de l'expression des pompes d'efflux MDR, la production d'enzymes modifiant l'antibiotique, ainsi que la synthèse de protéines protectrices des cibles enzymatiques.

L'émergence rapide de souches cliniques résistantes aux FQs a été largement documentée. Des études récentes ont mis en évidence que cette résistance peut entraîner des répercussions variées sur le fitness (aptitude biologique) des souches bactériennes, ces effets étant dépendants de l'espèce concernée. Ce paragraphe explore ainsi les conséquences des mutations de résistance aux quinolones sur la forme physique et le potentiel évolutif des souches mutantes (Bhatt & Chatterjee, 2022).

II.2.1-Classification des Fluoroquinolones

Le tableau ci-dessous (Tableau 09) présente la classification des FQs selon leur génération, ainsi que leur spectre d'activité bactérienne :

Tableau 09 : Classification des antibiotiques FQs et leurs spectres d'activité (Bhatt & Chatterjee, 2022)

Génération	Médicament	Statut en pratique clinique
1^{re} génération	Acide nalidixique	Bactéries à Gram négatif, sauf <i>Pseudomonas spp</i>
2^e génération	Norfloxacin	Bactéries à Gram positif (<i>Staphylococcus aureus</i> exclu <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Mycoplasma pneumoniae</i> et <i>Chlamydia pneumoniae</i>)
	Ciprofloxacine	Bactéries à Gram négatif, y compris <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et Certaines bactéries à Gram positif
	Enoxacin	Bactéries à Gram négatif et pathogènes atypiques tels que <i>Mycoplasma pneumoniae</i> et <i>Chlamydia pneumoniae</i>
	Ofloxacine	Toutes les bactéries à Gram négatif et Bactéries à Gram positif, à l'exception de <i>Streptococcus pneumoniae</i>

Chapitre III: Entérobactéries résistantes aux antibiotiques associées aux infections urinaires

3^e génération	Lévofoxacin	Actives contre toutes les bactéries à Gram négatif, les bactéries à Gram positif, ainsi que contre les microbes atypiques, y compris <i>Streptococcus pneumoniae</i> .
	Temafloxacin	Actives contre les bactéries à Gram négatif, les bactéries à Gram positif, y compris <i>Streptococcus pneumoniae</i> , ainsi que contre <i>Mycoplasma hominis</i> .
	Moxifloxacin	Actives contre certaines bactéries telles que <i>Legionella</i> , les espèces de <i>Mycobacterium</i> , ainsi que des souches de <i>Streptococcus pneumoniae</i> résistantes à d'autres fluoroquinolones.
	Pefloxacin	Actives contre les bactéries à Gram négatif, y compris <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , et contre les bactéries à Gram positif, y compris <i>Streptococcus pneumoniae</i> et <i>S. aureus</i> .
4^e génération	Gatifloxacin	Elle conserve l'activité des fluoroquinolones de deuxième et troisième génération, avec une efficacité contre les bactéries anaérobies.

II.2.2-Mécanisme d'action des fluoroquinolones

Les FQs exercent leur activité bactéricide en inhibant la synthèse de l'ADN bactérien, en ciblant deux enzymes essentielles : l'ADN gyrase (type II) et la topoisomérase IV (type IV). Ces enzymes, appelées « poisons des topoisomérases », interviennent dans le déroulement, le surenroulement et la séparation des brins d'ADN durant la réplication. Chez les bactéries à Gram négatif, la cible principale est l'ADN gyrase, tandis que chez les bactéries à Gram positif, la topoisomérase IV est souvent plus impliquée. En se liant au complexe ADN-enzyme, les fluoroquinolones empêchent la religature de l'ADN, bloquant ainsi la réplication et entraînant la mort cellulaire. Ce blocage provoque également une réponse SOS bactérienne via l'activation de *RecA* et l'autoclivage de *LexA*, accentuant l'effet létal. Par ailleurs, les fluoroquinolones sont qualifiées d'« inhibiteurs catalytiques » car elles perturbent également les fonctions enzymatiques normales de ces topoisomérases (Bhatt & Chatterjee, 2022).

II.2.3-Mécanismes de résistance aux FQs chez les entérobactéries

La résistance aux FQs constitue une problématique majeure en santé publique, affectant significativement l'efficacité des traitements antibiotiques. Depuis leur introduction, les fluoroquinolones ont exercé une pression sélective favorisant l'émergence de bactéries résistantes, notamment chez des espèces telles que *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* ou encore *Salmonella spp.* Cette résistance peut résulter de plusieurs mécanismes. Les plus courants incluent des mutations dans les gènes codant pour les enzymes cibles (ADN gyrase et topoisomérase IV), une surexpression des pompes d'efflux, une réduction de la perméabilité

membranaire, ou encore la présence de gènes de résistance transmis par des plasmides. (Bhatt & Chatterjee, 2022)

Ces différents mécanismes sont illustrés dans la **Figure 03** ci-dessous, qui résume les principales stratégies de résistance bactérienne aux FQs.

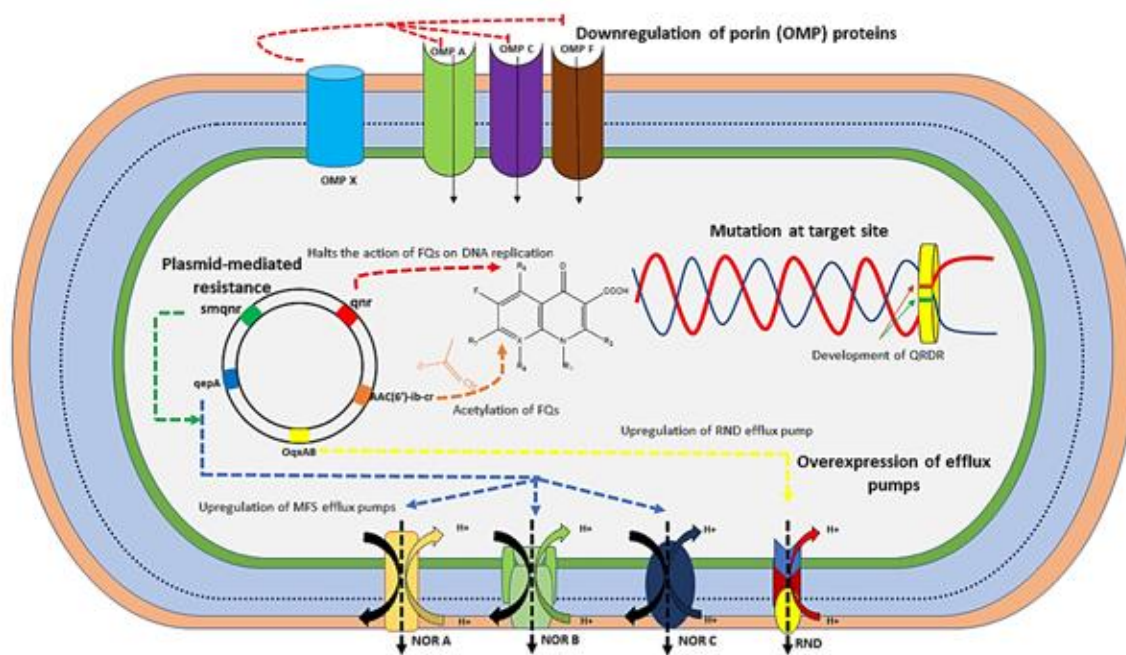


Figure 03: Mécanismes de la résistance aux fluoroquinolones (Bhatt & Chatterjee, 2022).

Le tableau suivant (**Tableau 10**) présente une synthèse des mécanismes de résistance aux FQs, en les reliant aux cibles bactériennes et aux stratégies moléculaires mises en œuvre par les agents pathogènes.

Tableau 10 : Principaux mécanismes de résistance bactérienne aux FQs (Bhatt & Chatterjee, 2022).

Mécanisme	Description	Exemples
Mutations chromosomiques	Altérations des gènes <i>gyrA</i> , <i>gyrB</i> , <i>parC</i> , <i>parE</i> affectant l'affinité du médicament	<i>E. coli</i> , <i>Shigella spp.</i>
Réduction de perméabilité	Perte ou modification des porines membranaires (<i>OmpF</i> , <i>OmpC</i>) empêchant l'entrée du médicament	<i>E. coli</i>
Pompes d'efflux	Surexpression des systèmes <i>AcrAB-ToIC</i> , <i>NorA</i> , <i>NorB</i> , <i>NorC</i> qui expulsent l'antibiotique	<i>S. aureus</i>
Résistance plasmidique (PMQR)	Présence de gènes <i>qnr</i> , <i>aac(6')-Ib-cr</i> , <i>QepA</i> , <i>OqxAB</i> sur des plasmides	<i>K. pneumoniae</i>

Chapitre III

Entérobactéries résistantes aux antibiotiques associées aux infections urinaires

III.1. Entérobactéries résistantes aux antibiotiques associées aux infections urinaires

III.1.1-Infections urinaires (IUs)

Le système urinaire se compose des reins, des uretères, de la vessie et de l'urètre, et sa principale fonction est de filtrer le sang en éliminant les déchets et l'excès d'eau. Le système urinaire joue un rôle clé dans l'élimination des produits de dégradation du métabolisme du sang. D'autres fonctions importantes réalisées par le système sont la normalisation de la concentration des ions et des solutés dans le sang et la régulation du volume sanguin et de la pression sanguine. Chez les personnes en bonne santé, l'urine est stérile ou contient très peu de micro-organismes pouvant provoquer une infection (**Mancuso et al., 2023a**).

Les IUs impliquent l'attaque d'un tissu de l'appareil urinaire par un ou plusieurs micro-organismes, ce qui entraîne une réponse inflammatoire associée à des signes et symptômes variables en fonction du contexte clinique (**Nabti, 2020**). Ces infections peuvent survenir dans l'urètre (urétrite), la vessie (cystite) ou les reins (pyélonéphrite) et sont l'une des maladies infectieuses les plus courantes au monde (**Mancuso et al., 2023a**).

III.1.2- Epidémiologie des infections urinaires

L'épidémiologie des infections urinaires est étroitement liée à la présence d'entérobactéries, principalement *E. coli*, suivie de *Klebsiella spp.*, *Proteus spp* et d'autres membres de cette famille. Comme le montre la **Figure 04**, ces pathogènes sont associés à plusieurs facteurs de risque, tels que le port de sondes urinaires, le diabète ou encore les anomalies anatomiques. En fonction de ces facteurs et du contexte clinique, les infections urinaires peuvent se présenter sous différentes formes : cystite, pyélonéphrite, prostatite ou infections urinaires compliquées. Cette figure illustre ainsi le lien entre les agents pathogènes, les facteurs de risque et les formes cliniques, ce qui est essentiel pour orienter la stratégie thérapeutique. (**Mancuso et al., 2023a**).

Les IUs peuvent être classées en deux grandes catégories :

III.1.2.1- IUs non compliquées

Les IUs non compliquées touchent généralement des patients en bonne santé en l'absence d'anomalies structurelles ou neurologiques des voies urinaires (**Mancuso et al., 2023a**).

III.1.2.2- IUs compliquées

Les IUs compliquées sont définies comme compliquées lorsqu'elles sont associées à des anomalies des voies urinaires qui augmentent la susceptibilité aux infections, telles que la cathétérisation ou des anomalies fonctionnelles ou anatomiques (par exemple, l'obstruction des voies urinaires, la rétention urinaire, la vessie neurogène, l'insuffisance rénale, la grossesse et la présence de calculs) (Mancuso et al., 2023a).

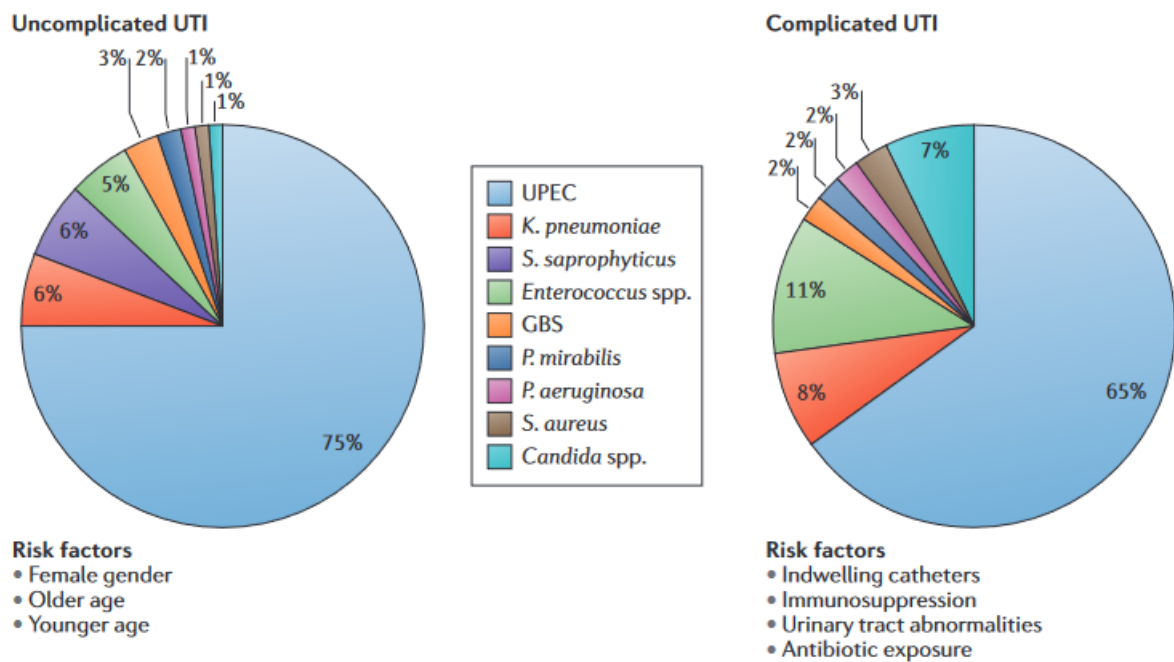


Figure 04: Epidémiologie des IUs (Flores-Mireles et al., 2015).

En Algérie, les IUs et les pyélonéphrites ont représenté la cinquième cause de mortalité en 2021, avec un total de 1 290 décès. Parmi ceux-ci, *E. coli* et *K. pneumoniae* ont été impliquées dans 40,5 % des cas (soit 370 et 153 décès respectivement), dont 84 % étaient liés à des souches résistantes aux antibiotiques (321 pour *E. coli* et 117 pour *K. pneumoniae*) (Ziadi et al., 2025).

III.1.3- Entérobactéries résistantes aux antibiotiques chez les IUs

On prend 2 espèces prédominants dans les IUs :

III.1.3.1-*E coli*

III.1.3.1.1- *E coli* et les infections urinaires

Les uropathogènes *E. coli* représentent la principale cause des IUs, étant responsables d'au moins 80 % des infections communautaires et de 65 % des infections nosocomiales. Bien que ces souches colonisent naturellement le tractus intestinal humain, elles se distinguent des souches commensales par leur capacité à exprimer divers facteurs de virulence. Ces derniers leur permettent de migrer du tractus intestinal vers le tractus urinaire, généralement à la suite d'une contamination fécale de la région périurétrale. Parmi ces facteurs de virulence, l'adhésion aux cellules épithéliales de l'hôte joue un rôle clé dans la pathogénicité des *E. coli* uropathogènes. Cette adhésion est essentielle pour surmonter les défenses immunitaires de l'hôte et établir une infection urinaire. Dans certains cas, ces bactéries peuvent former des biofilms et créer des communautés bactériennes intracellulaires dans la vessie (*Intracellular Bacterial Communities* - IBCs) (Mancuso et al., 2023a).

L'infection par ces isolats déclenche une réponse immunitaire innée marquée par la production de diverses cytokines et chimiokines pro-inflammatoires. Cette réponse entraîne un afflux rapide de neutrophiles dans la vessie ainsi que l'exfoliation des cellules épithéliales infectées. Pour échapper à cette immunité, les bactéries peuvent s'abriter dans le cytoplasme des cellules hôtes, où elles prolifèrent et forment des IBCs. Ce mécanisme favorise à la fois l'invasion d'autres cellules et la persistance bactérienne dans des compartiments intracellulaires quiescents. Ces réservoirs bactériens peuvent se réactiver ultérieurement, provoquant des infections urinaires récurrentes (Mancuso et al., 2023a).

Ces isolats expriment un large éventail de facteurs de virulence, mais leur capacité à provoquer des infections urinaires repose principalement sur la production d'adhésines facilitant l'adhésion et la colonisation des cellules hôtes. Parmi les facteurs de virulence sécrétés les plus importants figurent l'hémolysine A (*HlyA*), la cytotoxine nécrosante (*CNF1*) (Mancuso et al., 2023a) et les sidérophores, impliqués dans l'acquisition du fer nécessaire à la croissance bactérienne (Bunduki et al., 2021) (Tableau 11).

Tableau 11 : Principaux types d'adhésines chez *E coli* uropathogènes (Flores-Mireles et al., 2015; Bunduki et al., 2021; Mancuso et al., 2023a)

Enzymes		Description
Adhésines	Les <i>fimbriae</i> de type 1 (via la sous-unité d'adhésine <i>FimH</i>)	Des facteurs situés à l'extrémité terminale des <i>fimbriae</i> , se lient à l'urolakine mannosylées urothéliale, et les intégrines $\alpha1\beta3$ avec une spécificité stéréochimique pour initier la colonisation et l'invasion des cellules ombrelles L'invasion permet à l' <i>E. coli</i> de contourner certaines défenses de l'hôte et de devenir résistante aux traitements antibiotiques et facilitent également la formation de biofilms pendant les infections urinaires.
	<i>fimbriae</i> de type 2.	Un facteur de virulence important des <i>E. coli</i> , qui, par reconnaissance et liaison à des glycosphingolipides, jouent un rôle important dans la pathogenèse des UIs ascendantes et de la pyélonéphrite
	Les <i>adhésines Dr</i> et les <i>fimbriae S</i>	Des facteurs médient l'attachement de ce pathogène aux cellules uroépithéliales du rein et aux molécules d'acide sialique situées dans les cellules urothéliales de la vessie
	Les <i>fimbriae F1C</i>	Des facteurs présentent uniquement en l'absence de <i>pili F</i> et <i>pili P</i> et se lient à des récepteurs spécifiques présents dans des lignées cellulaires endothéliales des voies urinaires inférieures et dans les reins.
<i>HlyA</i>		une lipoprotéine appelée α -hémolysine, associée aux infections urinaires les plus sévères, il est toxine formant des pores qui exerce un effet double, dépendant de la concentration, sur les cellules épithéliales

		rénales. À fortes concentrations, <i>HlyA</i> est capable d'endommager les cellules hôtes, facilitant ainsi la libération de fer et l'acquisition de nutriments. À faibles concentrations, <i>HlyA</i> peut induire l'apoptose des cellules cibles hôtes, favorisant ainsi la propagation des <i>E. coli</i> à d'autres cellules hôtes.
<i>CNF1</i>		<i>CNF1</i> (Facteur cytotoxique nécrosant 1), est un facteur impliqué dans la pyélonéphrite et l'invasion rénalee facteur cytotoxique nécrosant. Cet enzyme est agi en se liant au récepteur de la molécule d'adhésion des cellules basales (BCAM) et en induisant l'activation constitutive des GTPases <i>Rho</i>. L'activation de ces dernières favorise des niveaux accrus d'internalisation bactérienne et la propagation des <i>E. coli</i> à d'autres cellules hôtes.
Siderophores	<i>aer, chuA, fyuA, iuD, iutA, yfcv</i>	La production de sidérophores par <i>E. coli</i> permet l'acquisition de fer de l'hôte et aide à la colonisation et à la survie du pathogène. Ils contribuent au processus de passivation nutritionnelle des ions métalliques, dans lequel <i>E. coli</i> accède à ces nutriments vitaux tout en se protégeant simultanément de leur potentiel toxique.

III.1.3.1.2- Pathotypes d'*E.coli*

Les souches pathogènes d'*E. coli* responsables d'infections urinaires sont principalement classées en deux pathotypes :

- *E. coli* uropathogène (UPEC), qui est la principale cause des IUs et possède des facteurs de virulence spécifiques favorisant l'adhésion, la colonisation et la persistance dans le tractus urinaire.
- *E. coli* pathogène extra-intestinal (ExPEC), un groupe plus large qui comprend UPEC et d'autres souches capables d'infecter divers sites extra-intestinaux, comme le système urinaire, la circulation sanguine et le système nerveux central.

Ces pathotypes se distinguent par la présence de gènes de virulence spécifiques, leur capacité à envahir et à survivre dans des environnements extra-intestinaux, ainsi que leur rôle dans les IUs récurrentes et compliquées (Pitout & DeVinney, 2017; Denamur et al., 2021; García-Meniño et al., 2024).

Dans le tableau suivant (Tableau 12), est présentée la classification des pathotypes ExPEC et UPEC.

Tableau 12: Classification des pathotypes ExPEC et UPEC (Denamur et al., 2021) :

Pathotype	Définition	Hôte principal	Principaux gènes de virulence	Contexte phylogénétique	Principaux ST*	Principaux sérotypes
ExPEC	Infection extra-intestinale, gènes spécifiques, modèle animal	Humain, mammifères domestiques, oiseaux	Gènes codant pour les adhésines, les toxines, les protectines et les systèmes de capture du fer	B2	STc131	O16:H5, O25:H4
				B2	STc73	O2:H1, O6:H1
				B2	STc95	O1/O2/O18/O45: K1:H7, O2:K1:H4
				B2	STc12	O4:H1/H5
				B2	STc14	O75:H5
				D	STc69	O17/O73/O77:H18
				C	STc88	O8/O9:H4/H9/H19, O78:H4
				F	STc62	O7:K1:H45
UPEC	Isolé à partir d'échantillons urinaires	Humain, mammifères domestiques	<i>papGII</i> , <i>papGIII</i>	B2	STc131, STc73, STc95, STc12, STc14	Idem ExPEC
				D	STc69	

ST* type séquentiel (Sequence Type)

III.1.3.1.3- Clones ST à haut risque d'*E. coli* : Une menace pandémique internationale de bactéries MDR

L'espèce *E. coli* présente une diversité remarquable de modes de vie, englobant des souches environnementales, commensales et pathogènes. Nombre de ces souches contribuent de manière significative à la menace mondiale croissante de la résistance aux antimicrobiens. L'émergence répétée de clones pandémiques MDRs, notamment la lignée ST131, souligne l'importance d'étudier les processus évolutifs sous-jacents à leur apparition et à leur propagation. L'évolution de ces clones repose sur une série d'événements clés, allant de la colonisation et de l'expansion à l'acquisition de plasmides de multirésistance, chaque étape étant marquée par des mutations facilitatrices favorisant leur adaptation (Cummins et al., 2021).

Ces processus successifs pourraient expliquer la formation et le succès des clones pandémiques résistants aux antimicrobiens. Parmi les ExPECs, certaines lignées, telles que ST131 et ST1193, appartiennent au phylogroupe B2 et représentent une menace majeure en raison de leur capacité accrue à provoquer des infections sévères et à résister aux traitements antibiotiques conventionnels (Cummins et al., 2021). Les clones ST131 et ST1193 sont uniques : ils sont MDRs dominants parmi les populations non sélectionnées d'*E. coli* et se sont propagés avec succès à l'échelle mondiale. Cela fait des isolats ST131 et ST1193 des modèles bactériens idéaux pour étudier l'évolution des clones MDRs (Pitout et al., 2022a).

a) *E. coli* ST131 : Le clone à haut risque prédominant à l'échelle mondiale

Le ST131 *E. coli* est le clone à haut risque MDR-ExPEC. Il a été principalement responsable de la pandémie mondiale de la FQR et aux céphalosporines parmi les isolats d'*E. coli* au milieu et à la fin des années 2000. Actuellement, ST131 est le clone le plus répandu parmi les isolats humains d'*E. coli*. Il est à l'origine de millions d'infections et de décès humains chaque année (Pitout et al., 2022a). De plus, il entraîne des millions d'infections résistantes aux antimicrobiens chaque année. En effet, ce clone est le plus répandu produisant des BLSE et exprimant FQR à travers le monde. Son succès phénoménal repose probablement sur plusieurs facteurs et ne se limite pas uniquement à son potentiel de virulence. Ce clone, appartenant au phylogroupe B2, est majoritairement représenté par le sérotype O25b : H4, souvent désigné sous le nom de ST131-O25b. (Pitout & DeVinney, 2017; Lindblom et al., 2022).

b) *E. coli* ST1193 : Un clone multirésistant pandémique récemment émergent du phylogroupe B2

Le premier signalement de ST1193 d'*E. coli* remonte à 2012, parmi des isolats qui exprimant FQR recueillis en Australie entre 2007 et 2008 chez l'humain et le chien. *E. coli* ST1193 était le cinquième ST le plus fréquent (derrière ST131, ST73, ST69 et ST95) et le deuxième clone résistant aux antimicrobiens (derrière ST131) dans une population humaine géographiquement bien définie, et il a été rapporté comme l'un des génotypes d'*E. coli* les plus courants dans certaines études sur les infections nosocomiales (derrière ST131). Entre 2014 et 2018, plusieurs études ont décrit ST1193 comme un pathogène émergent, impliqué dans des infections urinaires et sanguines d'origine communautaire et nosocomiale (Cummins et al., 2021; Pitout et al., 2022a).

Le clone ST1193 a été détecté parmi des isolats d'*E. coli* non fermentant le lactose, exprimant aux FQR et producteurs de BLSE. Les isolats d'*E. coli* ST1193 appartiennent au phylogroupe B2, associé à la virulence. Ils possèdent le sérotype O75, les *pili* de type 1 *fimH64* et une capsule bactérienne de type K1 ou K5 (Tableau 13).

Ce clone est plus susceptible de provoquer des infections des voies urinaires basses plutôt que hautes, en comparaison avec ST131. Des études menées aux États-Unis et en Italie ont également révélé que ST1193 est impliqué dans les infections urinaires associées aux soins de santé, notamment dans les établissements de soins de longue durée. De plus, ce clone est une cause d'IUs chez les enfants (Pitout et al., 2022a).

Tableau 13: Caractéristiques les clones ST131 et ST1193 (Pitout et al., 2022a) :

Paramètre	ST131	ST1193
Distribution	Mondiale	Mondiale
Groupe O	O16, O25b	O75
Phylogroupe	B2	B2
Fermentation du lactose	Fermentant	Non fermentant
Capsule(s)	<i>kpsMT III</i>	K5, K1
<i>FimH</i>	H4, H22, H30	H64
Mutations QRDR	Progressives : <i>parE</i> I529L, <i>gyrA</i> S83L, <i>parC</i> S80I, <i>gyrA</i> D87N, <i>parC</i> E84V	Par recombinaison homologue : <i>parE</i> L416F, <i>gyrA</i> S83L, <i>parC</i> S80I, <i>gyrA</i> D87N

Chapitre III: Entérobactéries résistantes aux antibiotiques associées aux infections urinaires

Enzymes CTX-M	CTX-M-14, CTX-M-27, CTX-M-15	Diverses
Facteurs de virulence	Divers (<i>usp</i> , <i>ompT</i> , <i>sat</i> , <i>iutA</i> , et <i>malX</i>)	Divers (<i>gad</i> , <i>iha</i> , <i>sat</i> , <i>senB</i> , <i>vat</i> , <i>iutA</i> , <i>chuA</i> , <i>ompT</i> , et <i>fyuA</i>)
Manifestations cliniques	Âgés, IUs, infections sanguines	Jeunes/âgés, IUs, infections sanguines
Acquisition	Associée aux soins de santé, infections communautaires	Infections communautaires, associée aux soins de santé
Résistance aux fluoroquinolones	Oui	Oui

c- *E. coli* ST 38

Les souches *E. coli* ST38, appartenant au phylogroupe D, sont des pathogènes extra-intestinaux à large spectre d'hôtes (humains, animaux sauvages et domestiques) et de réservoirs (environnement, aliments). Leur faible nombre de SNPs (< 35) entre isolats provenant de différentes sources suggère une transmission inter-hôte fréquente. Ces souches ont une distribution mondiale, avec une prédominance dans des pays comme l'Australie, les États-Unis, la Chine, l'Allemagne, l'Angleterre et la France (Pengdbamba Dieudonné, 2024).

Elles sont souvent associées à des infections urinaires et des bactériémies humaines, représentant une proportion notable des cas dans divers pays. Les analyses phylogénétiques montrent deux clades principaux : un clade A majoritairement humain, subdivisé en A1, A2 et A3, et un clade B à prédominance non humaine. Ces souches possèdent de nombreux gènes de virulence (2 à 35), notamment des sidérophores comme la yersiniabactine et des facteurs de virulence issus d'*E. coli* entéroaggrégatif. Sur le plan de la résistance, elles sont fréquemment multirésistantes, notamment aux aminoglycosides, β -lactamines et FQs, avec une forte présence des gènes *blaCTX-M4*, *blaCTX-M15* et *blaCTX-M27* (Pengdbamba Dieudonné, 2024).

Un aperçu global des caractéristiques épidémiologiques, phylogénétiques et moléculaires de *E. coli* ST38 est présenté dans le tableau suivant (Tableau 14) (Pengdbamba Dieudonné, 2024).

Dans le tableau suivant (Tableau 14), est présentée les caractéristiques des souches *E. coli* ST38.

Tableau 14 : caractéristiques des souches *E. coli* ST38

Caractéristique	Description
Phylogroupe	D
Hôtes et réservoirs	Urines humaines, animaux sauvages/domestiques (volailles, oiseaux migrateurs, environnement, produits alimentaires)
Transmission	Inter-hôte fréquente (≤ 35 SNPs entre isolats)
Distribution géographique	Monde entier (prévalence élevée : USA, Chine, France, etc.)
Infections humaines	Urinaires (4,8–10,6%), bactériémies (6,2%)
Structure phylogénétique	2 clades : A (humain) et B (non humain) ; A subdivisé en A1–A3
Sérogroupe dominants	O86:H18, O1:H15, O50/O2:H30
Gènes de virulence	<i>yersiniabactine</i> , <i>shuA</i> , <i>shuT</i> , <i>aggR</i>
Facteurs entéroaggrégatifs	<i>aggR</i> présent dans 99 souches (principalement clade A)
Gènes de résistance	Présents dans la majorité des souches : blaCTX-M-14/15/27
Antibiotiques concernés	Aminoglycosides, β -lactamines, FQs

D) Autres high risk clones

Le tableau suivant (**Tableau 15**) présente les principaux clones d'*E. coli* à haut risque identifiés dans les études récentes, en mettant en évidence leurs caractéristiques phylogénétiques, leurs gènes de résistance majeurs ainsi que leurs sources d'isolement

Tableau 15: Clones ST émergents et MDR d'*E. coli* : caractéristiques clés (Kocsis et al., 2022).

Clone	Groupe phylogénétique	Gènes de résistance majeurs	Résistances associées	Sources d'isolement principales
ST69 : deuxième clone à haut risque les plus fréquent	D	<i>blaKPC-2, blaNDM-1, blaCTX-M-15, mcr-1, fosA3, dfrA17-aadA5</i>	FQs, TMP-SMX, β-lactamines	Urines humaines, produits laitiers, viande de volaille, mollusques
CC10 : troisième clones à haut risque les plus fréquent	A	<i>blaKPC-2, blaNDM-1, blaIMP-8, blaOXA-48, blaCTX-M-15, mcr-1</i>	Carbapénèmes, FQs, colistine	Aliments, eaux usées, rivières, microbiote humain, oiseaux, animaux
ST405	D	<i>blaNDM-5, blaCTX-M-15, blaOXA-1, mcr-1, dfrA17-aadA5</i>	FQs, β-lactamines	Hôpitaux, environnement, sites agricoles, Japon, Europe
ST457, un novel clone émergent	F	<i>blaKPC-2, blaNDM-5, blaCTX-M-15, blaCMY-2, mcr-1, mcr-3, mcr-5</i>	Colistine, carbapénèmes, céphalosporines	Cliniques humaines, volaille, canards, mouettes, animaux sauvages

III.2.2- *K. pneumoniae*

III.2.2.1- *K. pneumoniae* et les infections urinaires

L'espèce de *K. pneumoniae* est un pathogène, similaire à *E. coli*, utilise deux types d'adhésines fimbriales, les fimbriae de type 1 (*FimH*) et les fimbriae de type 3, pour la formation de biofilms et la colonisation de la vessie. Notamment, ces deux types d'adhésines fimbriales ont des spécificités de liaison différentes :

- ***Fimbriae* de type 1 :**

Les *fimbriae* de type 1 se lient aux récepteurs de mannose dans les voies urinaires et favorisent l'invasion des cellules de la vessie. L'adhésion par *FimH* est plus faible chez *K. pneumoniae*, ce qui se traduit par une présence de *K. pneumoniae* significativement plus faible dans la vessie et moins de IBC que ceux observés pour *E. coli*. Malgré les propriétés adhésives relativement faibles de *FimH* de *K. pneumoniae* dans les voies urinaires, il reste un facteur de virulence important pour *K. pneumoniae* lors de la colonisation, de la formation de biofilm et de la persistance dans les IUs.

- ***Fimbriae* de type 3 :**

Les *fimbriae* de type 3 ne se lient pas aux récepteurs de mannose mais jouent un rôle important dans la colonisation et lors de l'agrégation de biofilm sur des dispositifs médicaux tels que les cathéters (Flores-Mireles et al., 2015; Mancuso et al., 2023a)

III.2.2.2- Types de *K. pneumoniae*

Le syndrome clinique aigu et mortel de la pneumonie de Friedländer a été rapporté pour la première fois en 1882 (Friedlaender, 1882). Initialement, l'agent pathogène responsable, pouvant provoquer une infection à plusieurs sites, était connu sous le nom de bacille de Friedländer. Finalement, il a été identifié comme *K. pneumoniae*, classé dans la famille des Entérobactéries. Actuellement, *K. pneumoniae* classique (cKP) et *K. pneumoniae* hypervirulent (hvKP) sont les deux principaux pathotypes de *K. pneumoniae* se propageant à l'échelle mondiale (Chen et al., 2023). Les principales caractéristiques de ces deux bactéries pathogènes sont présentées ci-dessous (Tableau16):

Tableau 16: Caractéristiques principales de Ckp et hvKP (Chen et al., 2023) :

Caractéristiques	HvKP	cKp*
Gènes d'hypervirulence	<i>iro, iuc, iut, irp, fyu, clb, rmp, etc.</i>	/
Hypermucoviscosité (HMV)	Toujours (+)	Rare
Statut immunitaire des patients	Immunocompétents ou immunodéprimés	Immunodéprimés
Type d'infection	Communautaire	Nosocomiale
Nombre de sites infectés	Souvent multiples	Généralement un seul site
Métastases	Fréquentes	Rares

a) *K. pneumoniae* hypervirulent

L'*K. pneumoniae* hypervirulent (hvKP) a été identifié pour la première fois en 1986 (Y.-C. Liu, 1986), chez des patients souffrant d'épisodes répétés d'abcès hépatiques associés à une endophtalmie sévère. Bien que ses symptômes ne soient pas spécifiques, les souches hvKP peuvent provoquer des infections graves, voire mortelles, y compris chez des individus immunocompétents. Ces infections se distinguent par une dissémination métastatique rapide, entraînant de multiples atteintes invasives, notamment des abcès pyogènes (Russo & Marr, 2019; Chen et al., 2023).

Les infections à hvKP sont largement répandues, en particulier en Asie de l'Est et du Sud-Est, et représentent une menace émergente pour l'Europe (Chen et al., 2023). Les premières souches de hvKP étaient sensibles aux antimicrobiens. Cependant, depuis la dernière décennie, la prévalence des souches MDR-hvKP n'a cessé d'augmenter, posant ainsi des défis majeurs aux cliniciens pour le traitement de ces infections. L'évolution de MDR *K. pneumoniae*, de hvKP, et de MDR-hvKP est façonnée par l'acquisition d'éléments de résistance ou de virulence pertinents. Ces éléments comprennent les plasmides conjugatifs, les intégrons, les séquences d'insertion et les transposons (Chen et al., 2023).

De plus, au cours du traitement, des mutations génétiques contribuent à l'évolution de la résistance des CR-hvKP, par ailleurs, l'incidence des infections à CR-hvKP a augmenté de manière constante depuis leur premier signalement en 2015, ces souches étant capables de provoquer des épidémies à l'échelle mondiale (C. Liu et al., 2022a; Chen et al., 2023; Spadar

et al., 2023). Selon une étude majeure menée en Chine, 36 % des CR-KP présentaient des facteurs d'hypervirulence. Les souches hvKP acquièrent des gènes de résistance aux antimicrobiens par plusieurs mécanismes. L'acquisition de plasmides de résistance est le mécanisme le plus courant, parmi lesquels les carbapénémases sont les plus répandues, telles que *blaKPC-2* et *blaNDM-1*. (Chen et al., 2023).

Alors, Les souches hvKP, en particulier les clones MDR-hvKP, constituent une menace majeure pour la santé publique et compliquent considérablement le contrôle des infections. Bien que plusieurs facteurs d'hypervirulence aient été identifiés, les mécanismes précis impliqués restent encore insuffisamment caractérisés (C. Liu et al., 2022b; Chen et al., 2023).

b) *K. pneumoniae* hypervirulent et la Réponse Immunitaire

Comparées aux souches cKP, les souches hvKP sont plus tolérantes au système immunitaire (Wang et al., 2017). Le Polysaccharide Capsulaire (CPS, Capsular Polysaccharide), une caractéristique de virulence distinctive des hvKP, permet à la bactérie d'échapper à la phagocytose et aux facteurs sériques (Ma et al., 2022). De plus, la réduction ou l'arrêt de la biosynthèse de la CPS peut affaiblir la virulence de *K. pneumoniae* et exposer la bactérie aux activités immunitaires (Lin et al., 2022). L'une des principales caractéristiques des souches hvKP est leur capacité à infecter plusieurs sites simultanément. Les hvKP peuvent survivre à l'intérieur des neutrophiles, et la durée de vie des neutrophiles infectés peut atteindre 24 heures (Lee et al., 2017).

Dans un modèle murin infecté par une souche CR-hvKP, les souches de faible virulence étaient plus sensibles à l'élimination par les neutrophiles que les isolats CR-hvKP (G. Yang et al., 2022). Après une infection par hvKP, la prolifération des macrophages joue un rôle clé dans la formation d'abcès. Dans un modèle murin, Wanford et al (Wanford et al., 2021) ont observé que hvKP parvenait à échapper à l'élimination induite par les phagocytes et se multipliait dans les macrophages 6 heures après l'infection. Le recrutement des neutrophiles sur les sites infectés favorise la formation précoce des abcès (Chen et al., 2023).

Partie expérimentale

Chapitre IV

Matériel et Méthodes

Objectifs du travail

Objectif général

Caractériser les souches d'*E. coli* et de *K. pneumoniae* impliquées dans les infections urinaires à Tébessa, sur le plan moléculaire, afin d'améliorer les connaissances sur leur circulation et leur profil de résistance en Algérie.

Objectifs secondaires

- Évaluer l'apport des techniques de biologie moléculaire dans la caractérisation des bactéries uropathogènes.
- Déterminer la prévalence des entérobactéries associées aux infections urinaires.
- Déterminer la prévalence et les caractéristiques moléculaires des souches uropathogènes d'*E. coli* et de *K. pneumoniae* associées à la multirésistance, à l'hypervirulence.

IV.1- Présentation du travail

Notre étude prospective a été réalisée sur une période de deux ans, allant de juillet 2022 à janvier 2024. Les échantillons urinaires analysés ont été collectés principalement dans différents services répartis entre deux Établissements Publics Hospitaliers (EPH) de la wilaya de Tébessa : médecine interne hommes, médecine interne femmes, pneumologie-phtisiologie, gynécologie, maternité, réanimation, pédiatrie, infectiologie et consultations externes.

Ces établissements constituent des structures de référence de la wilaya de Tébessa, accueillant des patients provenant de diverses localités, notamment pour la prise en charge de cas complexes ou à haut risque. Les protocoles diagnostiques et les pratiques de prescription des antibiotiques appliqués dans ces structures sont comparables à ceux observés dans d'autres régions du pays, où l'accès relativement facile aux antibiotiques favorise une pression de sélection similaire sur les bactéries.

En complément, le laboratoire privé d'analyses médicales Elite a également participé à l'étude. Il s'agit d'un laboratoire de référence reconnu dans la région, recevant un nombre important et varié de patients en raison de son équipement performant et de sa réputation auprès des praticiens locaux.

Dans la première partie du travail, la caractérisation phénotypique des entérobactéries uropathogènes non dupliquées a été réalisée au laboratoire de microbiologie de l'EPH Bouguerra Boulaâres de Bekkaria (Tébessa).

Dans la seconde partie, l'analyse moléculaire et la caractérisation génomique des souches sélectionnées, notamment *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*, ont été réalisées au Laboratoire de Référence *Escherichia coli* (LREC), Département de Parasitologie et Microbiologie, Faculté de Médecine Vétérinaire, Campus Terra, University of Santiago de Compostela, dans le cadre d'une mobilité Erasmus+ KA107, sous la supervision de la Professeure Azucena Mora, entre janvier et juin 2024

IV.1.1- Présentation géographique de la wilaya de Tébessa



Figure 04 : La wilaya de Tébessa

La wilaya de Tébessa est située à l'extrême Est de l'Algérie, à la frontière tunisienne. Elle couvre une superficie d'environ 14 227 km² et compte plus de 700 000 habitants. Sa position stratégique et les mouvements fréquents de population peuvent favoriser la circulation des bactéries résistantes aux antibiotiques. L'étude a été réalisée dans trois établissements de santé de référence de la wilaya.

IV.1.2- Population cible

La population cible de cette étude était constituée de patients présentant une suspicion clinique ou une infection urinaire confirmée microbiologiquement, pris en charge dans les établissements de santé inclus dans l'étude. Les patients des deux sexes (hommes et femmes), de toutes les tranches d'âge, allant des nourrissons âgés d'un mois aux sujets âgés de plus de 60 ans, ont été inclus, indépendamment de leur statut immunitaire. Les patients provenaient aussi bien des services d'hospitalisation que des consultations externes.

IV.1.3- Critères d'inclusion et d'exclusion

1) Critères d'inclusion

- ✓ Patients des deux sexes et de toutes les tranches d'âge.
- ✓ Patients immunocompétents ou immunodéprimés.
- ✓ Patients présentant une infection urinaire confirmée microbiologiquement.
- ✓ Échantillons urinaires provenant d'urines de milieu de jet ou de sondage urinaire.
- ✓ Isolement d'une entérobactérie uropathogène.
- ✓ Un seul isolat retenu par patient.

2) Critères d'exclusion

- ✓ Échantillons urinaires contaminés ou non conformes.
- ✓ Cultures polymicrobiennes ne permettant pas l'identification d'un agent pathogène principal.
- ✓ Isolats n'appartenant pas aux entérobactéries uropathogènes d'intérêt clinique (par exemple : *Salmonella* spp.).
- ✓ Isolats répétés provenant du même patient (doublons).
- ✓ Données microbiologiques incomplètes ou non exploitables.

IV.2- Description des isolats Uropathogènes

301 Souches d'entérobactéries uropathogènes urinaires dont 243 Entérobactéries uropathogènes multirésistantes (MDR) issus des prélèvements urinaires chez des patients hospitalisés et non hospitalisés.

L'ensemble des milieux de culture, réactifs et appareillage seront cités au fur et à mesure de leur utilisation.

IV.3- Isolement des souches :

Après un examen direct positif, les échantillons urinaires ont été ensemencés sur les milieux MacConkey et Hektoen (Condalab, Espagne), puis incubés à 37 °C pendant 18 à 24 heures.

Dans certains cas, l'examen direct pouvait être positif alors que la culture restait négative, notamment chez les patients ayant reçu une antibiothérapie avant le prélèvement, ce qui peut inhiber la croissance bactérienne. À l'inverse, certaines cultures pouvaient être positives malgré un examen direct négatif, caractérisé par une absence ou un faible nombre de leucocytes à l'examen direct, situation pouvant être observée chez certains patients immunodéprimés présentant une réponse inflammatoire atténuée.

Après incubation, un dénombrement bactérien a été effectué à l'aide d'une anse calibrée afin de déterminer la concentration bactérienne exprimée en unités formant colonies par millilitre (UFC/mL). Une bactériurie significative a été retenue lorsque la concentration bactérienne était supérieure ou égale à 10^5 UFC/mL, conformément aux critères microbiologiques utilisés pour le diagnostic des infections urinaires. Les colonies obtenues ont ensuite été soumises à une identification bactérienne et à l'étude de leur profil de sensibilité aux antibiotiques.

IV.4- Identification des souches

Après l'étape d'isolement, une identification préliminaire des isolats est réalisée :

- Une première caractérisation morphologique des isolats a été réalisée en observant la forme, la taille, la couleur et l'aspect des colonies. Par exemple, *K. pneumoniae* présente un aspect muqueux.
- Les isolats ont ensuite été caractérisés en fonction de leurs caractéristiques morphologiques et biochimiques, puis identifiés à l'aide de deux systèmes complémentaires : le système Analytical Profile Index (API E 20) (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, France), dont la lecture a été interprétée via le logiciel d'identification en ligne sur le site UPBM Le Lab @UPBM 2017-2026 (<https://lab.upbm.org/identifieur/>), et le système Vitek 2 (bioMérieux) (**Figure 05**).



Figure 05 : Système Vitek 2 (bioMérieux).

- Le système API E 20 permet une identification biochimique basée sur les réactions métaboliques et enzymatiques, tandis que le système Vitek 2 utilise la cassette Vitek GN, spécialement conçue pour l'identification des bactéries à Gram négatif, y compris les Entérobactéries
- Cette approche combinée a permis d'assurer une identification précise et fiable des souches.

IV.5- Etude la résistance aux antibiotiques

IV.5.1-Sensibilité aux antibiotiques

Le test de sensibilité aux antibiotiques a été réalisé pour les 301 isolats bactériens en utilisant le système Vitek 2 utilise la cassette Vitek AST 233 (bioMérieux SA) (**Figure 06**), qui a évalué 18 antibiotiques pour chaque souche en fonction des concentrations minimales inhibitrices (CMI). Les antibiotiques testés comprenaient : Amoxicilline (AMC), Ampicilline (AMP), Piperacilline-tazobactam (PIP-TAZ), Céfazoline (CFZ), Céfoxitine (FOX), Cefotaxime (CTX), Ceftazidime (CAZ), Ertapénem (ETP), Imipénem (IPM), Acide nalidixique (NA), Ciprofloxacine (CIP), Gentamicine (GEN), Tobramycine (TOB), Amikacine (AMK), Nitrofurantoïne (NIT), Fosfomycine (FOS), Triméthoprim-Sulfaméthoxazole (TMP-SMX) et Chloramphénicol (CHL). Bien que la colistine (CL) ait été incluse dans les tests, elle n'a donné aucun résultat pour les souches.



Figure 06 : Cassette de ViteK2 AST 233 (bioMérieux SA)

IV.5.2-Détection des souches MDR/XDR

La classification des souches uropathogènes *Enterobacteriaceae* XDR (Extensively Drug-Resistant) et MDR été réalisée selon les critères établis par Magiorakos et al (Magiorakos et al., 2012; OMS, 2024). Les souches ont été catégorisées comme MDR si elles ont montré une non-sensibilité à trois ou plusieurs classes d'agents antimicrobiens et XDR, si elles étaient résistantes à toutes les classes d'antibiotiques sauf deux.

La détermination des phénotypes MDR a été confirmée par la méthode de diffusion sur disque en milieu Müller Hinton (**Bauer et al., 1966**), garantissant la standardisation et la comparabilité des résultats MDR. La diffusion sur disque a utilisé les mêmes disques antibiotiques que ceux employés dans le système Vitek 2, à l'exception du piperacilline-tazobactam (PIP-TAZ). De plus, l'aztréonam (ATM) a été inclus dans les tests afin d'élargir le profil de résistance, suivant les recommandations de l'European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST2021).

IV.5.3.Calcul de l'indice de résistance aux antibiotiques multiples

L'indice de résistance aux antibiotiques multiples (MAR, Multiple Antibiotics Resistant) a été calculé en suivant la méthode décrite par Krumperman (**Imran et al., 2023; Krumperman, 1983**), selon la formule suivante :

$$\text{Indice MAR} = \frac{\text{Nombre d'antibiotiques auxquels l'isolat est résistant}}{\text{Nombre total d'antibiotiques testés}}$$

De plus, un indice MAR supérieur à 0,2 indique que l'isolat provient d'une source à haut risque avec une grande utilisation d'antibiotiques. En revanche, des valeurs $\leq 0,2$ montrent que les bactéries proviennent d'une source avec une exposition limitée aux antibiotiques (**Elbehiry et al., 2024**).

IV.5.4-Résistance aux ciprofloxacines

Les fluoroquinolones (FQs), y compris la ciprofloxacine, la lévofloxacine et la moxifloxacine, sont couramment utilisées pour évaluer les profils de résistance aux antibiotiques (**Teichmann et al., 2025**). Dans notre étude, nous nous sommes concentrés uniquement sur la ciprofloxacine pour le dépistage de la FQR (**García-Meniño et al., 2024**), en utilisant les résultats du test de sensibilité à la ciprofloxacine obtenus via le système Vitek2.

IV.5.5-Détection des entérobactéries productrices BLSE/AmpC

Les phénotypes des souches ont été déterminés à l'aide du système Vitek 2 (bioMérieux), et elles ont été classées en BLSE (+/- carbapénémases) ou AmpC (+/- carbapénémases), ce résultat, est confirmé par le test de synergie à double disque (DDST) a été réalisé sur une plaque de gélose Müller Hinton (MH) (**Jarlier et al., 1988**). Des disques de céphalosporines de troisième génération, comprenant le Céfotaxime (CTX 30 µg), la Ceftazidime (CAZ 30 µg) et l'Aztréonam (ATM 30 µg), ont été placés à 30 mm de distance (centre à centre) d'un disque central contenant de l'amoxicilline/acide clavulanique (AMC 20/10 µg) (**Figure 07**).

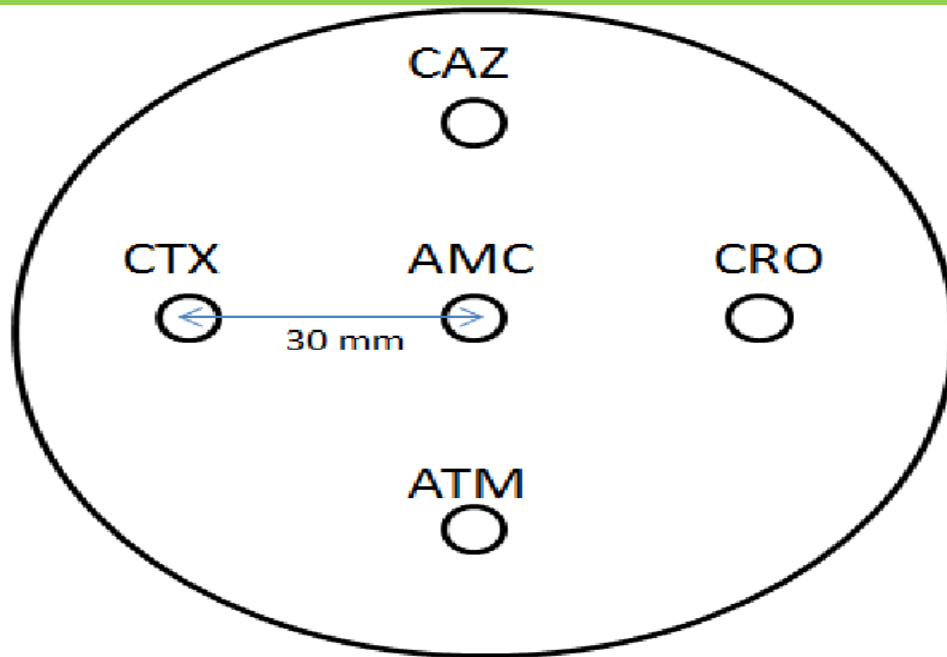


Figure 07 : Schéma explicatif du dépôt des disques d'antibiotiques (belbel Zineb, 2014).

Les souches présentant une augmentation typique de la zone d'inhibition (>5 mm) entre les céphalosporines et l'amoxicilline/acide clavulanique, avec l'apparence caractéristique en forme de "bouchon de champagne", ont été identifiées comme productrices de BLSE.

IV.6. Conservation des isolats

Les isolats purifiés ont été ensemencés sur gélose inclinée (gélose nutritive), incubés pendant 18 heures à 37°C , puis conservés à 4°C . Le renouvellement des cultures est effectué périodiquement pour destinées à leur caractérisation au sein LREC-USC,

IV.7- Analyse Moléculaire

Pour l'analyse moléculaire, nous avons sélectionné 50 *E. coli* et 22 *K. pneumoniae* multi-résistant, considérés comme les plus prédominants dans cette étude.

IV.7.1-Re-isolement des souches

Au LREC-USC, les isolats ont été cultivés par ensemencement sur de la gélose MacConkey Lactose (ML) (Oxoid) et incubés à 37°C pendant 18 heures. Après cette incubation, les souches d'*E. coli* et de *K. pneumoniae* ont été transférées sur de la gélose Tryptone Soja (TSA), également incubée à 37°C pendant 18 heures. Ce milieu, riche en

nutriments, a favorisé leur croissance optimale. Par la suite, les souches ont été conservées à température ambiante contrôlée dans un bouillon nutritif (Difco) contenant 75% d'agar nutritif (Difco) pour une conservation à long terme.

IV.7.2-Évaluation de la fermentation du lactose

Les souches d'*E. coli* non-fermentatrices du lactose (NLF) ont été identifiées par leur incapacité à fermenter le lactose sur la gélose ML, ce qui se manifeste par l'absence de coloration rose autour des colonies (**García-Meniño et al., 2024**).

IV.7.3-Confirmation des souches productrices des BLSE/Carbapénémases

À l'aide d'une anse de prélèvement stérile, nous prélevons quelques colonies à partir d'une culture jeune développée sur un milieu gélose Tryptone Soja TSA (18 à 24 heures à 37°C), puis nous les ensemençons sur les milieux chromogènes CHROMID® ESBL et CHROMID® CARBA SMART. Ces milieux sont utilisés pour la détection des souches productrices de BLSE et de carbapénémases. Ils permettent une détection sélective et différenciée des entérobactéries productrices de ces enzymes en fonction de leur morphologie et de leur coloration caractéristique.

IV.7.4-Caractérisation moléculaire des souches MDR

Le protocole général comprend l'extraction d'ADN et la Réaction en Chaîne par Polymérase (PCR, Polymerase Chain Reaction). L'ADN extrait est utilisé pour l'ensemble des analyses et caractérisations moléculaires. La PCR, quant à elle, est spécifique, car chaque gène nécessite des amorces spécifiques. Toutefois, le protocole de PCR reste le même pour toutes les analyses.

IV.7.4.1- Extraction d'ADN

Des colonies cultivées pendant 18 à 24 heures à 37°C sur TSA ont été prélevées à l'aide d'une boucle d'inoculation de 1 µl et suspendues dans 600 µl d'eau stérile Milli-Q (**Figure 08**). Ensuite, les suspensions bactériennes ont été portées à ébullition à 100 °C pendant 5 minutes, puis centrifugées pendant 2 minutes à 11 000 tr/min pour précipiter les débris bactériens. Le surnageant a été utilisé comme matrice d'ADN dans la PCR et conservé à -80 °C jusqu'à son utilisation (**García-Meniño et al., 2024**).



Figure 08: Procédure d'extraction d'ADN.

IV.7.4.2- Réaction du PCR

a) Préparation de la Réaction PCR

Les réactions PCR ont été préparées dans un volume final de 25 μ l, comprenant :

- 12,5 μ l de NZYTaQ 2x Green MasterMix.
- 0,2-0,5 μ M d'amorces spécifiques selon le gène recherché (tableaux supplémentaire).
- Eau Milli-Q stérile pour compléter le volume final (20 μ l).
- 5 μ l de matrice d'ADN.

b) Conditions de la PCR :

L'amplification des produits se fait à l'aide de Thermocycleur 2720 Applied Biosystem (**Figure09**), selon les conditions suivantes :

- Dénaturation initiale à 94 °C pendant 3 minutes
- 35 cycles de:
 - Dénaturation à 94 °C pendant 1 minute
 - Température d'hybridation spécifique aux amorces pendant 1 minute

- Extension à 72 °C pendant 90 secondes
- Extension finale à 72 °C pendant 3 minutes

Des contrôles négatif et positif sont ajoutés.



Figure 09 : Thermocycleur 2720 Applied Biosystem.

c) Séparation et Visualisation des Produits PCR

- **Préparation de gel** : le gel est préparé en mélangeant 1,5 g (1.5%) (agarose Seakem LE, Lonza) d'agarose dans 100 mL de tampon Tris-Borate-EDTA (TBE) 0,5X, puis le mélange est fondu au micro-ondes pendant 2 à 3 minutes. Après solubilisation, 3 µL du Green Safe Premium (Nzytech) est ajouté (**Figure10**). Le gel est versé dans un support d'électrophorèse et est couvert par un papier d'aluminium pour éviter la dégradation du colorant Green Safe, sensible à la lumière, et laissé polymériser à température ambiante pendant 30 minutes.



Figure 10: préparation du gel d'agarose.

- **Séparation des produits PCR :** Après l'amplification, les produits PCR sont soumis à une migration à 120 volts pendant 35 minutes dans un gel d'agarose (1,5%). Le gel polymérisé et son support sont immergés dans la cuve de migration contenant du tampon TBE 0,5X. Tous les produits de PCR sont déposés dans les puits en quantité de 10 μ l (**Figure 11**).

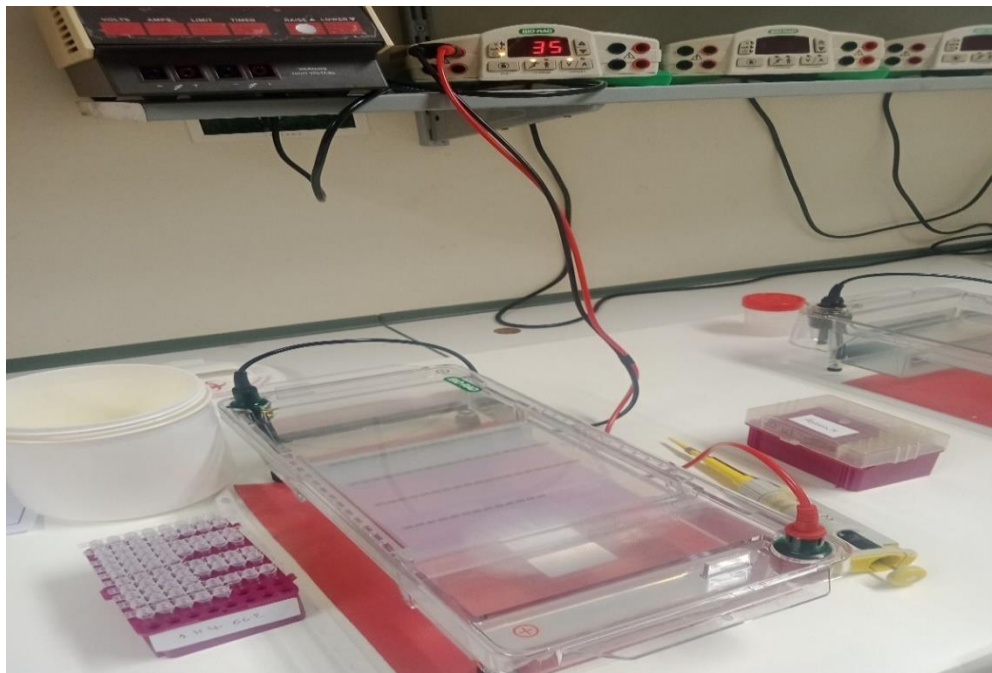


Figure 11 : Electrophorèse d'agarose

- **Visualisation des produits :** Après la migration, les produits de PCR amplifiés sont visualisés à l'aide de Gel Doc XR (BioRad, CA) (**Figure12**).

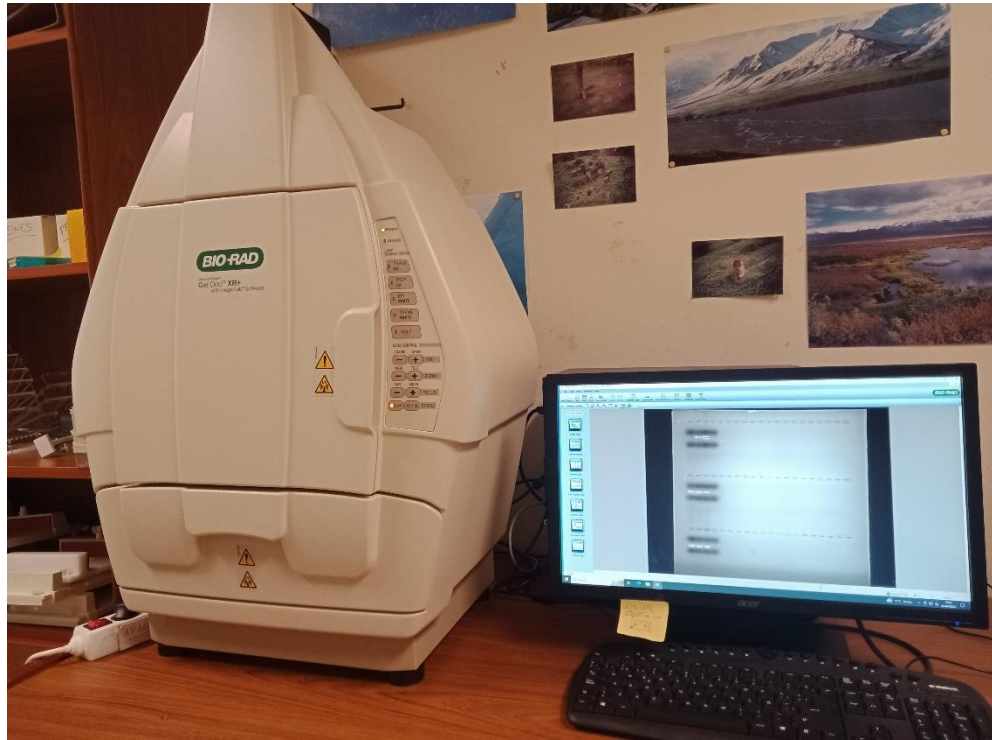


Figure 12 : Gel Doc XE.

IV.7.4.3- Confirmation l'identification des souches

Afin de confirmer l'identification des 72 bactéries sélectionnés, nous avons réalisé une PCR en ciblant deux gènes spécifiques : le gène *uidA*, qui est un marqueur moléculaire spécifique à *E. coli* (Bej et al., 1991) et le gène *kp50233* utilisé pour l'identification de *K. pneumoniae* (Bialek-Davenet et al., 2014). Les amorces utilisées pour l'amplification de ces gènes sont présentées dans (Tableau 17).

Tableau 17 : Cibles et amorces utilisées pour l'identification de *E. coli* et *K. pneumoniae*

Cible	Amorces	Séquence nucléotidique (5'-3')	Taille (bp)	T° d'hybridation (°C)	Référence
<i>UidA</i>	UidAF	GCGTCTGTTGACTGGCAGGTGGTGG	503	60	(Gómez-Duarte et al., 2010)
	UidAR	GTTGCCCGCTTCGAAACCAATGCCT			
<i>kp50233</i>	50233F	GCTCTGGGAGATAGACCGCA	484	67	(Bialek-Davenet et al., 2014)
	50233R	GCGATSGCAGACCAGATGAAT			

En raison de résultats discordants ou non concluants avec ces méthodes phénotypiques, une confirmation a été effectuée par spectrométrie de masse MALDI-TOF/MS (Bruker Daltonics, Allemagne). Cette technique repose sur l'ionisation de la matrice assistée par laser (MALDI) et permet l'analyse rapide du profil protéique des souches bactériennes, fournissant une identification précise basée sur la masse des ions produits, ce qui permet de surmonter les limitations des tests conventionnels (Nabti Zakaria, 2020).

IV.7.4.4- Détection des gènes de résistance aux antibiotiques

Une PCR a été réalisée pour toutes les souches afin de détecter les gènes codant pour les BLSE (*blaTEM*, *blaSHV*, et *blaCTX-M*), *blaCMY*, ainsi que les gènes des carbapénémases (*blaVIM*, *blaIMP*, *blaOXA48*, *blaKPC*, *blaNDM*) et les gènes *mcr1-5*. Il est à noter que tous les produits PCR favorables obtenus ont été séquencés pour une caractérisation approfondie. Les amorces utilisées pour l'amplification de ces gènes sont présentées dans la (Tableau 18) et (Tableau 19).

Tableau 18 : Cibles et amorces utilisées pour les gènes de résistance 'BLSE'.

Cible	Amorces	Séquence nucléotidique (5'-3')	Taille (bp)	T° d'hybridation (°C)	Référence
<i>blaCTX-M</i>	CTX-C3	ATGTGCAGCACCAGTAAAGTGATG	542	55	(Mora et al., 2013)
	CTX-C4	ACCGCGATATCGTTGGTGGTGCC			
<i>blaCTX-M group1</i>	M13U	GGTAAAAAATCACTGCGTC	863	60	(Saladin et al., 2002)
	M13L	TTGGTGACGATTTTAGCCGC			
<i>blaCTX-M group1</i>	^a CTX-15-F1	GAAGCTAATAAAAAACACACGTGG	1044-1123	52	(Mora et al., 2013)
	^a CTX-15-R	GTATGCGCAAGCGCAGGTGG			
<i>blaCTX-M group9</i>	CTX-M9-F	GTGACAAAGAGAGTGCAACGG	856	64	(Simarro et al., 2000)
	CTX-M9-R	ATGATTCTCGCCGCTGAAGCC			
<i>blaCTX-M group9</i>	^a CTX-M9-14-14B-24F	GAATACTGATGTAACACGGA	998	44	(García-Meniño et al., 2018)
	^a CTX-M9-R	AGCTGAAGATGTATATCAAG			
<i>blaCTX-M group9</i>	^a CTX-M9-14-14B-24F	GAATACTGATGTAACACGGA	989	52	(García-Meniño et al., 2018)
	^a CTX-M14-24-R	CTGCGTTGTCGGGAAGATACG			
<i>blaCTX-M group9</i>	^a CTX-M9-14B-F	CCTATACCCGAGGCGCGACAG	1059	44	(García-Meniño et al., 2018)
	^a CTX-M9-R	AGCTGAAGATGTATATCAAG			
<i>blaCTX-M group9</i>	^a CTX-M14-24-F	CTAAATTCTTCGTGAAATAGTG	1049	44	(García-Meniño et al., 2018)
	^a CTX-M14-24-R	CTGCGTTGTCGGGAAGATACG			
<i>blaSHV</i>	SHV-F2	TTGTCGCTTCTTTACTCGCC	879	64	(Mora et al., 2013)
	SHV-R2	CCCGGCGATTTGCTGATTTTCGC			
<i>LAT-1 to LAT-4,</i>	CITMF	TGGCCAGAACTGACAGGCAAA	462	66	(Pérez-Pérez & Hanson, 2002)
	CITMR	TTTCTCCTGAACGTGGCTGGC			

Cible	Amorces	Séquence nucléotidique (5'-3')	Taille (bp)	T° d'hybridation (°C)	Référence
<i>CMY-2 to CMY-7, BIL-1</i>					
<i>mcr-1</i>	mcr1_320bp_fw	AGTCCGTTTGTCTTGTGGC	320	58	(Rebelo et al., 2018)
	mcr1_320bp_rev	AGATCCTTGGTCTCGGCTTG			
<i>mcr-2</i>	mcr2_700bp_fw	CAAGTGTGTTGGTCGCAGTT	715	58	(Rebelo et al., 2018)
	mcr2_700bp_rev	TCTAGCCCGACAAGCATACC			
<i>mcr-3</i>	mcr3_900bp_fw	AAATAAAAATTGTTCCGCTTATG	929	58	(Rebelo et al., 2018)
	mcr3_900bp_rev	AATGGAGATCCCCGTTTTT			
<i>mcr-4</i>	mcr4_1100bp_fw	TCACTTTCATCACTGCGTTG	1116	58	(Rebelo et al., 2018)
	mcr4_1100bp_rev	TTGGTCCATGACTACCAATG			
<i>mcr-5</i>	MCR5_FW	ATGCGGTTGTCTGCATTTATC	1644	50	(Borowiak et al., 2017)
	MCR5_RV	TCATTGTGGTTGTCCTTTTCTG			

Tableau 19 : Cibles et amorces utilisées pour les gènes de résistances ‘Carbapénemases’

Cible	Amorces	Séquence nucléotidique (5'-3')	Taille (bp)	T° d'hybridation (°C)	Référence
<i>BlaKPC</i>	KPC-Fm	CGTCTAGTTCTGCTGTCTTG	798/	62	(Poirel et al., 2011)
	KPC-Rm	CTTGTCATCCTTGTTAGGCG	232		
<i>BlaNDM</i>	NDM-F	GGTTTGGCGATCTGGTTTTC	699		
	NDM-R	CGGAATGGCTCATCACGATC			
<i>blaOXA-48</i>	OXA-F	GCGTGGTTAAGGATGAACAC	438		
	OXA-R	CATCAAGTTCAACCCAACCG			
<i>BlaIMP</i>	VIM-F	GATGGTGTTTGGTCGCATA	390	58	
	VIM-R	CGAATGCGCAGCACCAG			
<i>BlaVIM</i>	IMP-F	GGAATAGAGTGGCTTAAYTCTC	232		
	IMP-R	GGTTTAAAYAAAACAACCACC			

Les souches identifiées comme productrices de BLSE par le système VITEK2, mais négatives lors du screening PCR des gènes de résistance, ont été sélectionnées pour une analyse approfondie par la technique MDR FLOW CHIP. Cette dernière est une méthode moléculaire basée sur une PCR multiplex couplée à une hybridation sur puce à ADN, permettant la détection simultanée de plusieurs gènes de résistance aux antibiotiques ciblés (Rodríguez-Villodres et al., 2023).

IV.7.4.5- Caractérisation moléculaire de *E. coli* : Traits de virulence, Groupement phylogénétique, Clonotypage et Virotypage

IV.7.4.5.1- Traits de virulence

La caractérisation moléculaire de *E. coli* implique plusieurs aspects, notamment l'analyse des traits de virulence, le groupement phylogénétique et le clonotypage. Un extrait d'ADN a été obtenu par la méthode de l'ébullition (García-Meniño et al., 2024).

Après une PCR positive pour *uidA*, une PCR pour *rfbO25* a été réalisée afin de déterminer le complexe pandémique clonal *CC131* (Clermont et al., 2009), en combinaison avec le résultat de la PCR de dépistage pour *fliCH4*. De plus, la présence du gène flagellaire *fliCH5*, couramment trouvé dans les isolats NLF de *E. coli* ST1193, a également été testée pour les isolats négatifs au lactose. Les amorces utilisées pour l'amplification de ces gènes sont présentées dans le (Tableau 20).

Tableau 20 : Cibles et amorces utilisées pour *rfbO25b*, *fliCH4*, *fliCH5*.

Cible	Amorces	Séquence nucléotidique (5'-3')	Taille (bp)	T° d'hybridation (°C)	Référence
<i>rfbO25b</i>	rfbO25b.r	TGCTATTCATTATGCGCAGC	300	56	(Clermont et al., 2008)
	rfb.1bis	ATACCGACGACGCCGATCTG			
<i>fliCH4</i>	H4-F	GCAGCGTATTCGTGAAGTGA	713	66	(Mora et al., 2011)
	H4-R	GCTGGATAATCTGCGCTTTC			
<i>fliCH5</i>	H5-F2	GGATGAAATTGATCGCGTTT	477	48-52	(García-Meniño et al., 2024)
	H5-R	GTAGCCGCGAGTCGTTAGTCC			

IV.7.4.5.2- Pathotypage d'*E. coli* : ExPEC/ UPEC

Pour déterminer le statut d'ExPEC ou UPEC d'une souche de *E. coli*, une analyse PCR des marqueurs génétiques associés à la virulence a été réalisée. Pour qu'une souche soit considérée comme ExPEC positive (J. R. Johnson et al., 2015). Elle doit posséder au moins deux des marqueurs génétiques associés à la virulence, tels que *papAH* et/ou *papC*, *sfa/focDE*, *afa/draBC*, *kpsM II*, et *iutA*. Ces marqueurs sont souvent associés à la capacité de *E. coli* à causer des infections dans des sites extra-intestinaux, comme les voies urinaires. Les amorces utilisées pour l'amplification de ces gènes sont présentées dans le (Tableau 21).

Tableau 21 : Cibles et amorces utilisées pour les gènes du statut d'ExPEC.

Target	Primers	Nucleotide sequence (5′- 3′)	Size (bp)	Annealing T ^a (°C)	Reference
<i>PapAH</i>	<i>papAH</i> -f	ATGGCAGTGGTGTCTTTTGGTG	720	68	(J. R. Johnson & Stell, 2000a)
	<i>PapAH</i> -r	CGTCCCACCATACGTGCTCTTC			
<i>sja/jocDE</i>	sfa 1	CTCCGGAGAACTGGGTGCATCTTAC	410	64	(Le Bouguenec et al., 1992)
	sfa 2	CGGAGGAGTAATTACAAACCTGGCA			
<i>aIa/draBC</i>	afa1	GCTGGGCAGCAAACCTGATAACTCTC	750	54	
	afa2	CATCAAGCTGTTTGTTCGTCCGCCG			
<i>IutA</i>	aer-851F	GGCTGGACATCATGGGAACTGG	301	60	(J. R. Johnson et al., 1997)
	aer-1152R	CGTCGGGAACGGGTAGAAATCG			
<i>KpSMII</i>	KpsII f	GCGCATTTGCTGATACTGTTG	272	60	(Johnson and Stell, 2000b)
	KpsII r	CATCCAGACGATAAGCATGAGCA			

Inversement, pour qu'une souche soit considérée comme UPEC positive (Spurbeck et al., 2012a), elle doit posséder au moins trois des quatre gènes de virulence spécifiques, à savoir *chuA*, *fyuA*, *vat*, et *yfcV*, également associés à la virulence de *E. coli* dans les infections urinaires. Les amorces utilisées pour l'amplification de ces gènes sont présentées dans le (Tableau 22).

Tableau 22 : Cibles et amorces utilisées pour les gènes du statut d'UPEC.

Cible	Amorces	Séquence nucléotidique (5'-3')	Taille (bp)	T° d'hybridation (°C)	Référence
<i>Vat</i>	vat-F	TCAGGACACGTTTCAGGCATTTCAGT	1100	70	(Spurbeck et al., 2012b)
	vat-R	GGCCAGAACATTTGCTCCCTTGTT			
<i>chuA</i>	ChuA-F	CTGAAACCATGACCGTTACG	652	63	
	ChuA-R	TTGTAGTAACGCACTAAACC			
<i>fyuA</i>	fyuA-F	GTAAACAATCTTCCCGCTCGGCAT	850	63	
	fyuA-R	TGACGATTAACGAACCGGAAGGGA			
<i>yfcV</i>	yfcV-F	ACATGGAGACCACGTTTCACC	292	63	
	YfcV-R	GTAATCTGGAATGTGGTCAGG			

IV.7.4.5.3- Groupement phylogénétique et clonotypage

a) Phylougroupe d'*E. coli*

La relation phylogénétique a été évaluée à l'aide de la méthode de typage *Clermont* pour *E. coli* (Clermont et al., 2013a), qui classe les isolats en neuf groupes phylogénétiques (A, B1,

B2, C, D, E, F, G, ou clade I) (Clermont, Dixit, Vangchhia, Condamine, Dion, Bridier-Nahmias, et al., 2019). Les amorces utilisées pour l'amplification de ces gènes sont présentées dans le (Tableau 23).

Tableau 23 : Cibles et amorces utilisées pour les gènes de phylougroupe d'*E. coli*.

Cible	Amorces	Séquence nucléotidique (5'-3')	Taille (bp)	T° d'hybridation (°C)	Référence
<i>chuA</i>	chuA.1b	ATGGTACCGGACGAACCAAC	288	58	(Clermont et al., 2013b)
	chuA.2	TGCCGCCAGTACCAAAGACA			(Clermont et al., 2000)
<i>yjaA</i>	yjaA.1b	CAAACGTGAAGTGTGTCAGGAG	211		(Clermont et al., 2013b)
	yjaA.2b	AATGCGTTCCTCAACCTGTG			
<i>TspE4C2</i>	TspE4C2.1b	CACTATTCGTAAGGTCATCC	152		(Clermont et al., 2013b)
	TspE4C2.2b	AGTTTATCGCTGCGGGTCGC			
<i>arpA</i>	AceK.f	AACGCTATTCGCCAGCTTGC	400		(Clermont et al., 2013b)
	ArpA1.r	TCTCCCCATACCGTACGCTA			
<i>trpAgpC</i> (C)	trpAgpC.1	AGTTTTATGCCCAGTGCGAG	219	56	(Lescat et al., 2013)
	trpAgpC.2	TCTGCGCCGGTCACGCCC			
<i>arpA</i> (E)	ArpAgpE.f	GATTCCATCTTGTCAAAATATGCC	301	57	(Lescat et al., 2013)
	ArpAgpE.r	GAAAAGAAAAAGAATTCCCAAGAG			
<i>TrpA</i>	trpBA.f	CGGCGATAAAGACATCTTCAC	489	56	(Clermont et al., 2008)
	trpBA.r	GCAACGCGGCCTGGCGGAAG			
<i>ybgD</i> (G)	<i>ybgD.1</i>	TATGCGGCTGATGAAGGATC	177	59	(Clermont et al., 2019)
	<i>ybgD.2</i>	GTTGACTAAGCGCAGGTCGA			
<i>cfaB</i> (F)	<i>cfaB.1</i>	CTAACGTTGATGCTGCTCTG	384		(Clermont et al., 2019)
	<i>cfaB.2</i>	TGCTAACTACGCCACGGTAG			

b) Clonotypage

La diversité génétique des isolats producteurs de BLSE a été révélée par un clonotypage (CH) supplémentaire. La section interne de 469 nucléotides (nt) du gène *fumC* (allèle dérivé du MLST) et le fragment interne de 489 nt du gène *fimH* (codant pour l'adhésion fimbriale de type) ont été utilisés pour identifier plusieurs clonotypes (Weissman et al., 2012a). Les amorces utilisées pour l'amplification de ces gènes sont présentées dans le (Tableau 24).

Tableau 24 : Cibles et amorces utilisées pour les gènes de clonotypage.

Cible	Amorces	Séquence nucléotidique (5'-3')	Taille (bp)	T° d'hybridation (°C)	Référence
<i>fimH</i>	fimH-F	CACTCAGGGAACCATTCAGGCA	489	54	(Weissman et al., 2012c)
	fimH-R	CTTATTGATAAAACAAAAGTCAC			
<i>fumC</i>	FumCF	TCACAGGTCGCCAGCGCTTC	469	58	(Wirth et al., 2006)
	FumCR	GTACGCAGCGAAAAAGATTC			
	recAF1	ACCTTTGTAGCTGTACCACG			

L'attribution des allèles pour *fimH* a été réalisée à l'aide de la base de données **FimTyper**, disponible sur le site du **Center for Genomic Epidemiology (CGE)** ([lien](#)). Par ailleurs, la méthode de typage basée sur deux loci (*fumC/fimH*) a permis de déterminer le type CH.

IV.7.4.5.4- Virotypage

En se basant sur les traits de virulence, les groupes phylogénétiques et le clonotypage, dix-sept isolats ont été identifiés comme *E. coli* CC131. Ces isolats ont été classés selon la méthode de virotypage développée par (Dahbi et al., 2014). Le schéma de virotypage repose sur la PCR de dépistage de neuf gènes associés à la virulence extra-intestinale (*afa draBC*, *afaFM95545*, *iroN*, *sat*, *ibeA*, *papGII*, *papGIII*, *cnfI*, *hlyA*, *CDTb*, *neuC-K1*, *KpsM II-K2*, *KpsM II-K5*). La présence ou l'absence de ces gènes permet d'identifier le type de virotype de CC131, associé à l'un des douze virotypes (A, B, C1, C2, C3, D1, D2, D3, D4, D5, E, et F) (Dahbi et al., 2014) et le tableau présente le schéma de désignation des virotypes pour *E. coli* CC131 (Tableau 25).

Tableau 25 : Schéma de désignation des virotypes pour *E. coli* CC131 (Dahbi et al., 2014).

VIROTYPES	<i>afa/draBC</i>	<i>afa operon FM955459</i>	<i>IroN</i>	<i>Sat</i>	<i>IbeA</i>	<i>papG II</i>	<i>papG III</i>	<i>cnfI</i>	<i>HlyA</i>	<i>CdtB</i>	<i>neuCK1</i>	<i>kpsM II-K2</i>	<i>kpsM II-K5</i>
Virotype A	+	+	-	+/-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Virotype B	-	-	+	+/-	-	+/-	-	-	-	-	-	-	+/-
Virotype C1	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Virotype C2	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Virotype C3	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Virotype D1	-	-	+/-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+
Virotype D2	-	-	+/-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	+

Partie Expérimentale
Chapitre IV : Matériel et Méthodes

Virotype D3	+/-	+/-	+/-	+/-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
Virotype D4	-	-	+/-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
Virotype D5	-	-	+/-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+
Virotype E	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+
Virotype F	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+

Les amorces utilisées pour l'amplification de ces gènes sont présentées dans le (**Tableau 26**).

Tableau 26 : Cibles et amorces utilisées pour les gènes de déterminer les virotypes d'*E. coli* ST131.

Partie Expérimentale
Chapitre IV : Materiel et Methodes

Cible	Amorces	Séquence nucléotidique (5'-3')	Taille (bp)	T° d'hybridation (°C)	Référence
<i>afa/draBC</i>	afa1	GCTGGGCAGCAAAGTATACTCTC	750	64	(Le Bouguenec et al., 1992)
	afa2	CATCAAGCTGTTTGTTCGTCCGCCG			
<i>afaFM955459</i>	Afa-025F	GAGTCACGGCAGTCGCGGCGG	207	55	(Blanco et al., 2009)
	Afa-025R	TTCACCGGCGACCAGCCATCTCC			
<i>IroN</i>	Ironec-f	AAGTCAAAGCAGGGGTTGCCCCG	665	62	(J. R. Johnson et al., 2000)
	Ironec-r	GACGCCGACATTAAGACGCAG			
<i>Sat</i>	SatF	GCAGCTACCGCAATAGGAGGT	937	60	(J. R. Johnson et al., 2003)
	SatR	CATTCAGAGTACCGGGGCCTA			
<i>IbeA</i>	Ibe10 f	AGGCAGGTGTGCGCCGCGTAC	170	58	(J. R. Johnson & Stell, 2000b)
	Ibe10 r	TGGTGCTCCGGCAAACCATGC			
<i>PapGII</i>	Pap-II f	GGGCATTGCTACGGTAACCTG	545	54-60	(Mora et al., 2013)
	Pap-II r	CGCTATTAATAGACAGATCACC			
<i>PapGIII</i>	Pap-III f	CGGCAACTTTAAGCTATGTG	720	60-68	(Mora et al., 2013)
	Pap-III r	TGTACCATCTCATCGTTGTCTC			
<i>cnfI</i>	CNF1-F2	CAGGAGGTACTTAGCAGCGT	468	48-58	(Mora et al., 2013)
	CNF1-RC	TAATTTTGGGTTTGTATC			
<i>HlyA</i>	hly f	AACAAGGATAAGCACTGTTCTGGCT	1177	64	(Yamamoto et al., 1995)
	hly r	ACCATATAAGCGGTCATTCCCGTCA			
<i>CdtB</i>	cdt-s1	GAAAGTAAATGGAATATAAATGTCCG	466	48-52	(Tóth et al., 2003)
	cdt-as1	AAATCTCCTGCAATCATCCAGTTA			
	cdt-s2	GAAAATAAATGGAACACACATGTCCG			
	cdt-as2	AAATCACCAAGAATCATCCAGTTA			
<i>neuC-K1</i>	neu1	AGGTGAAAAGCCTGGTAGTGTG	676	54	(Moulin-Schouleur et al., 2006)
	neu2	GGTGGTACATCCCGGGATGTC			
<i>Kps-M II-K2</i>	kpsII f	GCGCATTTGCTGATACTGTTG	570	60	(J. R. Johnson & O'Bryan, 2004)
	KpsII-K2r	AGGTAGTTCAGACTCACACCT			
<i>Kps-M II-K5</i>	K5 f	CAGTATCAGCAATCGTTCTGTA	159	54	(J. R. Johnson & Stell, 2000b)
	kpsII r	CATCCAGACGATAAGCATGAGCA			

IV.7.4.6- Caractérisation moléculaire de *K. pneumoniae* hypervirulente : Gènes associés à la virulence

IV.7.4.6.1- Détection de l'hypermucoïdité

Pour déterminer l'hypermucoïdité, le test du string, réalisé sur divers milieux de culture tels que le gélose Mueller Hinton (MH) (Oxoid), le gélose MacConkey (ML) (Oxoid), le gélose trypticase soja (TSA) (Oxoid) et le gélose au sang, est fréquemment utilisé dans des études récentes (Kumabe & Kenzaka, 2014; L. Li et al., 2023; Schmidt et al., 2024). Ce test a été effectué pour tous les isolats, avec une incubation à $36 \pm 1^\circ\text{C}$ pendant 24 heures (Neumann et al., 2023). La positivité est confirmée lorsqu'un string mucoïde de ≥ 5 mm se forme lorsque l'on touche la croissance bactérienne avec une Loop d'inoculation standard, comme décrit par (Fang et al., 2004).

I.7.4.6.2- Détection des gènes de virulence de *K. pneumoniae* hypervirulent

Une PCR a été réalisée pour détecter les facteurs de virulence spécifiques associés aux souches hypervirulentes *K. pneumoniae* (hvKp), tels que le sidérophore aérobactine (*iucA*), *iroB*, *terB*, *peg-344*, *peg-589*, *peg-1631*, et les régulateurs du phénotype mucoïde A et A2 (*rmpA* et *rmpA2*) (Russo et al., 2018). Ces gènes sont des marqueurs importants pour distinguer les souches hypervirulentes, capables de provoquer des infections graves et souvent résistantes aux traitements, notamment dans le cadre des infections urinaires. Les amorces utilisées pour l'amplification de ces gènes sont présentées dans le (Tableau 27).

Tableau 27 : Cibles et amorces utilisées pour les gènes de hypervirulentes *K. pneumoniae*.

Cible	Amorces	Séquence nucléotidique (5'-3')	Taille (bp)	T° d'hybridation (°C)	Référence
<i>lucA</i>	F1 R1	AATCAATGGCTATTCCCGCTG CGCTTCACTTCTTTCACTGACAGG	239	48	(Russo et al., 2018)
	F2 R2	GCTTATTTCTCCCCAACCC TCAGCCCTTTAGCGACAAG	583		
<i>IroB</i>	F1 R1	ATCTCATCATCTACCCTCCGCTC GGTTCGCCGTCGTTTTCAA	235	50	
	F2 R2	CAAAAAAGCAGCAGAGGC TCACTGGCGGAATCCAACAC	585		
<i>TerB</i>	F1 R1 R2	TATCGCTGTTGCCAGTGAC CGGACAGCACTCTTCTCATC AATACCGACACGAAGAGCC	288 235	52	
	<i>peg-344</i>	F1 R1	CTTGAAACTATCCCTCCAGTC CCAGCGAAAGAATAACCCC		
F2 R2		AAAGGACAGAAAGCCAGTG CAATGACGAGGGGGATAATC	411		
<i>peg-589</i>	F1 R2	TGAACCCCTGAAGGTCTATC GTGATGAATAAACTACTGCGGC	236	56	
	F2 R2	GGACCAGAAAACACAGGA AGCGGCGATTTCTTCTC	124		
<i>peg-1631</i>	F1 R1	GGGATTTATCAACCGCTTTG TCTCCAGCATCATCGTCA	503	58	
	F2 R2	TTGTGGCAGAAGACCCG TCTCCAGCATCATCGTCAG			
<i>PrmpA</i>	F	GAGTAGTTAATAAATCAATAGCAAT	332	60	
	R	CAGTAGGCATTGCAGCA	486		
<i>prmpA2</i>	F	GTGCAATAAGGATGTTACATTA	430	62	
	R	GGATGCCCTCCTCCTG			

*La température d'hybridation (°C) a été vérifiée et déterminée dans cette étude.

Pour la vérification de la température d'hybridation, un thermocycleur 96 puits de type Veriti a été utilisé (Applied Biosystems) (**Figure 13**).



Figure 13 : Thermocycleur 96 puits

IV.7.4.7- Test de sensibilité aux antimicrobiens (AST) des souches sélectionnées

Les isolats producteurs aux BLSE sélectionnés ont été soumis à un test de sensibilité aux antimicrobiens (AST) en utilisant la méthode de diffusion sur disque sur des plaques de gélose Mueller-Hinton (**Figure 14**). Les commette EUCAST [v 14.0 Breakpoint Tables.pdf \(eucastrg.org\)](#) et CLSI 2024 (<https://clsi.org/ast-2024/>) ont été utilisés pour interpréter la sensibilité. Parmi les agents antimicrobiens testés, on retrouve des pénicillines (Ampicilline et Ticarcilline), des pénicillines associées à des inhibiteurs de bêta-lactamase (Amoxicilline-Acide Clavulanique), des céphalosporines de deuxième, troisième et quatrième générations (Céfuroxime, Céfoxitine, Céfotaxime, Ceftazidime), des carbapénèmes (Ertapénem), des monobactames (Aztréonam), des fluoroquinolones (Acide Nalidixique, Ciprofloxacine), des aminoglycosides (Amikacine, Gentamicine, Tobramycine), des tétracyclines (Doxycycline), des glycylicyclines (Tigécycline), des acides phosphoniques (Fosfomycine), des nitrofurans (Nitrofurantoïne), des inhibiteurs de la voie des folates (Triméthoprim-Sulfaméthoxazole), ainsi que de la colistine et du chloramphénicol.



Figure 14 : Test de sensibilité aux antimicrobiens

IV.7.4.8- Purification les produits PCR pour séquençage

Le séquençage a été réalisé pour les gènes de résistance aux β -lactamines (*bla_{CTX}* et *bla_{CMY}*) chez les souches d'*E. coli* et *K. pneumoniae*, ainsi que pour les gènes *fimH* et *fimC* chez *E. coli*. Pour ce faire, nous avons suivi le protocole suivant :

a) Extraction d'ADN

Pour extraire l'ADN, nous utilisons la méthode de la cuisson en suivant les instructions suivantes : une loupe complète de colonies pures a été cultivée toute la nuit sur TSA, puis suspendue dans 500 μ l d'eau stérile filtrée (BioReagent, Sigma). La suspension a été centrifugée à 10 000tr/min pendant 2 minutes. Le surnageant a été récupéré, ré-centrifugé, et conservé à -20 °C (**Figure15**).



Figure 15 : Extraction d'ADN

b) Préparation de mélange réactionnel de PCR

Pour le mélange réactionnel de PCR avec un volume final de 50 μ l, nous utilisons 10 μ l de MyTaq Reaction Buffer 5X (Meridian Bioscience), 0,2 μ l de MyTaq polymérase DNA à 5u/ μ l, (Meridian Bioscience), 0,5-1 μ l d'amorces spécifiques selon le gène recherché, et complétons avec de l'eau stérile filtrée (BioReagent, Sigma) jusqu'à atteindre 49 μ l. Ensuite, une quantité de 1 μ l d'ADN est ajoutée, pour un volume final de réaction de PCR de 50 μ l.

c) Amplification PCR de séquençage

La PCR de séquençage repose sur une amplification spécifique d'une région d'ADN cible à l'aide d'amorces spécifiques et d'une enzyme polymérase d'ADN, réalisée dans un Thermocycleur 2720 Applied Biosystem. Le programme de PCR consiste en une étape de Hot PCR de 3 minutes à 94 °C pour activer l'enzyme, suivie de 35 cycles et le même principe de screening PCR. L'objectif est de produire une grande quantité de copies de la région cible pour une analyse ultérieure par séquençage.

d) Détection les séquence cible

Après l'amplification PCR, nous ajoutons 3 μ L de bleu de bromophénol (*Bromophenol Blue*, BPB), un colorant spécifique à la visualisation de l'ADN, dans une microplaque. Ensuite,

nous prenons 7 µL de PCR amplifiée et **Le reste du produit de PCR est conservé à -20°C en vue d'un envoi ultérieur pour le séquençage.** mélangeons bien, puis déposons le mélange dans un puits du gel d'agarose, préalablement imbibé de tampon d'électrophorèse TBE 0,5X. Après une migration à 120 V pendant 45 minutes, les bandes peuvent être visualisées à l'aide du système Bio-Rad.

Le reste du produit de PCR obtenu peut ensuite être purifié et préparé pour le séquençage de Sanger au département de génétique de la Faculté des Sciences Vétérinaires de l'Université de Saint-Jacques-de-Compostelle, à Lugo, en Espagne.

IV.7.4.9- Séquençage par l'utilisation de Sanger

Les résultats sont envoyés sous forme d'un fichier ZIP après un délai de 10 à 15 jours

IV.7.4.10- Analyse bio-informatique

IV.7.4.10.1- Lecture des séquences

La lecture des séquences est effectuée à l'aide du logiciel BioEdit (*Sequence Alignment Editor*) sous forme FASTA. Ensuite, nous copions la séquence et sa complémentaire dans un document Word. Nous recherchons ensuite les amorces dans les deux séquences sous forme FASTA (forward et reverse). Une fois identifiées, nous éliminons les extra-séquences. La séquence complémentaire est ensuite copiée et convertie en son complément inverse à l'aide du site [Reverse Complement](#). Enfin, nous alignons les clusters de la séquence *forward* et de la séquence complémentaire inversée en utilisant le site [Multiple Sequence Alignment - CLUSTALW](#). Les résultats d'alignement sont ensuite transmis dans un document Word pour sélectionner une séquence FASTA consensus fiable,

IV.7.4.10.2- Analyse *in silico*

Pour *fimH*, un fichier de référence contenant toutes les séquences FASTA de 3363 variantes ([19.04.2024 FimH Database-MEGA.docx](#)) a été téléchargé depuis GitHub ([GitHub Build and ship software on a single, collaborative platform · GitHub](#)). Ce fichier, ainsi que notre séquence FASTA ont ensuite été soumis à BLASTn (The Basic Local Alignment Search Tool Nucleotide) [BLAST: Basic Local Alignment Search Tool](#), permettant un alignement spécifique avec les séquences de référence. Le résultat obtenu était satisfaisant.

Pour *fumC*, l'analyse a été réalisée à l'aide du service de *CHTyper* 1.0 ([CGE Server](#)) disponible sur le Center de Epidemiologie Genomique ([Center for Genomic Epidemiology](#))

Concernant les gènes de résistance, ils ont été analysés à l'aide des outils **ResFinder 4.6.0** et **KmerResistance 2.2**, disponible sur le Center de Epidemiologie Genomique ([Center for Genomic Epidemiology](#)), ainsi que par BLASTn (The Basic Local Alignment Search Tool Nucleotide) ([BLAST: Basic Local Alignment Search Tool](#)).

IV.8- Séquençage du Génome Entier (WGS) et Analyse Bioinformatique

L'isolat d'*E. coli*, classé comme fliCH5-B2 et CH14-64, a été analysé plus en détail par séquençage du génome entier (WGS), comme décrit par (**García et al., 2022**)

IV.8.1-Protocole de séquençage du génome entier (WGS) et d'analyse bioinformatique d'un isolat d'E. coli (fliCH5-B2/CH14-64)

IV.8.1.1-Extraction et quantification de l'ADN

- **Kit utilisé** : DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen, Hilden, Allemagne).
- **Méthode** : Extraction réalisée conformément aux instructions du fabricant.
- **Quantification** : Fluorimètre Qubit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA).
- **Évaluation de la pureté** : Spectrophotomètre NanoDrop ND-1000 (Thermo Fisher Scientific).

IV.8.1.2-Séquençage de l'ADN

- **Technologie** : Illumina NovaSeq 6000 S4PE150 XP.
- **Préparation de la librairie** : Kit Illumina DNA Prep (Illumina Cambridge Ltd.).
- **Fournisseur de service** : Eurofins Genomics GmbH, Konstanz, Allemagne.
- **Type de lectures** : Lectures appariées (paired-end) de 150 pb.
- **Contrôle qualité des lectures** : FastQC v0.12.1.

IV.8.1.3-Assemblage et annotation du génome_(García-Meniño et al., 2019)

- **Assemblage** : Script VelvetOptimiser.pl via PLACNETw (version en ligne).
- **Taille estimée du génome** : ~5,0 Mbp.

IV.8.1.4-Analyses bioinformatiques

- **Outils** : Plateforme du Center for Genomic Epidemiology (CGE), pathogenwatch et ARGI
- **Seuils utilisés** : Identité $\geq 95\%$; couverture $\geq 60\%$.

Analyses effectuées :

Tableau 28: Outils bioinformatiques utilisés pour l'analyse in silico des souches d'*E. coli* et leurs références associées.

Objectif	Outil utilisé	Lien
Recherche de gènes de résistance	ResFinder 4.6	Center for Genomic Epidemiology
	RGI	
Recherche de gènes de virulence	VirulenceFinder 2.0	
Typage plasmidique	PlasmidFinder / pMLST2.1 / 2.0	
Détermination du clonotype	CHTyper 1.0	
Détermination du sérotype	SeroTypeFinder 2.0.1	
Typage MLST classique	MLST 2.0.9	
Typage cgMLST	cgMLSTFinder 1.2	

IV.8.1.5. Analyse phylogénétique

- **Outil utilisé :** CSI Phylogeny 1.4.
- **Référence utilisée :** Génome LREC-269.
- **Comparaison :** Avec 5 isolats ST1193 précédemment décrits (García-Meniño et al., 2022a).

Tableau 29: Matrice de distances SNP entre souches *E. coli* (Ziadi et al., 2025).

Souches	LREC_265	LREC_270	LREC_273	LREC_275	LREC_468	LREC_269 (Référence)
LREC_265	0	114	90	75	82	72
LREC_270	114	0	136	121	128	118
LREC_273	90	136	0	97	96	94
LREC_275	75	121	97	0	83	73
LREC_468	82	128	96	83	0	78
LREC_269(Réf.)	72	118	94	73	78	0

- **Paramètres principaux :**
 - Profondeur minimale de lecture : $\times 10$
 - Distance min. entre SNPs : 10 pb
 - Qualité min. des SNPs : 30
 - Qualité min. des alignements : 25
 - Z-score minimal : 1.96
 - SNPs hétérozygotes ignorés
- **Bootstrap :** 1000 répliquats.
- **Résultat :** Matrice SNP

IV.8.1.6. Recherche complémentaire

- **Base de données** : EnteroBase (consultée le 20 décembre 2024).
- **Critère** : Schéma MLST à 7 gènes (Achtman).
- **But** : Extraire les séquences cgMLST pour comparaison.

Tableau 30: Matrice de distances SNP entre les souches ST1193 d'*E. coli* (Ziadi et al., 2025)

Souches	ESC_RA588 7AA	LREC_ 265	LREC_ 270	LREC_ 273	LREC_ 275	LREC_ 468	LREC_ 269 (Référé nce)
ESC_RA588 7AA	0	68	182	83	75	55	65
LREC_265	68	0	188	95	95	75	73
LREC_270	182	188	0	205	201	191	189
LREC_273	83	95	205	0	102	102	98
LREC_275	75	95	201	102	0	88	84
LREC_468	55	75	191	102	88	0	60
LREC_269(Réf.)	65	73	189	98	84	60	0

Chapitre V

Résultats et discussion

V.1- Distribution des infections urinaires selon les espèces

Au total, 301 isolats uropathogènes non dupliqués d'*Entérobactéries* ont été trouvées comme agents pathogènes responsables de infections urinaires. **La Figure 16** ci-dessous illustre la répartition des espèces bactériennes identifiées dans notre étude, nos résultats révèlent la prédominance de *E. coli* et *K. pneumoniae* parmi les *Entérobactéries* uropathogènes isolées représentant respectivement 53 % et 23 %, suivis par *E. cloacae* (9 %) et *P. mirabilis* (5 %). Les autres espèces bactériennes identifiées représentent la proportion restante des isolats (10%).

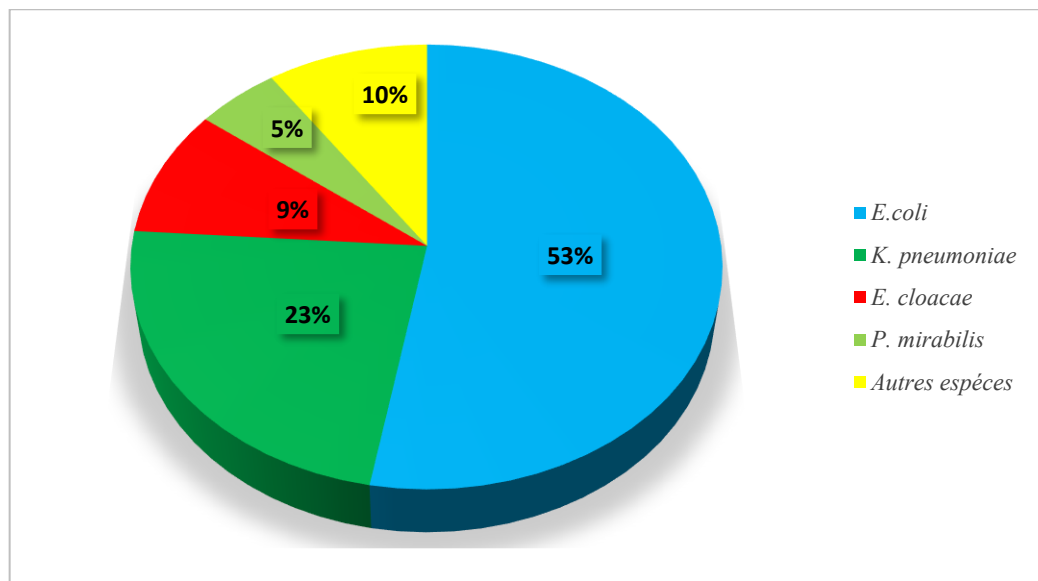


Figure 16 : Distribution des infections urinaires selon les espèces.

La prédominance de *E. coli* et *K. pneumoniae* s'explique par le fait que, selon (**Hyun et al., 2019**), ces deux espèces représentent les principales causes d'IUs. Cela est attribué à leurs facteurs de virulence qui facilitent leur adhésion à l'urothélium, tels que l'adhésine, les pili, les fimbriae et le récepteur du génotype du groupe sanguin P1 (**Zagaglia et al., 2022; Fares et al., 2023**). Le Réseau Algérien de Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques a rapporté aussi une constatation similaire avec une prédominance de *E. coli*, suivie de *K. pneumoniae* dans les milieux hospitaliers et communautaires (**surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques, 2023, s. d.**), ces résultats sont également confirmés par d'autres études en Algérie (**Aouf et al., 2018; Ait-Mimoune et al., 2022**) et ailleurs (**Lahdibi Sahraoui et al., 2021**).

De plus, ces espèces ont été plus fréquemment isolées dans les infections nosocomiales par rapport aux infections communautaires. Cela est en accord avec les résultats de plusieurs études qui identifient *E. coli* et *K. pneumoniae* comme des sources majeures d'infections nosocomiales (R. K. Chan et al., 1993; Mohd Asri et al., 2021). De même, à Tébessa, (Fares et al., 2023) ont signalé aussi que *E. coli* et *K. pneumoniae* étaient les uropathogènes les plus prévalents associés aux infections urinaires d'origine hospitalière au cours de la période 2018-2021. Nos résultats confirment en outre que la prédominance de ces deux espèces a persisté dans la région durant la période 2022-2024.

Par ailleurs, *E. cloacae* a été identifiée comme le troisième agent causal le plus fréquent des IU dans notre étude. Des recherches récentes ont souligné sa prévalence croissante dans les UI (Fares et al., 2023; Elbehiry et al., 2024). Il est à noter que *E. cloacae* et *K. pneumoniae* appartiennent au groupe ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter spp*) (Miller & Arias, 2024), un groupe dont la présence peut compliquer le traitement des infections.

V.2- Sélection des Entérobactéries productrices aux BLSE

V.2.1- Etude la résistance aux antibiotiques chez les Entérobactéries

En termes de résistance aux antibiotiques, divers agents ont été testés pour évaluer leur efficacité contre 301 souches d'Entérobactéries uropathogènes dans la présente étude. (Figure 17) met en évidence des taux de résistance élevés pour les antibiotiques communs ; l'ampicilline 82 %, l'amoxicilline/acide clavulanique 61 %, ainsi que pour l'acide nalidixique, la ciprofloxacine et le triméthoprim-sulfaméthoxazole, qui affichent tous un taux de résistance identique de 63 %. Le taux élevé de résistance à la triméthoprim-sulfaméthoxazole peut s'expliquer par son utilisation en prophylaxie ainsi que par son usage répandu dans le traitement des infections urinaires simples (Hussaini et al., 2024).

De plus, une résistance significative a été observée vis-à-vis des céphalosporines, notamment la céfazoline à 58 %, la cefotaxime à 56 % et la ceftazidime à 41 %. Une résistance modérée a également été relevée pour les aminosides tels que la tobramycine et la gentamicine, comme le confirment (Fares et al., 2023). Cette résistance est principalement attribuée à l'usage inapproprié et excessif des antibiotiques (S. K. Ahmed et al., 2024), ce qui explique les taux élevés de résistance parmi les entérobactéries productrices de BLSE, en particulier aux pénicillines et aux céphalosporines de troisième génération (Tamma et al., 2024).

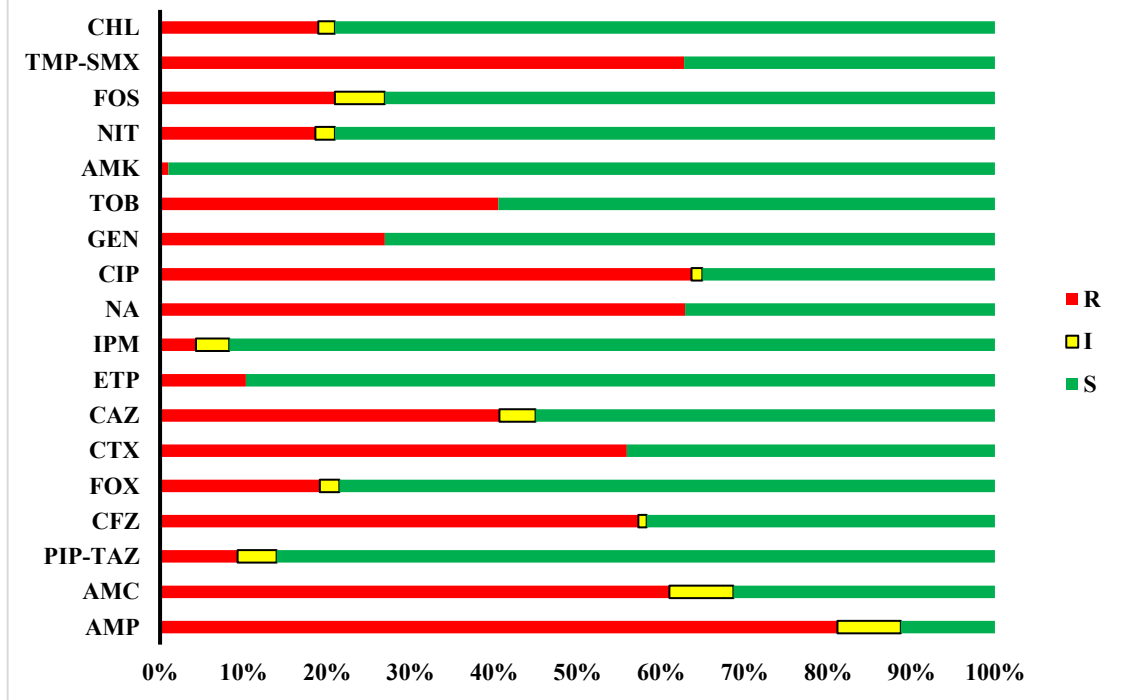


Figure 17 : Profil de résistance aux antimicrobiens des isolats d'Entérobactéries provenant de patients atteints d'infections urinaires (IUs) (n = 301) évalué par le système Vitek 2.

Antibiotiques testés : Ampicilline (AMP), Amoxicilline/acide clavulanique (AMC), Pipéracilline-tazobactam (PIP-TAZ), Céfazoline (CFZ), Cefoxitine (FOX), Cefotaxime (CTX), Ceftazidime (CAZ), Ertapénème (ETP), Imipénème (IPM), Acide nalidixique (NA), Ciprofloxacine (CIP), Gentamicine (GEN), Tobramycine (TOB), Amikacine (AMK), Nitrofurantoïne (NIT), Fosfomycine (FOS), Triméthoprim-sulfaméthoxazole (TMP-SMX), Chloramphénicol (CHL).

À l'inverse, certains antibiotiques ont montré des taux de sensibilité plus élevés. En particulier, l'imipénème 92 %, l'amikacine 99 %, l'ertapénème 89 %, la pipéracilline-tazobactam 86 % et le chloramphénicol 79 % se distinguent par leur efficacité accrue. Notamment, l'imipénème et l'amikacine affichent des taux de résistance extrêmement faibles, respectivement de 4 % et 1 %. comme le confirment (Fares et al., 2023)

V.2.2- Détection des E-BLSE/AmpC associées aux infections urinaires

Dans la présente étude, 54 % (164/301) des isolats ont été identifiés comme des E- BLSE et/ou d'E-AmpC sur la base des résultats du système Vitek 2.

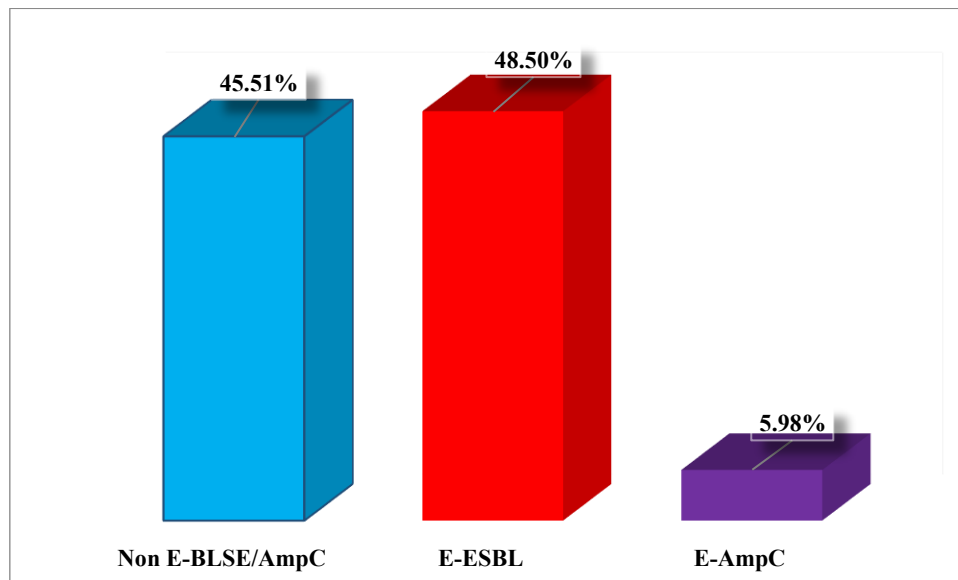


Figure 18 : Distribution des E-BLSE/AmpC associées aux IUs.

La **Figure 18** illustre la distribution des BLSE-E, AmpC-E et des souches non productrices d'BLSE/AmpC associées aux infections urinaires. Plus précisément, 48,50 % des isolats étaient des BLSE-E, tandis que 5.98 % étaient des AmpC-E. Les isolats restants 45.51% correspondaient à des souches non productrices d'ESBL/AmpC-E (**Figure 18**). Cette forte prévalence des BLSE-E dans notre étude est en accord avec d'autres études (**Zenati et al., 2019b; Benyagoub et al., 2021; Fares et al., 2023**). En revanche, (Nabti, Sahli, Radji, et al., 2019) ont rapporté une faible prévalence des phénotypes BLSE/AmpC chez *E. coli* uropathogène. D'autres études en Égypte ont également confirmé la faible prévalence des AmpC-E associées aux infections humaines (**Desta et al., 2016; Mohamed et al., 2020**).

V.3-Detection des MDR chez les Entérobactéries

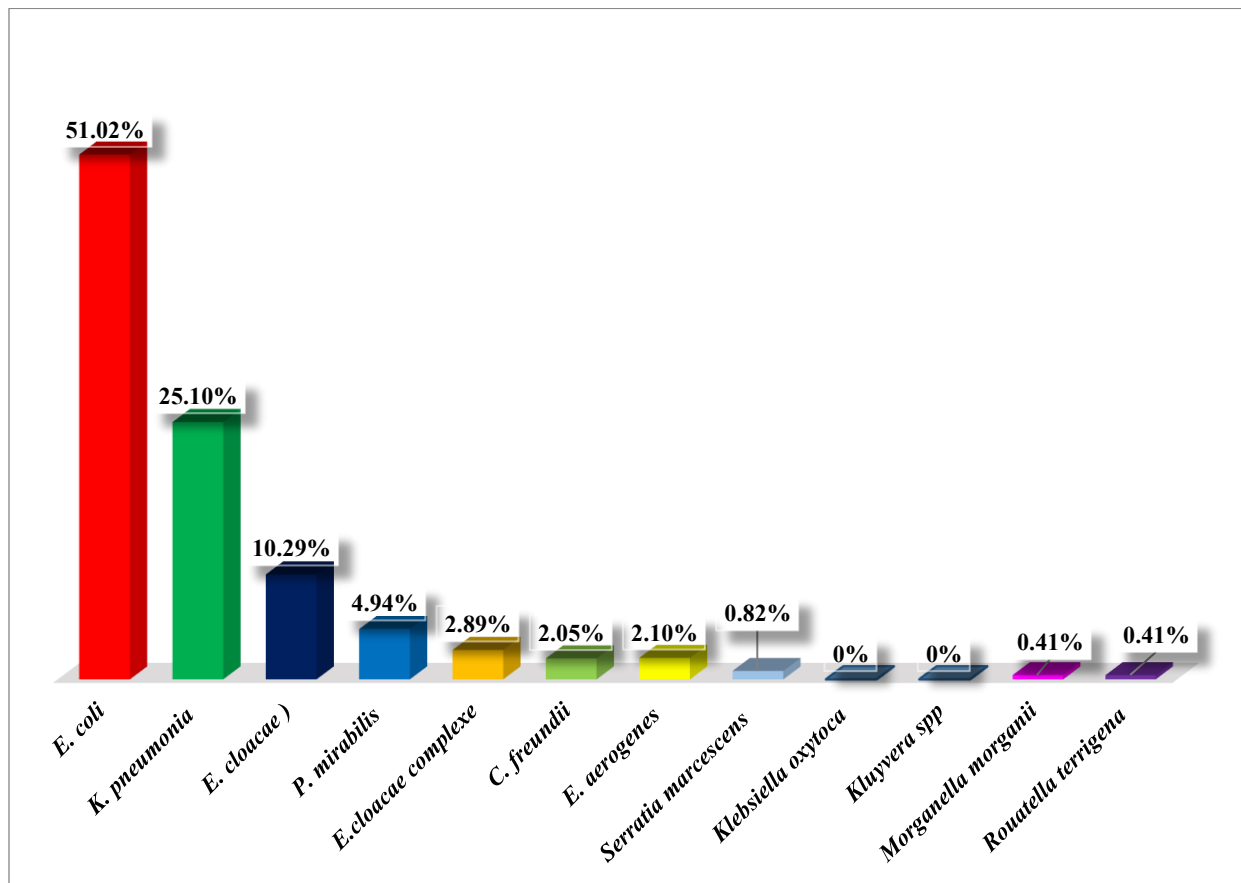


Figure 19 : Distribution des espèces multirésistantes associées aux IUs.

Comme le montre la figure au-dessus (**Figure 19**), un total de 243 isolats sur 301 (80,73 %) a été identifiés comme étant MDR. *E. coli* était l'espèce la plus répandue (51.02%), suivie de *K. pneumoniae* (25.10%), *E. cloacae* (10.29%), *P. mirabilis* (4.94%). Il est important de noter que *E. coli*, *K. pneumoniae* et *E. cloacae* font partie du groupe de pathogènes ESKAPE, connu pour sa résistance à de multiples classes d'antibiotiques (**Elbehiry et al., 2024**). Ces pathogènes critiques nécessitent des interventions thérapeutiques urgentes, car le groupe ESKAPE continue de poser d'importants défis malgré les avancées en matière de traitements, notamment dans les infections urinaires (**Elbehiry et al., 2024; Miller & Arias, 2024**).

V.4-Facteurs de risque liés à la production de BLSE

L'étude des facteurs de risque pouvant être liés à la production de BLSE est rapportée dans le **tableau 31** :

Tableau 31. Facteurs de risque liés à la production de BLSE.

Facteurs de risque	Total (n = 301) (%)	BLSE/AmpC- E (n = 164) (%)	Non- BLSE/AmpC- E (n = 137) (%)	COR (IC95% : inférieur- supérieur)	<i>p</i> - value
Sexe					
Féminin	191 (63,45)	103 (64,02)	88 (64,23)	0,95 (0,47 - 0,61)	0,278
Masculin	110 (36,54)	61 (37,19)	49 (35,77)	1,05 (0,46 - 0,64)	0,252
Age (ans)					
1 mois – 20	31 (10,3)	14 (8,54)	17 (12,41)	0,72 (0,32 - 0,65)	0,857
21 – 40	108 (35,88)	59 (32,92)	49 (35,77)	1,01 (0,45 - 0,64)	0,336
41 – 60	74 (24,58)	43 (26,22)	31 (22,63)	1,21 (0,47 - 0,69)	0,163
≥ 61	88 (29,24)	48 (29,27)	40 (29,2)	1,00 (0,4 - 0,6)	1
Etablissements de santé					
EPH – Bekaria	151 (50,16)	100 (60,97)	51 (37,23)	3,48 (0,58 - 0,73)	6,67 ×10 ⁻⁵
EPH-Maternité – Tébessa	44 (14,61)	25 (15,24)	19 (13,87)	1,56 (0,42 - 0,7)	0,3657
Laboratoire d’analyses médicales	106 (35,88)	39 (23,78)	67 (48,91)	0,38 (0,28 - 0,46)	0,006
Origine de l'infection					
Infection nosocomiale	195 (64,78)	125 (76,22)	70 (51,09)	3,46 (0,57 - 0,7)	8,19 × 10 ⁻⁵
Infection commRRunautaire	106 (35,22)	39 (23,78)	67 (48,91)	0,38 (0,28 - 0,46)	0,006

Notre étude a inclus 301 patients, 63,45 % (191/301) étaient des femmes et 36,54 % (110/301) étaient des hommes (**Tableau 31**), avec un âge moyen de 50,9 ans et 43,80 ans, respectivement. La répartition selon le genre et l’analyse statistique ont montré que les entérobactéries uropathogène (quellque soit productrices BLSE/AmpC ou non) sont plus fréquemment isolées chez les femmes et sont étaient plus sujettes aux IU que les hommes. Ces résultats suggèrent un risque significativement plus élevé pour les femmes d’être affectées par des E-BLSE/AmpC associées aux IUs par rapport aux hommes. (**Foxman, 2003**) a signalé que presque toutes les femmes peuvent avoir au moins un épisode d'IUs au cours de leur vie, ce qui peut s'expliquer par des facteurs anatomiques et physiologiques de l’appareil urinaire féminin ainsi que par divers facteurs de risque tels que la proximité de l’urètre avec l’anus et la grossesse (**Czajkowski et al., 2021**). Ces résultats sont soutenus par plusieurs études (Nabti et al., 2019;

Zenati et al., 2019; Benyagoub et al., 2021; Fares et al., 2023) ainsi que par des travaux en Afrique du Nord (Guermazi-Toumi et al., 2018; Benaïssa et al., 2021). Cette tendance a été observée aussi bien pour les infections acquises à l'hôpital que pour celles acquises en communauté.

Cependant, L'analyse par tranche d'âge a indiqué que les individus âgés de 21 à 40 uivis des patients âgés des plus de 60 ans ans étaient les plus affectés par IUs, montrant la prévalence la plus élevée d'isolats (producteurs de BLSE/AmpC ou non), tandis que les cas restants concernaient les patients âgés de 1 mois à 20 ans (**Tableau 31**). Ces résultats sont en accord avec des études récentes montrant que les IUs peuvent toucher toutes les tranches d'âge (**Alhazmi et al., 2023**) et la prévalence des IUs chez les personnes âgées pourrait être attribuée à une immunodéficience accrue (**H. Ahmed et al., 2023**).

Par ailleurs, L'analyse de la distribution clinique a révélé que les infections acquises à l'hôpital étaient plus fréquemment associées aux bactéries productrices de BLSE-E et les infections acquises en communauté (**Tableau 31**). Ces résultats peuvent s'expliquer par le lien bien établi entre les infections nosocomiales et les BLSE-E (**Khan et al., 2017; Abay et al., 2025**). Il est important de noter aussi que la résistance aux céphalosporines a augmenté dans les milieux hospitaliers comme communautaires, en raison de l'acquisition et de la dissémination horizontale des gènes codant les BLSE (**Raphael et al., 2021**) , ce qui corrobore nos résultats. Les entérobactéries productrices de BLSE et/ou d'AmpC ont été identifiées dans trois établissements de santé, avec une prévalence plus élevée observée à l'hôpital EPH Bekaria. De manière similaire, (**Fares et al., 2023**) ont rapporté la même observation. En revanche, le Réseau algérien de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques (*surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques, 2023, s. d.*) a rapporté que la prévalence des BLSE-E associées aux IU était plus élevée chez les patients de la la communauté que les patients hospitalisés. Le EPH Bouguerra Boularres-Bekaria a été identifié comme l'établissement de santé présentant la prévalence la plus élevée de BLSE-E Cette observation est cohérente avec les résultats de (**Fares et al., 2023**), qui ont également signalé une tendance similaire (**Tableau 31**).

V.5- Distribution les espèces selon la production de BLSE/AmpC

Les résultats présentés dans la **Figure 20** soulignent une prévalence élevée d'*E. coli* et de *K. pneumoniae* dans les infections urinaires, représentant respectivement 50,38 % et 24,03 % des isolats. Cette dominance confirme leur rôle majeur dans les infections urinaires. Nos

résultats mettent en évidence la prédominance de *E. coli* et *K. pneumoniae* parmi les isolats BLSE/AmpC-E. Une étude récente menée par (Alkan et al., 2024) a rapporté que ces deux espèces restent les principales causes des IUs, en raison de leurs facteurs de virulence facilitant l'adhésion à l'urothélium, tels que les adhésines, les pili, les fimbriae et le récepteur du groupe sanguin P1 (Zagaglia et al., 2022; Fares et al., 2023). Le Réseau Algérien de Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques a signalé des résultats similaires, indiquant *E. coli* comme l'espèce la plus fréquente, suivie de *K. pneumoniae*, dans les milieux hospitaliers et ambulatoires (*surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques, 2023, s. d.*). Cette tendance est cohérente avec d'autres études menées en Algérie (Aouf et al., 2018; Ait-Mimoune et al., 2022) et ailleurs (Lahdibi Sahraoui et al., 2021). De plus, ces espèces ont été plus fréquemment isolées dans les infections nosocomiales que dans les infections communautaires, ce qui corrobore les études antérieures identifiant *E. coli* et *K. pneumoniae* comme des agents majeurs des infections nosocomiales (R. K. Chan et al., 1993; Mohd Asri et al., 2021).

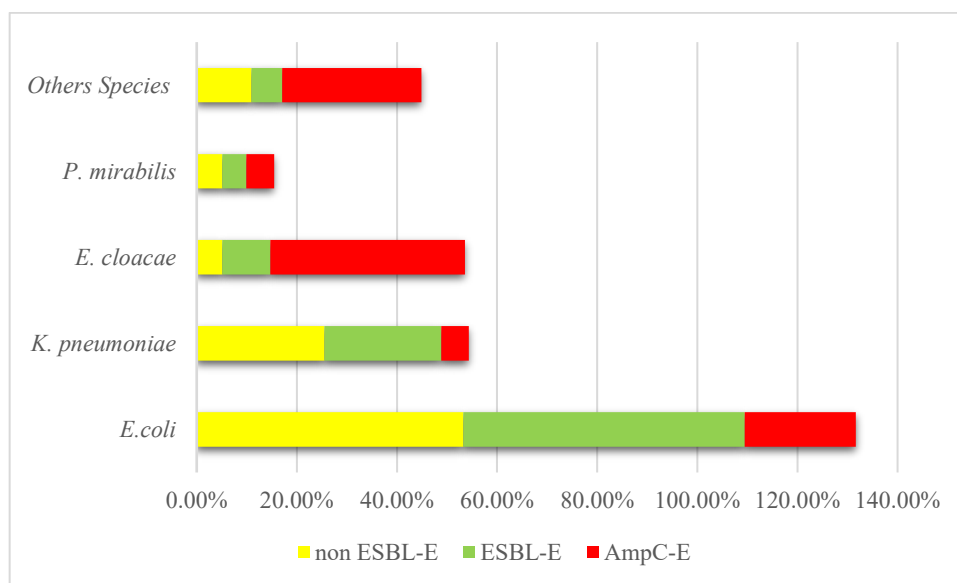


Figure 20 : Distribution les espèces selon la production de BLSE/AmpC.

De même, à Tébessa, (Fares et al., 2023) ont signalé que ces deux espèces étaient les uropathogènes les plus prévalents dans les IUs d'origine hospitalière entre 2018 et 2021. Nos résultats confirment que leur domination a persisté dans la région entre 2022 et 2024. En outre, *E. cloacae* a été identifiée comme le troisième agent causal d'IUs le plus fréquent dans notre étude (12,4 %), avec une prévalence de 9,30 %. Des recherches récentes ont souligné son incidence croissante dans les IUs (Fares et al., 2023; Elbehiry et al., 2024). Notamment, *E. cloacae* appartient au groupe des pathogènes ESKAPE (Miller & Arias, 2024), qui représente

un défi majeur dans le traitement des infections en raison de sa résistance aux antibiotiques. Par ailleurs, l'analyse de la répartition des isolats BLSE-E et non-BLSE-E révèle une prédominance marquée chez BLSE-E, la forte proportion de BLSE-E témoigne de la pression sélective exercée par l'usage intensif des antibiotiques (Fares et al., 2023), compromettant l'efficacité des céphalosporines de troisième génération et nécessitant une réévaluation des stratégies thérapeutiques. Ces résultats soulignent l'urgence d'une surveillance accrue de la résistance aux antibiotiques et d'une gestion plus rationnelle des traitements pour limiter la propagation des bactéries résistantes.

V.6- Etude la résistance aux antibiotiques chez BLSE/AmpC-E et productrices de carbapénémases.

V.6.1- Profil de résistance aux antibiotiques des souches BLSE/AmpC-E et productrices de carbapénémases.

Les tests de sensibilité aux antibiotiques ont révélé des niveaux élevés de résistance aux β -lactamines, fluoroquinolones, aminosides et autres classes d'antibiotiques chez les souches BLSE/AmpC-E et productrices de carbapénémases (**Tableau 32**). Les profils de résistance parmi les BLSE-E ont révélé une résistance universelle à la cefotaxime, ainsi qu'une forte résistance à la céfazoline et à la ceftazidime, en accord avec d'autres études (Zenati et al., 2019b; Fares et al., 2023).

Concernant les aminosides, La résistance à la gentamicine variait considérablement selon les espèces, atteignant 28,6 % chez *K. pneumoniae* et 42,9 % chez *E. cloacae*. En revanche, l'amikacine restait très efficace, avec une sensibilité ≥ 96 % dans toutes les espèces, en accord avec les résultats rapportés par (Fares et al., 2023). Les aminoglycosides présentent une efficacité variable, avec une résistance élevée à la gentamicine chez *E. aerogenes* (80 %) et *E. cloacae* (81 %), tandis que l'amikacine reste une option thérapeutique importante contre les souches multirésistantes.

Tableau 32 : Profil de résistance aux antibiotiques des souches BLSE/AmpC-E et productrices de carbapénémases.

Antibiotiques	<i>E. coli</i> (n=86)	<i>K. pneumoniae</i> (n=35)	<i>E. cloacae</i> (n=21)	<i>P. mirabilis</i> (n=8)	<i>E. cloacae</i> Complexe (n=6)	<i>E. aerogenes</i> (n=5)	<i>R. terrigena</i> (n=1)	<i>M. morganii</i> (n=1)	<i>C. freundii</i> (n=1)
Ampicilline	85 (98,8)	33 (94,3)	21 (100)	8 (100)	6 (100)	4 (80)	1 (100)	1 (100)	1 (100)
Amoxicilline/aci de clavulanique	65 (75,6)	22 (62,9)	18 (85,7)	6 (75)	5 (83,3)	4 (80)	1 (100)	1 (100)	1 (100)
Pipéracilline- tazobactam	11 (12,8)	8 (22,9)	3 (14,3)	1 (12,5)	2 (33,3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Céfazoline	79 (91,9)	33 (94,3)	21 (100)	8 (100)	5 (83,3)	5 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)
Céfoxitine	20 (23,3)	11 (31,4)	14 (66,7)	4 (50)	2 (33,3)	5 (100)	0 (0)	0 (0)	1 (100)
Cefotaxime	86 (100)	35 (100)	21 (100)	8 (100)	6 (100)	5 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)
Ceftazidime	65 (75,6)	27 (77,1)	15 (71,4)	1 (12,5)	5 (83,3)	3 (60)	0 (0)	1 (100)	1 (100)
Ertapénème	7 (8,1)	11 (31,4)	8 (38,1)	1 (12,5)	1 (16,7)	3 (60)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Imipénème	1 (1,2)	5 (14,3)	4 (19)	0 (0)	1 (16,7)	2 (40)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Acide nalidixique	54 (62,8)	20 (57,1)	16 (76,2)	6 (75)	4 (66,7)	3 (60)	0 (0)	1 (100)	1 (100)
Ciprofloxacine	65 (75,6)	31 (88,6)	16 (76,2)	6 (75)	5 (83,3)	5 (100)	0 (0)	0 (0)	1 (100)
Gentamicine	33 (38,4)	10 (28,6)	9 (42,9)	1 (12,5)	1 (16,7)	4 (80)	1 (100)	1 (100)	1 (100)
Tobramycine	57 (66,3)	17 (48,6)	17 (81)	3 (37,5)	5 (83,3)	3 (60)	1 (100)	1 (100)	1 (100)
Amikacine	3 (3,5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Nitrofurantoïne	10 (11,6)	10 (28,6)	11 (52,4)	2 (25)	2 (33,3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Fosfomycine	5 (5,8)	30 (85,7)	1 (4,8)	1 (12,5)	2 (33,3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Triméthoprim- Sulfaméthoxazol e	65 (75,6)	27 (77,1)	19 (90,5)	6 (75)	4 (66,7)	4 (80)	1 (100)	1 (100)	1 (100)
Chloramphénico l	20 (23,3)	8 (22,9)	10 (47,6)	1 (12,5)	2 (33,3)	4 (80)	0 (0)	0 (0)	1 (100)

La résistance au triméthoprime-sulfaméthoxazole était élevée, notamment chez *K. pneumoniae* (77,1 %) et *E. coli* (75,6 %), des résultats concordants avec ceux rapportés par **(Bougouizi et al., 2025)**. De plus, la forte résistance au triméthoprime-sulfaméthoxazole observée dans notre étude est un phénomène fréquent en Afrique, où cet antibiotique est souvent utilisé comme prophylaxie chez les patients infectés par le VIH et est facilement accessible sans prescription médicale **(Eliopoulos & Huovinen, 2001)**.

Ces observations peuvent être attribuées à la disponibilité facile et à l'usage généralisé et non contrôlé de ces antibiotiques dans ces pays, comme c'est le cas en Algérie **(Nabti et al., 2019; Zenati et al., 2019b; Fares et al., 2023; Bougouizi et al., 2025)**.

Malgré ces taux alarmants de résistance, certains antibiotiques ont montré une efficacité prometteuse. L'amikacine (99 %), ainsi que les carbapénèmes tels que l'imipénème (92 %), l'ertapénème (89 %), la piperacilline-tazobactam (86 %) et le chloramphénicol (79 %), ont affiché des taux élevés de sensibilité. Notamment, la fosfomycine s'est révélée efficace contre les entérobactéries, avec un taux global de sensibilité de 73,09 %. Toutefois, une résistance à la fosfomycine a été observée dans 21 % des isolats d'entérobactéries, avec une prévalence particulièrement élevée chez *K. pneumoniae*. Parmi les souches résistantes, 54 isolats de *K. pneumoniae* représentaient 17,79 % de l'ensemble des entérobactéries résistantes à la fosfomycine. Cette résistance est liée à des mécanismes intrinsèques et acquis, notamment l'acquisition du gène *fosA*, situé sur le chromosome de *K. pneumoniae*, codant une enzyme de type glutathion S-transférase qui inactive la fosfomycine en catalysant l'addition de glutathion à la molécule, la rendant ainsi inefficace. Ce mécanisme réduit considérablement l'utilité de la fosfomycine (dans le traitement des infections à *K. pneumoniae*, en particulier dans les souches multirésistantes **(Abbott et al., 2022)**). À l'inverse, **(Bitsori & Galanakis, 2019)** ont suggéré que la fosfomycine constitue un antibiotique prometteur pour le traitement des infections urinaires à entérobactéries, à l'exception de *K. pneumoniae*. Concernant l'amikacine et l'imipénème, d'autres travaux **(Cho et al., 2015; Fares et al., 2023; Tanaka et al., 2025; Bougouizi et al., 2025)** trouvent également des résultats concordants avec nous. Néanmoins, l'utilisation de l'amikacine demeure limitée en raison de sa néphrotoxicité potentielle **(K. Chan et al., 2020)**. Compte tenu de ces risques, **(Moja et al., 2024)**, ont préféré l'amikacine à la gentamicine dans les cas graves, en raison de son meilleur profil de résistance, de son efficacité contre les BLSE, et de son rôle comme alternative aux carbapénèmes dans les contextes à forte prévalence de BLSE.

Par ailleurs, la faible utilisation des carbapénèmes observée dans notre étude (10,3 %) concorde avec les données du rapport de la *Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques* (2023) (*surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques, 2023, s. d.*), qui souligne une faible prévalence en milieu communautaire comparativement à l'hôpital. Ces résultats sont également en accord avec d'autres études algériennes (Nabti, Sahli, Radji, et al., 2019; Zenati et al., 2019b; Touati & Mairi, 2020b; Fares et al., 2023). Dans une revue systématique portant sur les entérobactéries résistantes aux carbapénèmes en Algérie, trois études ont rapporté des décès liés à des infections causées par *K. pneumoniae* productrices de carbapénémases (CRE) (Touati & Mairi, 2020b), soulignant que l'augmentation de la résistance aux carbapénèmes pourrait conduire à des échecs thérapeutiques. Grâce au système Vitek 2, nous avons détecté phénotypiquement la co-production d'AmpC et de carbapénémases chez les entérobactéries, un résultat corroboré par des études égyptiennes (Desta et al., 2016; Mohamed et al., 2020). Notamment chez *Enterobacter cloacae*. Selon nos résultats, la majorité des producteurs d'AmpC étaient des *E. cloacae*.

Des recherches récentes sur les profils de résistance des CRE suggèrent que la fosfomycine et l'amikacine pourraient être envisagées comme options thérapeutiques contre les infections causées par ces bactéries. Toutefois, leur usage doit être strictement surveillé pour éviter une toxicité excessive et prévenir l'émergence de nouvelles résistances (Hussaini et al., 2024). Ces conclusions confirment nos résultats.

V.6.2- Détection des souches /MDR/XDR chez les BLSE-E/AmpC-E

Le tableau ci-dessous présente la répartition des souches bactériennes en fonction de leur résistance aux antibiotiques (Tableau 33). Toutes les souches analysées montrent un phénotype MDR, c'est-à-dire une résistance à au moins trois classes d'antibiotiques (Magiorakos et al., 2012). Le taux élevé de multirésistance observé parmi les souches d'*E. coli* est alarmant et souligne la nécessité d'une utilisation prudente des antibiotiques afin de limiter l'émergence et la propagation des souches résistantes en milieu hospitalier et communautaire (Walker et al., 2016; S. K. Ahmed et al., 2024).

Tableau 33 : Répartition des Entérobactéries et leur profil de résistance.

Espèces (n=164)	MDR (100%)	XDR (7.93%)
<i>E. coli</i>	100%	1 (7.96%)
<i>K. pneumoniae</i>	100%	6 (46.15%)
<i>E. cloacae</i>	100%	5 (38.46%)
<i>P. mirabilis</i>	100%	-
<i>E. cloacae complex</i>	100%	1 (7.96%)
<i>E. aerogenes</i>	100%	-
<i>R. terrigena</i>	100%	-
<i>M. morganii</i>	100%	-
<i>C. freundii</i>	100%	-

Cependant, un sous-groupe plus restreint d'entre elles présente un profil XDR (Extensively Drug Resistant) avec 7,93 % (13/164), indiquant une résistance à toutes les classes d'antibiotiques sauf une ou deux. Parmi ces souches XDR, *K. pneumoniae* est la plus concernée avec 46,15 % des isolats, *E. cloacae* suit avec 38,46 % des souches classées XDR et *E. coli* et *E. cloacae complex* montrent chacun une proportion moindre (7,96 %) (**Tableau 33**). L'apparition de souches uropathogènes XDR a été corroborée par d'autres études (**Kaza et al., 2024; Shaker et al., 2024**).

V.6.3- Calcul de l'indice de résistance aux antibiotiques multiples (MAR)

Tableau 34 : distribution des espèces selon l'indice de résistance aux antibiotiques multiples.

Species	Average of MAR Index
<i>E coli</i>	0.54
<i>K. pneumouniae</i>	0.47
<i>E. cloacae</i>	0.59
<i>P. mirabilis</i>	0.44
<i>E.cloacae complex</i>	0.51
<i>E.aerogene</i>	0.6
<i>R. terrigena</i>	0.39
<i>M. morganii</i>	0.5
<i>C. freundii</i>	0.67

Toutes les souches BLSE/AmpC-E présentait un indice MAR supérieur à 0,2 (**Tableau 34**). L'indice MAR est un outil précieux, peu coûteux et facile à réaliser, ne nécessitant pas une expertise approfondie. Il permet d'évaluer l'impact de l'utilisation des antibiotiques sur les populations bactériennes et d'identifier les isolats provenant de sources à haut risque dans des

environnements résistants aux antibiotiques (MAR > 0,2) (M. Shakir et al., 2021; Mir et al., 2022; Woh et al., 2023).

Les récentes études sur l'indice MAR chez les *Entérobactéries* uropathogènes fournissent des comparaisons intéressantes. En Arabie Saoudite, (Elbehiry et al., 2024) ont rapporté que les souches d'*E. cloacae* productrices d'BLSE avaient un indice MAR moyen de 0,37, inférieur aux résultats de notre étude (Tableau 34). Au Nigeria, les isolats d'*E. coli* présentaient un indice MAR variant de 0,375 à 1,0, avec certains isolats dépassant 0,3 (Okafor & Nweze, 2020). De plus, une autre étude menée au Nigeria a révélé que 80,56 % des isolats de *K. pneumoniae* avaient un indice MAR > 0,2 (Ashefo et al., 2023), un résultat très proche de celui de notre étude (79,57 %), où les indices MAR variaient entre 0,1 et 0,8 (Tableau 34).

V.6.4- Résistance aux Ciprofloxacine (FQR)

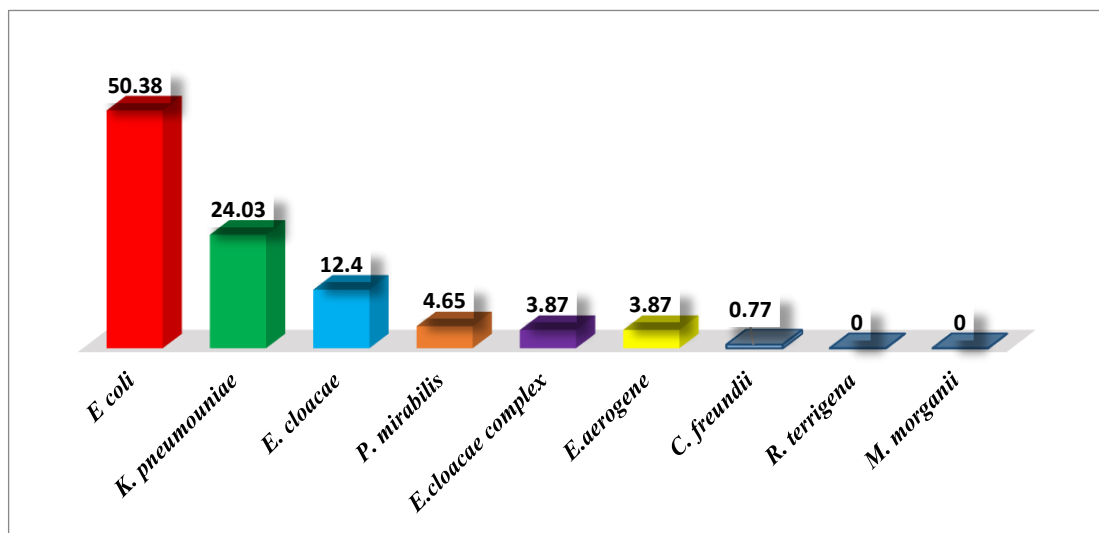


Figure 21 : Distribution de BLSE-E/AmpC-E selon la résistance aux FQR.

Comme l'illustre la **Figure 21**, *E. coli* (50.38%) et *K. pneumoniae* (24.03%) affichent les taux les plus élevés de FQR, suivis par *E. cloacae* (12.4%). La forte prévalence de la FQR parmi ces espèces représente un défi supplémentaire pour les stratégies thérapeutiques. Ces taux de résistance élevés aux fluoroquinolones concordent avec les données rapportées par des études en Algérie (Zenati et al., 2019b; Fares et al., 2023; Bougouizi et al., 2025) et ainsi que dans d'autres pays (García-Meniño et al., 2024; Tanaka et al., 2025). Cette situation est exacerbée par l'usage abusif des FQs, favorisant la dissémination des gènes de résistance via le transfert horizontal (Raphael et al., 2021).

D'autant plus que, depuis 2016, la FDA a mis en garde contre les risques associés aux fluoroquinolones. Ces antibiotiques sont liés à des effets indésirables graves et potentiellement permanents, affectant divers systèmes, notamment les tendons, les muscles et le système nerveux central. Face à l'émergence croissante de résistances et à la disponibilité d'alternatives pour le traitement des infections urinaires, le Comité d'Experts recommande d'exclure les fluoroquinolones des protocoles thérapeutiques standards et de les réserver uniquement aux infections graves lorsque les autres options sont limitées (FDA, 2018; Moja et al., 2024). Sur le plan génétique, la résistance aux fluoroquinolones est principalement attribuée à des mutations dans les gènes *gyrA* (ex. : *GyrA-S83L* et *GyrA-D87N*) et *parC* (ex. : *ParC-S80I*), qui affectent la gyrase ADN et la topoisomérase IV, deux cibles essentielles des fluoroquinolones. En outre, l'acquisition de gènes de résistance plasmidique aux quinolones (PMQR), comme *qnr*, situés sur des éléments génétiques mobiles, joue un rôle déterminant dans la dissémination de cette résistance (Poirel et al., 2005). Ces résultats soulignent l'urgence d'une surveillance accrue de la résistance aux antibiotiques et d'une gestion plus rationnelle des traitements afin de limiter la propagation des bactéries résistantes et préserver l'efficacité des options thérapeutiques disponibles.

V.7- Analyse Moléculaire d'*E. coli* et *K. Pneumoniae*

V.7.1- Analyse Moléculaire d'*E. coli*

50 isolats représentatifs d'*E. coli* ont été collectés et analysés pour leurs profils de résistance, la présence des gènes BLSE/AmpC et *mcr*, les facteurs de virulence, les phylogroupes et les clonotypes, après un dépistage PCR positif pour *UidA*.

V.7.1.1- Confirmation l'identification d'*E.coli*

Toutes les souches ont été confirmées comme *E. coli* par PCR ciblant le gène *uidA* (Figure 22)

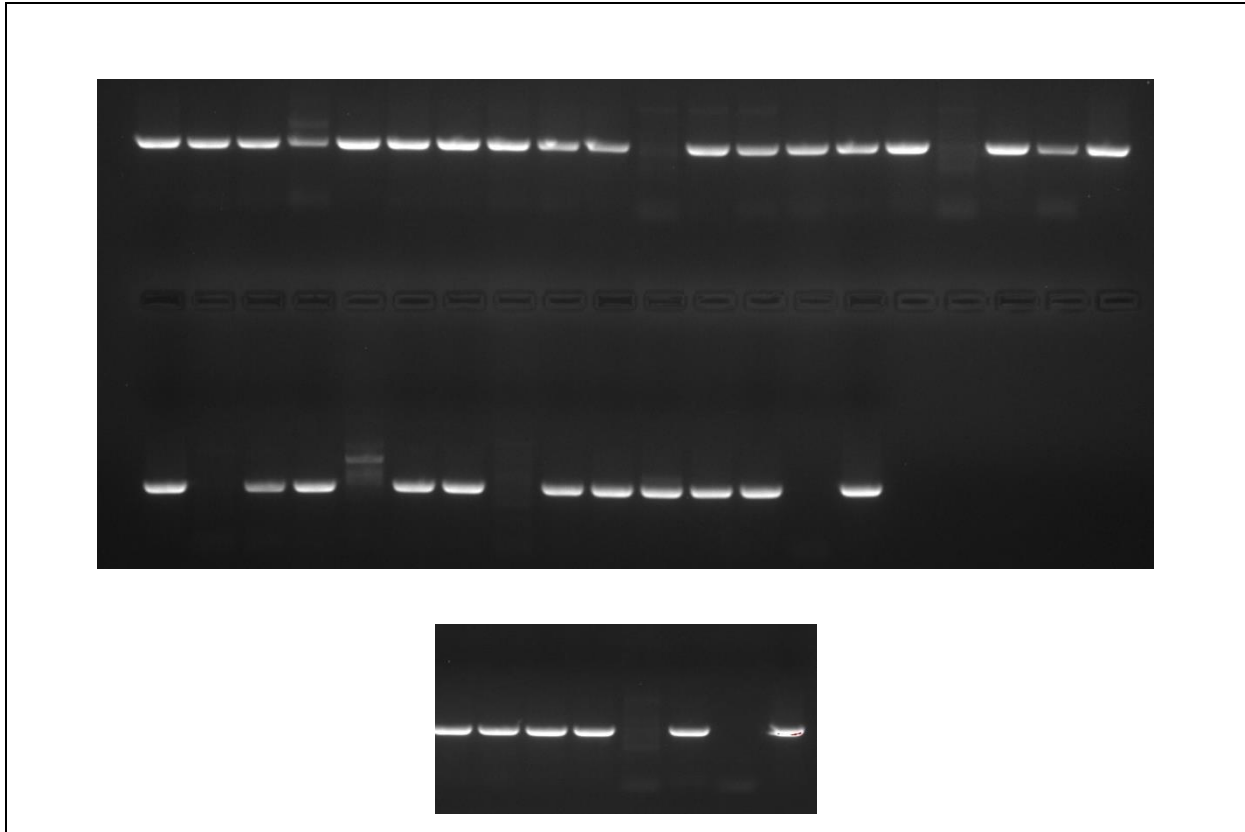


Figure 22 : résultats du PCR ciblant le gène *uidA*.

V.7.1.2- Distribution des uropathogènes *E. coli* sélectionnées en fonction de la fermentation de Lactose

Comme le montre la **Figure 23** au-dessous, 92 % des souches uropathogènes isolées sont lactose-fermentantes, contre 8 % qui sont NLF. Bien que *E. coli* soit classiquement une bactérie lactose-fermentante, certaines souches identifiées dans cette étude étaient NLF, ce qui souligne l'existence de variants métaboliques atypiques. Ce résultat indique que la fermentation du lactose, bien qu'utile pour une orientation préliminaire de l'identification bactérienne, peut parfois être trompeuse, notamment dans le cas de certains clones émergents comme *E. coli* ST1193, ST131, connus pour présenter un phénotype non classique, incluant l'absence de fermentation du lactose (**García-Meniño et al., 2022b, 2024**). Ce type est moins fréquent, et la majorité des infections urinaires sont causées par des souches lactose-fermentantes (**Yaratha et al., 2017; Mazumder et al., 2022**).

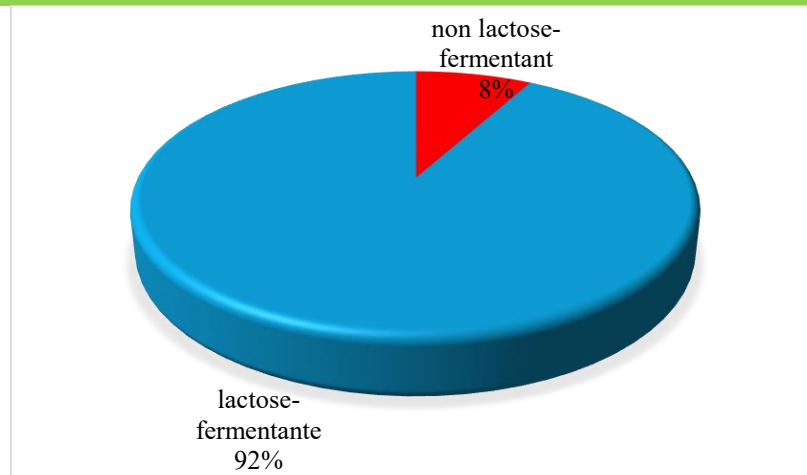


Figure 23 : Répartition des souches uropathogènes selon leur capacité à fermenter le lactose.

Les souches pathogènes de *E. coli* appartiennent à la fois aux types lactose-fermentants et NLF. L'identification rapide des agents pathogènes bactériens dans les laboratoires de microbiologie est essentielle pour commencer un traitement efficace des infections. Le dépistage des bactéries gram-négatives à partir d'échantillons d'urine et de selles est couramment effectué sur de l'agar MacConkey, et les variants NLF de *E. coli*, qui apparaissent transparents et incolores, sont souvent négligés lors du processus de dépistage, car ces souches atypiques reçoivent peu d'attention. Bien que les rapports sur de tels isolats soient limités à l'échelle mondiale, quelques études ont fait état de l'occurrence et de la caractérisation des souches NLF de *E. coli* provenant d'échantillons cliniques. Cependant, aucune recherche spécifique n'a encore été réalisée en Algérie sur ce phénotype (Mazumder et al., 2022).

V.7.1.3- Facteurs de risques liés aux *E coli* sélectionnées

Tableau 35 : Facteurs de risques liés aux *E coli*.

Facteurs de risque	Les souches sélectionnées (%)
Sexe	
Féminin	35 (70%)
Masculin	15 (30%)
Établissements de santé	
EPH – Bekaria	23 (46%)
EPH-Maternité – Tébessa	16 (32%)
Laboratoire d'analyses médicales	11 (22%)
Origine de l'infection	
Infection nosocomiale	39 (78%)
Infection communautaire	11 (22%)

Comme expliqué précédemment, la majorité des UIs dans cette étude concerne des femme (**Tableau 35**), puisque les infections urinaires sont plus fréquentes chez les femmes en raison de leur anatomie (urètre plus court) (**Foxman, 2003**). L'EPH-Bekaria présente le plus grand nombre de souches isolées, représentant près de la moitié des cas (46%) (**Tableau 35**). Ce chiffre suggère une forte concentration d'infections urinaires dans cet établissement, ce qui pourrait être dû à un grand nombre de patients hospitalisés (**Fares et al 2023**). Le deuxième établissement, l'EPH-Maternité-Tébessa, pourrait également expliquer une prévalence plus élevée chez les femmes, notamment en raison des infections post-partum.

La grande majorité des infections urinaires (78%) sont des infections hospitalières (**Tableau35**), ce qui reflète un risque élevé d'infection dans les établissements de santé, notamment chez les patients hospitalisés. Cela peut être dû à des facteurs tels que l'utilisation d'instruments médicaux (sondes urinaires) ou l'antibiothérapie prolongée. Seuls 22% des cas sont des infections communautaires (**Tableau 35**), ce qui montre que les infections urinaires dans cette étude proviennent principalement du milieu hospitalier.

V.7.1.4- Détection moléculaire des gènes de beta-lactamases

Des études montrent que les souches produisant *blaCTX-M* sont fréquemment multi-résistantes (**Peirano et al., 2014**), ce qui est cohérent avec nos résultats. L'analyse moléculaire des gènes de résistance qui est présenté au-dessous (**Figure24**), révélant que le gène *blaCTX-M-15* était le type de BLSE le plus répandu dans cette collection (35/50, 70%), La présence d'isolats producteurs *blaCTX-M-15*, représente une menace sanitaire majeure dans les pays méditerranéens, comme l'Algérie (Ramdani-Bougoussa et al., 2006; Baba Ahmed-Kazi Tani et al., 2013; Ayad et al., 2016b; Nabti, Sahli, Radji, et al., 2019; Zenati et al., 2019c; Bougouizi et al., 2025), la Tunisie (Dahmen et al., 2010; Mnif et al., 2013; Charfi et al., 2017), la Libye (**Mathlouthi et al., 2016a**), l'Égypte (**Ramadan et al., 2019**), et l'Espagne (**García-Meniño et al., 2024**). Ce gène a également été observé en France (**Nicolas-Chanoine et al., 2007; Flament-Simon et al., 2020**), ainsi que dans d'autres pays comme l'Iran (**Seki et al., 2013**), le Nigeria (**Ogbolu et al., 2018**), l'Éthiopie (**Zeynudin et al., 2018**) et le Bangladesh (**Mazumder et al., 2020**).

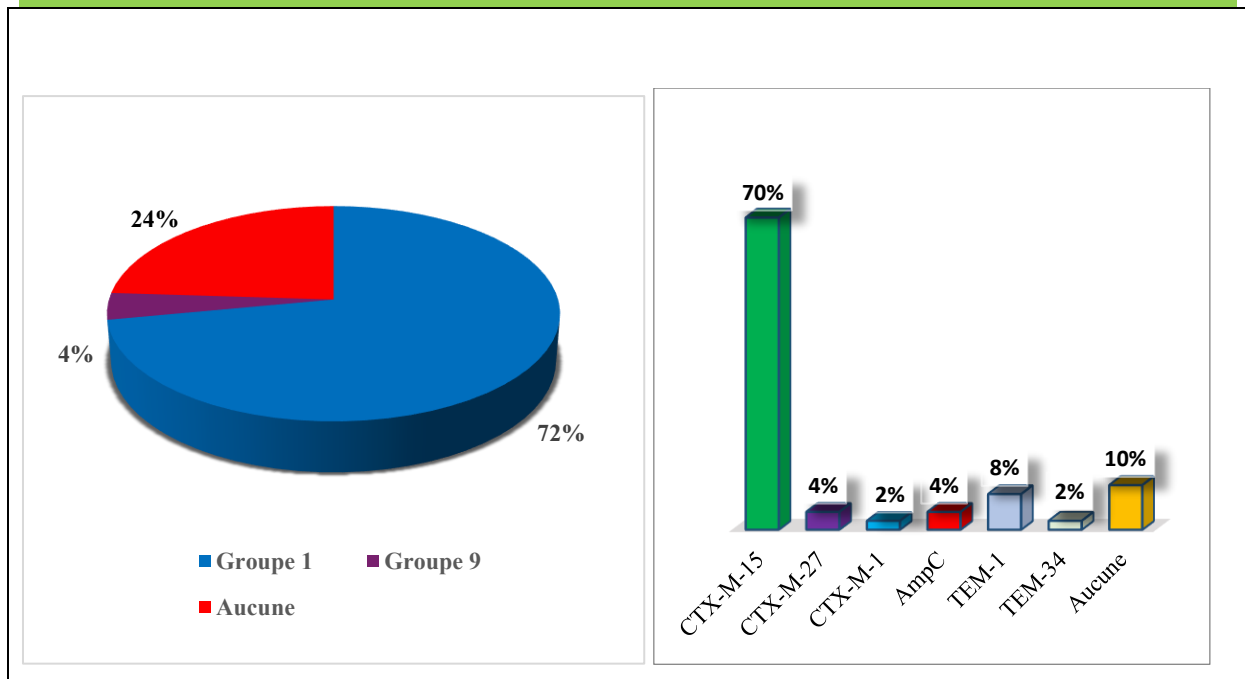


Figure 24 : Distribution des gènes de résistance.

Fait intéressant, les isolats portant *bla*CTX-M-27, *bla*CTX-M-1 et les β -lactamases AmpC ont été exclusivement retrouvés chez des patientes hospitalisées, tandis que *bla*CTX-M-15 a été identifié chez tous les patients ambulatoires et chez 84,3 % des patients hospitalisés, affectant à la fois les hommes et les femmes.

Outre *bla*CTX-M-15, nous avons observé un faible taux d'isolats produisant *bla*CTX-M-1, en accord avec d'autres études en Algérie (Zenati et al., 2019c) et en Égypte (Ramadan et al., 2019; Mohamed et al., 2020).

✓ **Première détection de variant *bla*CTX-M-27 en association avec *bla*OXA48 -chez *E.coli***

Dans notre étude, deux isolats *bla*CTX-M-27-produisant *E. coli* ont été identifiés. À notre connaissance, ce variant n'avait pas encore été signalé en Algérie. Cependant, une étude tunisienne a rapporté sa présence en association avec *bla*CTX-M-15 dans des souches uropathogènes de *E. coli* CC131 (Mhaya et al., 2019). Ce gène a également été détecté en Espagne (García-Meniño et al., 2024), en France (Flament-Simon et al., 2020) et en Thaïlande (Ullah et al., 2023). Ces deux isolats coexprimaient également *bla*OXA-48 (Tableau 26), le *bla*CTX-M-27 est un BLSE appartenant au groupe CTX-M-9. Elle confère une résistance marquée aux céphalosporines de 3e génération, et le *bla*OXA-48 est une carbapénémase, enzyme capable d'hydrolyser les carbapénèmes, souvent considérés comme des antibiotiques

de dernier recours (Nordmann, 2010). Cette co-expression peut compliquer fortement le traitement des IUs.

En Algérie, la première détection de *E. coli* producteur de *blaCTX-M-15* et *blaOXA-48* dans des IUs a été rapportée par (Nabti, Sahli, Radji, et al., 2019) chez des patients hospitalisés. Le gène *blaOXA-48* est largement impliqué dans des épidémies nosocomiales à travers le monde, en particulier dans le bassin méditerranéen. L'Italie présente l'incidence la plus élevée et est considérée comme l'épicentre de la diffusion de cette enzyme dans la région (Aschbacher et al., 2013). Ce gène a également été détecté en Espagne (Rivera-Izquierdo et al., 2021), en Égypte, en Libye (Mathlouthi et al., 2016b), en Tunisie (Mnif et al., 2013; Mnif & Hammami, 2020; Ben Haj et al., 2023) et au Maroc (Loqman et al., 2021; Belouad et al., 2023). Ces deux derniers pays sont considérés comme des réservoirs majeurs d'Entérobactéries productrices d'*blaOXA-48* (Poirel et al., 2012). En Algérie, la première détection de *blaOXA-48* chez *E. coli* a été signalée dans une infection chirurgicale chez un patient hospitalisé dans le nord-est du pays (Agabou et al., 2014b). Une revue systématique sur les Entérobactéries productrices de carbapénémases en Algérie a rapporté que la prévalence des *E. coli* productrices de carbapénémases était de 23,6 %, avec *blaOXA-48* comme enzyme la plus fréquemment retrouvée (Touati & Mairi, 2020b). La présence de ce gène dans certains isolats suggère un risque accru de propagation de la résistance, rendant les options thérapeutiques plus complexes.

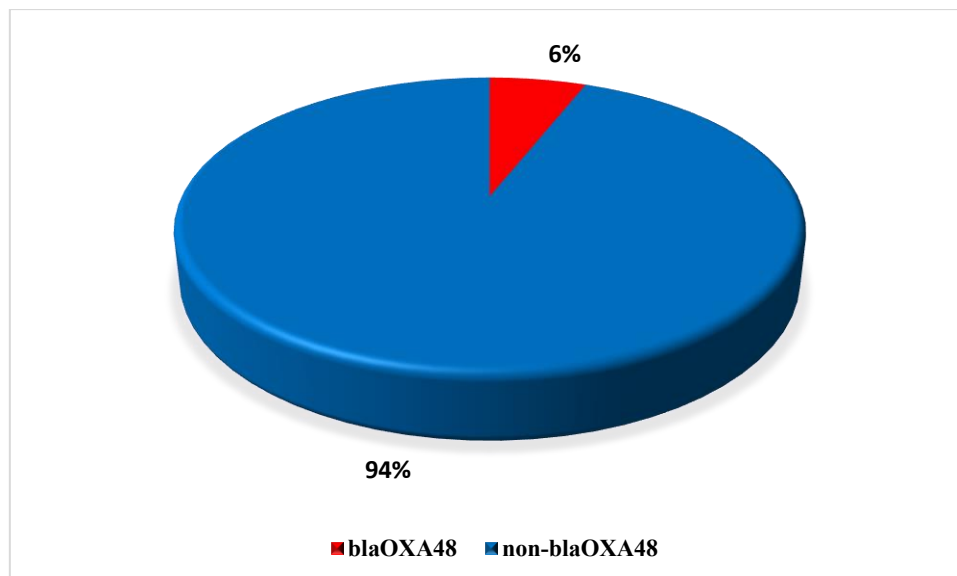


Figure 25: Distribution des souches selon la production de *blaOXA-48*.

Dans notre étude, la prévalence des *E. coli* producteurs d'*blaOXA-48* associés aux IUs dans le milieu hospitalier était de 6 % (Figure25), un taux plus élevé que celui rapporté dans la

province de Sétif (nord-est de l'Algérie), qui était de 0,5 % (Nabti, Sahli, Radji, et al., 2019; Touati & Mairi, 2020b).

Tableau 36 : Gènes de résistance aux antibiotiques de souches d'*E. coli* isolées de patients hospitalisés.

Patients hospitalisés									
Isolat	Groupes bla _{CTX-M}	Type BLSE	AmpC et/ou Carba	Autres β lac	Isolat	Groupes bla _{CTX-M}	Type BLSE	AmpC et/ou Carba	Autres β lac
EC1b	Groupe 1	<i>bla_{CTX-M-15}</i>	-	-	EC34	Group 1	<i>bla_{CTX-M-15}</i>	-	-
EC3	Groupe 1	<i>bla_{CTX-M-15}</i>	-	-	EC35	Group 1	<i>bla_{CTX-M-15}</i>	-	-
EC4	Groupe 1	<i>bla_{CTX-M-15}</i>	-	-	EC36	Group 1	<i>bla_{CTX-M-15}</i>	-	-
EC5	Groupe 1	<i>bla_{CTX-M-15}</i>	-	-	EC37	Group 1	<i>bla_{CTX-M-15}</i>	-	-
EC7	Groupe 1	<i>bla_{CTX-M-15}</i>	-	-	EC38	Group 1	<i>bla_{CTX-M-15}</i>	-	-
EC8	Groupe 1	<i>bla_{CTX-M-15}</i>	-	-	EC39 a	Group 1	<i>bla_{CTX-M-15}</i>	-	-
EC10	Groupe 1	<i>bla_{CTX-M-15}</i>	-	-	EC41	Group 1	<i>bla_{CTX-M-15}</i>	-	-
TEC11	Groupe 1	<i>bla_{CTX-M-15}</i>	-	-	EC42	-	-	-	<i>bla_{TEM34}</i>
EC15		-	-	-	EC43	Group 1	<i>bla_{CTX-M-15}</i>	-	-
EC16	Group 9	<i>bla_{CTX-M-27}</i>	<i>bla_{OXA48}</i>	-	EC44 a	-	-	-	-
EC17	-	-	-	bla _{TEM1}	EC48	Group 1	<i>bla_{CTX-M-15}</i>	-	-
EC18	-	-	<i>Bla_{CMY59}/bla_{OXA48}</i>	-	EC 49 b	Group 1	<i>bla_{CTX-M-15}</i>	-	-
EC20 a	Groupe 1	<i>bla_{CTX-M-15}</i>	-	-	EC52	Group 1	<i>bla_{CTX-M-15}</i>	-	-
EC21	Groupe 9	<i>bla_{CTX-M-27}</i>	<i>bla_{OXA48}</i>	-	EC53 b	-	-	-	-
EC23	Groupe 1	<i>bla_{CTX-M-15}</i>	-	-	EC55 a	Group 1	<i>bla_{CTX-M-15}</i>	-	-
EC25	Groupe 1	<i>bla_{CTX-M-15}</i>	-	-	EC56	Group 1	<i>bla_{CTX-M-1}</i>	-	-
EC26 a	Groupe 1	<i>bla_{CTX-M-15}</i>	-	-	EC58	Group 1	<i>bla_{CTX-M-15}</i>	-	-
EC27	-	-	-	bla _{TEM1}	EC59	-	-	<i>bla_{CMY-166}</i>	-
EC31	Groupe 1	<i>bla_{CTX-M-15}</i>	-	-	EC61	-	-	-	-
EC33	Groupe 1	<i>bla_{CTX-M-15}</i>	-	-					

Tableau 37 : Gènes de résistance aux antibiotiques de souches d'*E. coli* isolées de patients de la communauté.

Patients de la communauté				
Isolat	Groupes de blaCTX-M	Type BLSE	Type AmpC et/ou Carbapénémase	Autres β lactamases
EC2	-	-	-	<i>blaTEM1</i>
EC12	-	-	-	-
EC14	Groupe 1	<i>blaCTX-M-15</i>	-	-
EC19 a	Groupe 1	<i>blaCTX-M-15</i>	-	-
EC22	Groupe 1	<i>blaCTX-M-15</i>	-	-
EC28	Groupe 1	<i>blaCTX-M-15</i>	-	-
EC30	Groupe 1	<i>blaCTX-M-15</i>	Résistant de Ertapenem	-
EC45	Groupe 1	<i>blaCTX-M-15</i>	-	-
EC50	-	-	-	<i>blaTEM-1</i>
EC57	Groupe 1	<i>blaCTX-M-15</i>	-	-
EC60	Groupe 1	<i>blaCTX-M-15</i>	-	-

Par ailleurs, parmi les huit isolats résistants à la céfoxitine, deux étaient porteurs du gène *blaCMY* (5 %). Des études antérieures ont également rapporté une faible prévalence des *blaAmpC* chez les *E. coli* uropathogènes dans le bassin méditerranéen, notamment en Algérie (Nabti et al., 2019; Bougouizi et al., 2025), en Espagne (García-Meniño et al., 2024), en France (Flament-Simon et al., 2020) et en Égypte (Mohamed et al., 2020). L'un de ces deux isolats co-produisait également *blaOXA-48*, une caractéristique déjà rapportée en Égypte chez des isolats résistants aux carbapénèmes (Desta et al., 2016). Enfin, tous les isolats produisant *blaCTX-M-15* étaient résistants aux FQs, tandis que ceux produisant *blaCTX-M-27*, *blaCTX-M-1* et *blaAmpC* ne présentaient pas de résistance à cette classe d'antibiotiques.

Dans notre étude, le gène *blaSHVn* n'a pas été détecté chez les souches d'*E. coli* isolées d'IUs. Ce résultat est en accord avec les données rapportées par (Nabti, Sahli, Radji, et al., 2019) qui n'ont également pas identifié ce gène chez des souches d'*E. coli* isolées de cas similaires.

V.7.1.5- Analyse des souches BLSE discordantes par la PCR

Les résultats obtenus à l'aide de la technique MDR FLOW CHIP ont été globalement négatifs pour la majorité des souches testées, ce qui suggère que certaines détections de BLSE (β -lactamases à spectre étendu) observées avec le système automatisé ViteK2 pourraient correspondre à des faux positifs ou à une surestimation du phénotype de résistance. Par exemple, les souches Ec12, Ec15 et Ec53b se sont révélées négatives pour tous les gènes de résistance ciblés par la puce, bien que certaines aient montré un profil de résistance faible ou intermédiaire en phénotypie. La souche Ec44A, résistante uniquement aux quinolones, a présenté une mutation ponctuelle *gyrA S83L*, identifiée par MDR FLOW CHIP, ce qui est compatible avec une résistance chromosomique. Quant à la souche Ec61, résistante aux pénicillines et au cotrimoxazole, elle a montré un résultat positif pour le gène *sul-2*, responsable de la résistance au sulfaméthoxazole. Ces données confirment l'intérêt de l'approche génotypique pour affiner l'interprétation des profils de résistance et éviter des conclusions erronées fondées uniquement sur la phénotypie automatisée.

V.7.1.6- Colistine : une efficacité conservée contre les *E. coli* productrices de BLSE

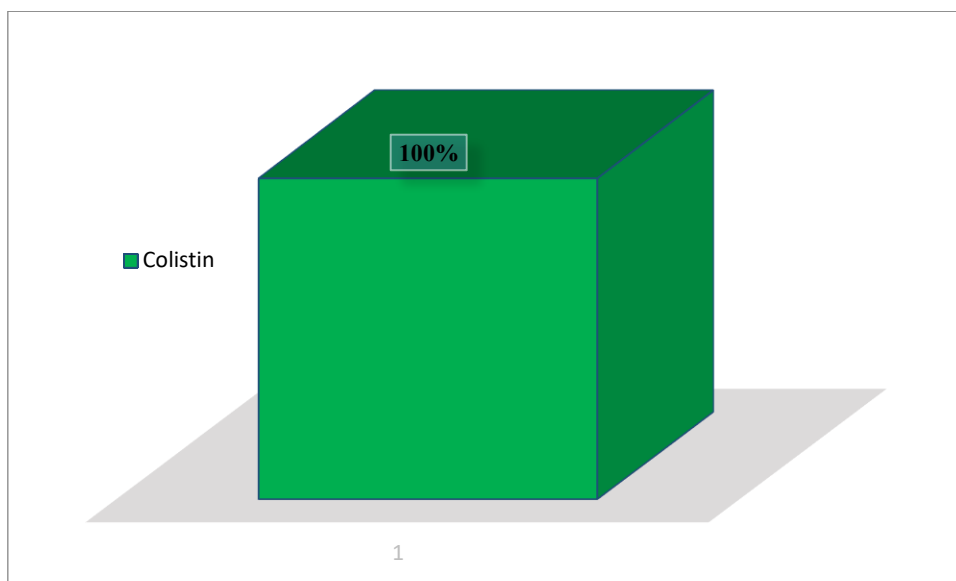


Figure 26 : Sensibilité des souches d'*E. coli* productrices de BLSE à la colistine.

La sensibilité observée de toutes les souches d'*E. coli* productrices de BLSE à la colistine (**Figure 26**) pourrait s'expliquer par son usage limité en thérapeutique humaine en Algérie, où elle est davantage utilisée en médecine vétérinaire, notamment pour la promotion de la croissance ou la prévention et le traitement des infections à Enterobacterales chez les animaux (**Kempf et al., 2016; Bougouizi et al., 2025**). Ces résultats sont cohérents avec le fait

que la résistance à la colistine chez les Enterobacterales d'origine clinique humaine n'a été rapportée que dans un nombre restreint d'études en Algérie (Nabti, Sahli, Hadjadj, et al., 2019; Loucif et al., 2022).

V.7.1.7- Analyse des gènes de sérotypage *O* et *H* (*O25b*, *H4*, *H5*)

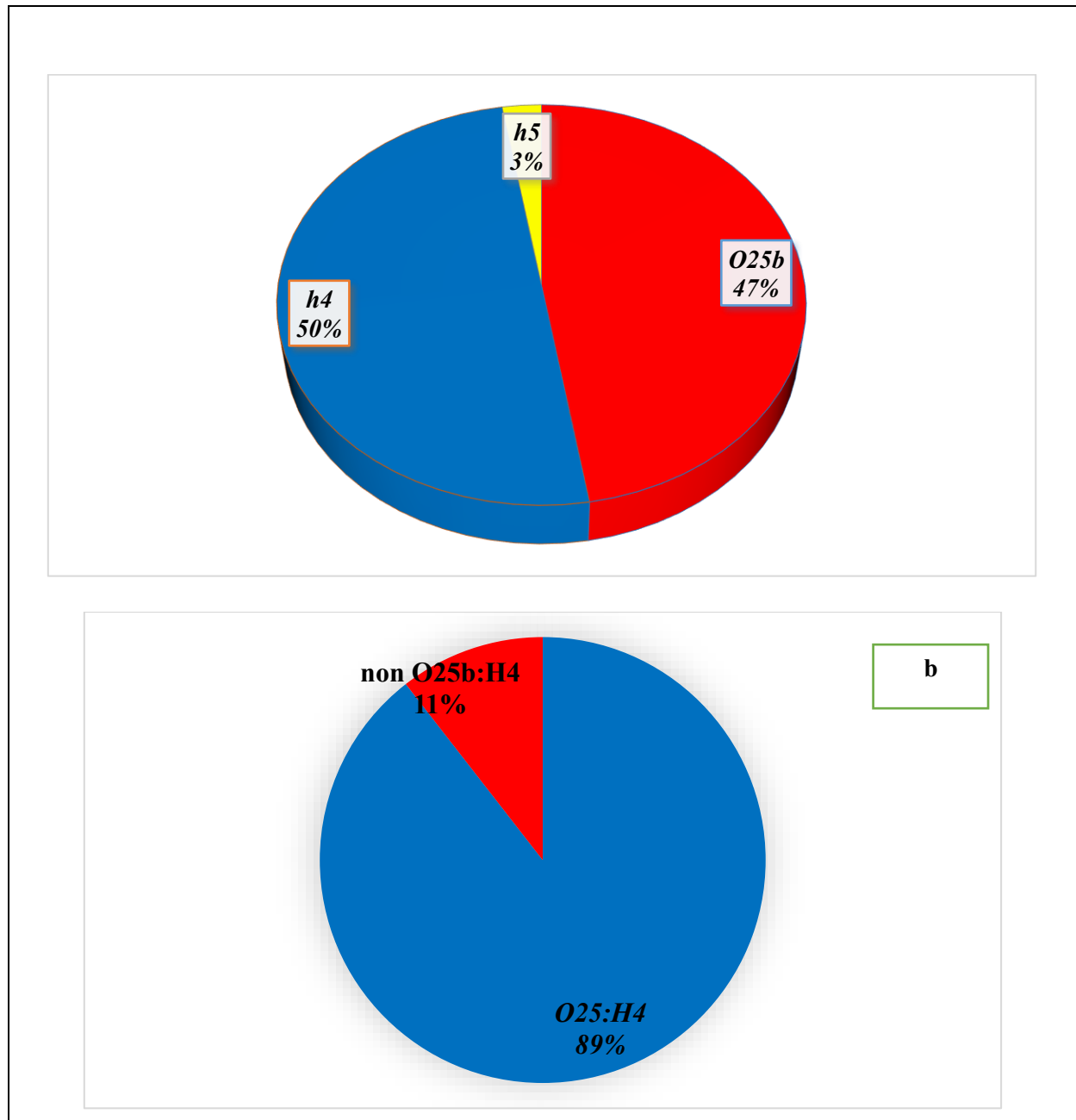


Figure 27 : Distribution des gènes *O* et *H* (*O25b*, *H4*, *H5*) chez les isolats étudiés.

Un sérotypage moléculaire ciblé a été réalisé par PCR pour les gènes *rfbO25b*, *fliCH4* et *fliCH5*, dans le but de détecter la présence de clones à haut risque, notamment le ST131 (*O25b:H4*) et

le ST1193 (*fliCH5*). Parmi les isolats analysés, 18 (47 %) portaient le gène *rfbO25b*, 19 (50 %) présentaient le gène *fliCH4*, et un seul isolat exprimait le gène *fliCH5* (3 %) (**Figure 27, a**). Ce dernier a été détecté exclusivement chez un isolat NLF, suggérant un profil particulier.

La combinaison des gènes *rfbO25b* et *fliCH4* a été observée chez 17 des 19 isolats exprimant *fliCH4*, ce qui correspond à 89 % de ces isolats (**Figure 27, b**). Cette association est caractéristique du clone ST131, largement répandu et reconnu pour sa virulence et sa résistance aux antibiotiques. Le sérotypage a été réalisé en suivant le protocole décrit par (**García-Meniño et al., 2024**), qui recommande l'utilisation de la PCR pour détecter les gènes *rfbO25b*, *fliCH4* et *fliCH5* afin d'identifier les clones à haut risque tels que ST131 (**Mora et al., 2014**).

V.7.1.8-Phylougroupe associés aux IUs

Les résultats des analyses phylogénétiques des 50 souches d'*E. coli* sélectionnées sont résumés dans le **Tableau 38** :

Tableau 38 : Répartition des phylogroupes d'*E. coli*.

Groupe phylogénétique	Milieu Hospitalier (39)	Milieu communautaire (11)	N° d'isolats (50)
A	3	2	5 (10%)
B1	7	1	8 (16%)
B2	15	6	21 (42%)
D	10	2	12 (24%)
F	2	-	2 (4%)
Clade I	2	-	2 (4%)

Dans notre étude, l'analyse a révélé la présence de six groupes phylogénétiques : A, B1, B2, D, F et clade I. Le phylogroupe B2, qui s'est avéré être le plus fréquent, représentant 42% des isolats, aussi bien en milieu hospitalier qu'en consultation externe. Les autres isolats d'*E. coli* responsables d'IUs étaient répartis entre les phylogroupes D (24 %), B1 (16%), A (10%) et F, Clade I (2%), les phylogroupes B1 et F étant uniquement présents en milieu hospitalier (**Tableau 38**).

La prédominance de phylogroupe B2 est en accord avec des études antérieures qui montrent la dominance de ce phylogroupe dans les infections urinaires, notamment en Algérie (Nabti, Sahli, Radji, et al., 2019; Zenati et al., 2019b), ainsi que dans la région méditerranéenne, notamment en Tunisie (**Hammami et al., 2013; Kilani et al., 2017**) et en Espagne (**García-Meniño et al., 2024**), ainsi qu'en France (**Flament-Simon et al., 2020**), suivi par le phylogroupe D. Les phylogroupes B2 et D présentaient un taux élevé de gènes de virulence. La faible présence d'isolats dans le groupe F suggère une moindre probabilité de multirésistance, ce qui est en accord avec des études antérieures (Nabti, Sahli, Radji, et al., 2019).

V.7.1.9- Statut de ExPEC/UPEC

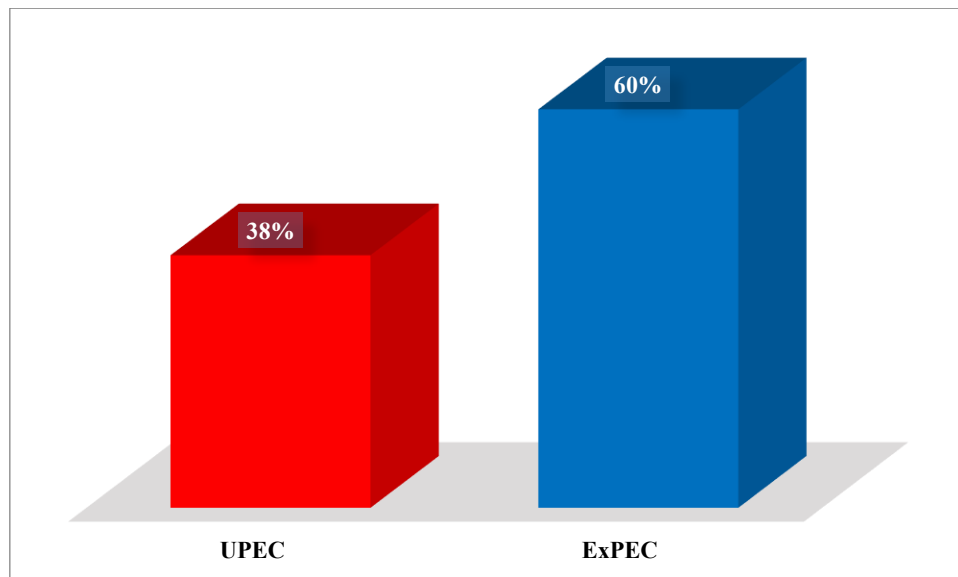


Figure 28 : Statut des souches ExPEC/UPEC.

La **figure 28** présente le statut des souches ExPEC/UPEC. Les résultats montrent que les ExPEC dominent, représentant 60 % des souches responsables des infections urinaires dans cette étude. Les UPEC représentent une proportion plus faible (38 %), mais ces souches sont spécifiquement adaptées aux infections urinaires (**García-Meniño et al., 2024**).

En Algérie, une étude pertinente a révélé une forte prévalence des souches ExPEC et UPEC dans les infections acquises en communauté et en milieu hospitalier (**Bougouizi et al., 2025**).

V.7.1.10-Phylogroupe-clonotype (PG-CH)

Dans cette étude, nous avons identifié un total de 09 combinaisons uniques phylogroupe-clonotype (PG-CH) (**Tableau 39**), présentes dans 32 des 51 échantillons analysés (80 %). Le clonotype le plus identifié était B2-CH40- (42,5 %), suivi par E-CH6-25 (15 %), avec un seul isolat pour chacun des types suivants : B1-CH64-14, B1-CH65-27, B1-CH65-32, B1-CH27-54, B1-CH7-604, A-CH11-54 et A-CH7-94. Cependant, malgré ces résultats, certains isolats n'ont pas pu être classés par clonotypage en raison de résultats PCR négatifs, bien que les tests de dépistage PCR aient été positifs. Ces isolats comprenaient deux B2-CH108-neg et un B2-CH1012-neg, trois E-CH26-neg, deux A-CH11-neg, un A-CH88-neg et un autre F-CH11-neg. La plupart d'entre eux présentaient FQR; toutefois, les isolats CH108-neg, E-CH26-neg et A-CH7-94 (un isolat chacun) (**Tableau 37**).

Tableau 39 : Phylogroupes, clonotype, statut UPEC et ExPEC avec FQR pour les souches d'*E. coli*.

Phylogroupe	Clonotype	UPEC (n=18)	ExPEC (n=29)	NLF (n=4)	MDR	FQR (n=25)
B2	17 CH40-30	15	16	0	17	17
	01 CH14-64	1	1	1	01	1
	02 CH108-neg	2	2	0	01	1
	01 CH1012-neg	0	0	0	01	1
D	06 CH26-5	0	6	1	06	1
	03 CH26-neg	0	3	0	03	0
B1	02 CH65-27	0	0	0	02	0
	01 CH65-32	0	0	0	01	0
	01 CH27-54	0	0	0	01	0
	01 CH7-604	0	0	0	01	0
A	01 CH11-54	0	1	0	01	1
	01 CH7-94	0	0	0	01	0
	01 CH11-neg	0	0	0	01	1
	01 CH88-neg	0	0	1	01	1
F	01 CH11-neg	0	0	1	01	1

Sur la base des données présentées dans le **Tableau 37**, diverses combinaisons phylogroupe-clonotype (PG-CH) ont été identifiées, la plupart présentant une résistance FQR. Cette résistance est totalement exprimée dans les clones CC131 et ST1193, ce qui est en accord avec les résultats de (**García-Meniño et al., 2024**). Ces deux clones à haut risque sont fréquemment associés au phénotype de multirésistance ainsi qu'aux statuts UPEC et ExPEC. Leur émergence au début des années 1990 a été favorisée par l'acquisition de facteurs de

virulence, de mutations dans la région déterminant la résistance aux quinolones (QRDR), de plasmides *IncF* et du pilus de type 1 (*fimH*) (Pitout et al., 2022a).

La dissémination mondiale des souches MDR est principalement attribuée à ces clones à haut risque, notamment B2-CC131 (CH30-40) et B2-ST1193 (CH14-64), qui présentent une résistance aux fluoroquinolones et/ou aux céphalosporines (Colpan et al., 2013; Banerjee & Johnson, 2014; Pitout & DeVinney, 2017; García-Meniño et al., 2024).

V.7.1.11-Clones à haut risque d' *E. coli*



Figure 29 : Distribution des clones à haut risque parmi les isolats : répartition des complexes clonaux CC131, CC14 et CC38.

L'analyse clonale des isolats, présentée dans la **Figure 29**, a montré que 25 isolats (soit 50 %) appartiennent à des clones à haut risque, répartis principalement entre trois complexes clonaux : CC131, majoritaire avec 68 % des isolats à haut risque, CC38 (28 %) et un unique isolat appartenant au CC14. Cette distribution confirme la nette prédominance du complexe clonal CC131, bien connu pour son rôle dans la propagation mondiale de souches d'*E. coli* résistantes aux antibiotiques (**Kocsis et al., 2022**) . Le clone CC38, longtemps négligé, est aujourd'hui considéré comme un clone pertinent. Bien qu'il soit moins fréquent, il fait partie de la « minorité significative » de producteurs de BLSE, représentant environ 12 % des souches isolées d'infections urinaires, avec un impact non négligeable sur la dissémination de la résistance. Par ailleurs, le CC14, un clone multirésistant pandémique récemment émergé du phylogroupe B2, suscite également une attention croissante. Frère du CC131, il partage une forte capacité de dissémination à l'échelle mondiale tout en présentant des caractéristiques distinctes. (**Kocsis et al., 2022**).

V.7.1.11.1- Complexes Clones *E. coli* CC131.

Depuis 2014, CC131 est reconnu comme un clone à haut risque multirésistant à diffusion internationale (**Mathers et al., 2015**), présentant un profil préoccupant de résistance aux antibiotiques, notamment aux fluoroquinolones FQR. L'identification de ce groupe clonal pandémique a été réalisée selon le protocole de (**García-Meniño et al., 2024**) pour contrôler l'émergence de cette clone, par un PCR des marqueurs de virulence *rfbO25* et *fliCH4* (**Figure 26**). Dans cette étude, un seul type *fimH30* a été identifié parmi les isolats du groupe clonal à haut risque CC131, formant le clonotype CH40-30 avec les isolats B2 *O25:H4* (**Tableau 39**), La majorité de ces souches présentaient un statut UPEC/ExPEC (**Tableau 39**) (**Tableau 40**).

Tableau 40 : Caractéristiques des isolats d'*E. coli* CC131 producteurs de CTX-M-15.

Isolats de CC131	UPEC	ExPEC	Virotypage	Profil de Résistance aux antibiotiques	FQR	<i>bla</i> _{CTX-M15}	Profil du gène de virulence
Ec4	1	1	NT	AM, CXM, CTX, CAZ, ATM, NAL, CIP, NN, SXT	1	1	<i>uidA, fyuA, yfcV, chuA, papH, iutA, KpSMII, yjaA, tspE4.C2, fumC, fimH, O25b, H4, papGII, KpsM II-K2, KpsM II-K5</i>
Ec5	1	1	NT	AM, AMC, CXM, CTX, CAZ, ATM, NAL, CIP, NN, D, SXT	1	1	<i>uidA, fyuA, yfcV, chuA, papH, iutA, KpSMII, yjaA, tspE4.C2, fumC, fimH, O25b, H4, papGII, KpsM II-K2, KpsM II-K5</i>
Ec8	1	1	F	AM, AMC, CXM, CTX, CAZ, ATM, NAL, CIP, GM, NN, SXT	1	1	<i>uidA, fyuA, yfcV, chuA, papH, iutA, KpSMII, yjaA, tspE4.C2, fumC, fimH, O25b, H4,sat, papGII, KpsM II-K2, KpsM II-K5</i>
Ec10	1	1	F	AM, AMC, CXM, CTX, CAZ, ATM, NAL, CIP, GM, NN	1	1	<i>uidA, fyuA, yfcV, chuA, papH, iutA, KpSMII, yjaA, tspE4.C2, fumC, fimH, O25b, H4,sat, papGII, KpsM II-K2, KpsM II-K5</i>
Ec19 a	1	1	F	AM, AMC, CXM, CTX, CAZ, ATM, NAL, CIP, GM, NN	1	1	<i>uidA, fyuA, yfcV, chuA, papH, iutA, KpSMII, yjaA, tspE4.C2, fumC, fimH, O25b, H4,sat, papGII, KpsM II-K2, KpsM II-K5</i>
Ec20 a	1	1	E	AM, AMC, CXM, CTX, CAZ, ATM, NAL, CIP, GM, NN	1	1	<i>uidA, fyuA, yfcV, chuA, papH, iutA, KpSMII, yjaA, tspE4.C2, fumC, fimH, O25b, H4,sat, papGII, cnfI, hlyA, KpsM II-K2, KpsM II-K2</i>
Ec22	1	1	F	AM, CXM, CTX, CAZ, ATM, NAL, CIP, GM, NN, SXT	1	1	<i>uidA, fyuA, yfcV, chuA, papH, iutA, KpSMII, yjaA, tspE4.C2, fumC, fimH, O25b, H4,sat, papGII, KpsM II-K2, KpsM II-K5,</i>
Ec23	1	0	NT	AM, AMC, CXM, CTX, CAZ, ATM, NAL, CIP, NN, D, FM, SXT	1	1	<i>uidA, fyuA, yfcV, chuA, papH, yjaA, tspE4.C2, fumC, fimH, O25b, H4, papGII</i>
Ec28	1	1	NT	AM, AMC, CXM, CTX, CAZ, ATM, NAL, CIP, GM, NN, SXT	1	1	<i>uidA, fyuA, yfcV, chuA, papH, iutA, yjaA, tspE4.C2, fumC, fimH, O25b, H4,sat, papGII</i>
Ec30	1	1	NT	AM, AMC, CXM, CTX, FOX, CAZ, ETP, ATM, NAL, CIP, SXT	1	1	<i>uidA, fyuA, yfcV, chuA, papH, iutA, yjaA, tspE4.C2, fumC, fimH, O25b, H4,sat, papGII</i>

Partie Expérimentale
Chapitre V : Résultats et discussion

Ec31	1	1	NT	AM, AMC, CXM, CTX, FOX, CAZ, ATM, NAL, CIP, GM, NN, D, SXT	1	1	<i>uidA, fyuA, yfcV, chuA, papH, iutA, yjaA, tspE4.C2, fumC, fimH, O25b, H4,sat, papGII</i>
Ec41	0	1	F	AM, AMC, CXM, CTX, CAZ, ATM, NAL, CIP, GM, NN, D, SXT	1	1	<i>uidA, chuA, iutA, KpSMII, yjaA, tspE4.C2, fumC, fimH, O25b, H4,sat, papGII, KpsM II-K2, KpsM II-K5</i>
Ec43	1	1	F	AM, AMC, CXM, CTX, CAZ, ATM, NAL, CIP, GM, NN, SXT	1	1	<i>uidA, fyuA, yfcV, chuA, papH, iutA, KpSMII, yjaA, tspE4.C2, fumC, fimH, O25b, H4,sat, papGII, KpsM II-K2, KpsM II-5,</i>
Ec45	1	1	NT	AM, AMC, CXM, CTX, CAZ, ATM, NAL, CIP, GM, NN, D, FM, SXT	1	1	<i>uidA, fyuA, yfcV, chuA, papH, iutA, yjaA, tspE4.C2, fumC, fimH, O25b, H4,sat, papGII</i>
Ec52	1	1	F	AM, AMC, CXM, CTX, CAZ, ATM, NAL, CIP, GM, NN, SXT	1	1	<i>uidA, fyuA, yfcV, chuA, papH, iutA, KpSMII, yjaA, tspE4.C2, fumC, fimH, O25b, H4,sat, papGII, KpsM II-K2, KpsM II-K5,</i>
Ec55 a	1	1	E	AM, AMC, CXM, CTX, CAZ, ATM, NAL, CIP, GM, NN	1	1	<i>uidA, fyuA, yfcV, chuA, papH, iutA, KpSMII, yjaA, tspE4.C2, fumC, fimH, O25b, H4,sat, papGII, cnfI, hlyA, KpsM II-K2, KpsM II-K5,</i>
<u>Ec57</u>	0	1	E	AM, AMC, CXM, CTX, FOX, CAZ, ATM, NAL, CIP, GM, NN, D, TGC, FOS, SXT, C	1	1	<i>uidA, yfcV, chuA, papH, iutA, KpSMII, yjaA, tspE4.C2, fumC, fimH, O25b, H4,sat, papGII, cnfI, hlyA, KpsM II-K2, KpsM II-K5</i>

NT : not typed

Par ailleurs, un niveau élevé de résistance a été observé vis-à-vis de l'ampicilline, l'amoxicilline/acide clavulanique, les céphalosporines, les aminosides (à l'exception de l'amikacine), le sulfaméthoxazole, l'acide nalidixique et l'aztréonam. En revanche, une faible résistance a été notée pour le chloramphénicol, la fosfomycine, la glécéyne et l'ertapénem, ces souches sont FQR et MDR (**Tableau 39**) (**Tableau 40**). Des taux élevés de FQR dans les isolats de CC131 ont également été signalés en Arabie Saoudite (**Yasir et al., 2018**) et en Espagne (**García-Meniño et al., 2024**). Par la résistance de ce clone les céphalosporines, est fréquemment associé à la production de BLSE, en particulier *blaCTX-M-15* (**Dahbi et al., 2014**).

La présence d'isolats producteurs de *blaCTX-M-15* au sein du clone CC131 représente une double menace en raison de leur taux de résistance élevé et de leur importante capacité de virulence extra-intestinale (**Tableau 40**). Ce complexe clonal est devenu un agent pathogène majeur des infections urinaires (**García-Meniño et al., 2022b, 2024**).

L'analyse du **Tableau 40** révèle que les isolats *CTX-M-15*-CC131 sont particulièrement virulents, en particulier ceux associés au virotype E. Il est à noter que l'isolat Ec57 a été classé comme XDR, résistant à la fosfomycine, et associé aux infections urinaires. La présence d'isolats XDR producteurs de *blaCTX-M-15* appartenant au clone CC131 et résistante à Fosfomycine pourrait compliquer le traitement et favoriser l'émergence de nouvelles résistances, cette découverte est rarement rapportée dans le bassin méditerranéen. Cependant, un cas similaire a été documenté en Italie (**Chudejova et al., 2024**). Cet isolat XDR a été isolée chez un enfant garçon (1 ans). De plus, un autre isolat CC131 (EC19a) a été isolé chez un autre enfant garçon (2ans). L'émergence d'*E. coli* MDR-*blaCTX-M-15* CC131 chez des garçons de moins de deux ans pourrait être liée à la circoncision masculine, une pratique courante en Algérie chez les nouveau-nés et les jeunes enfants. La présence de ce clone chez les nourrissons dans des contextes ambulatoires est cohérente avec les résultats de (**Cheng et al., 2015**).

Par ailleurs, CC131 a également été associé à la production de carbapénémases dans certains cas (**Mantengoli et al., 2011; Moghadam et al., 2021; Piazza et al., 2024**). Dans notre étude, les résultats de l'antibiogramme ont révélé un isolat unique résistant à l'ertapénem (Ec30) qui s'est avéré négatif pour tous les gènes de carbapénémase testés (*blaVIM*, *blaIMP*, *blaOXA-48*, *blaKPC*, *blaNDM*).

✓ **Emergence de clone CC131 en Algérie**

Tableau 41 : Distribution temporelle et sources d'isolement du clone CC131 producteur de *blaCTX-M-15* en Algérie.

Année	Contexte / Source	Nombre des souche/ production d'BLSE	Localisation	Référence	Remarque
2013	Isolat clinique (milieu hospitalier)	01	Telemcen	(Baba Ahmed-Kazi Tani et al., 2013)	Première détection signalée en Algérie
2014	Isolat clinique (milieu hospitalier)	01	Constantine	(Agabou et al., 2014b)	Confirmation de la circulation clinique
2015	Poissons de la mer Méditerranée	01 (CTX-M-15 producteur)	Côte algérienne	(Brahmi et al., 2015)	Première détection dans la mer Méditerranée
2017	matières fécales d'animaux sauvages	3 (CTX-M-15 producteurs)	Forêts de Béjaïa et Jijel	(Bachiri et al., 2017)	Prévalence de 10 % (3/30) réservoir animal potentiel identifié
2017	Isolat clinique (milieu communautaire)	01 (CTX-M-15 producteur)	Béjaïa	(Yanat et al., 2017)	Circulation dans la population humaine hors hôpital
2021	aliment d'origine animale	02 (CTX-M-15 producteurs)	Djelfa	(Chenouf et al., 2021)	Présence dans la chaîne alimentaire
2025	Isolats urinaires (milieu hospitalier et communautaire)	17 (CTX-M-15 producteurs),	Tébessa	(Ziadi et al., 2025) (Notre Etude)	hausse marquée de la prévalence (17/50,34%)

✓ **Note :** Aucun clonotypage n'a été réalisé dans ces études pour confirmer l'appartenance des isolats au clonotype humain **CH40-30**, ce qui représente une limite importante pour la traçabilité du clone en milieu clinique

Le clone CC131 a été rapporté en Algérie à partir de diverses sources, notamment des échantillons cliniques humains (Baba Ahmed-Kazi Tani et al., 2013 , Agabou et al., 2014b)), des souches uropathogènes d'*E. coli* provenant de patients non hospitalisés (Yanat et al., 2017), des poissons (Brahmi et al., 2015), des aliments (Chenouf et al., 2021) et de la faune sauvage (Bachiri et al., 2017) (Tableau 42), ce qui témoigne de sa large distribution à travers le pays. Toutefois, la caractérisation moléculaire détaillée du clone CC131 en Algérie demeure limitée. Notre étude se concentre sur les profils de résistance et les gènes de virulence (Tableau 41).

Nos résultats indiquent aussi une prévalence plus élevée du clone CC131 productrices aux *blaCTX-M15* dans les isolats d'origine humaine par rapport aux études précédentes, en particulier dans le bassin méditerranéen. Ce clone a également été signalé en Tunisie (Ferjani et al., 2014; Dziri et al., 2020; Hammami et al., 2013), au Maroc (Ambroise et al., 2021), en Égypte (Abdelrahim et al., 2024; Hassuna et al., 2024), au Portugal (Pomba et al., 2014; Rodrigues et al., 2017), en Italie (Cerquetti et al., 2010; Giuffrè et al., 2013; Piazza et al., 2024), en France (Birgy, Levy, et al., 2019; Flament-Simon et al., 2020) et en Espagne (Flament-Simon et al., 2020; García-Meniño et al., 2024). Des études menées en France et en Espagne ont révélé une forte prévalence de ce clone, mais avec différentes variantes de *fimH*, tandis que dans notre étude, seul *fimH40* a été détecté. En revanche, des recherches menées en France et en Espagne ont identifié une diversité de types *fimH* (Flament-Simon et al., 2020; García-Meniño et al., 2024)

✓ Virtypage de CC113

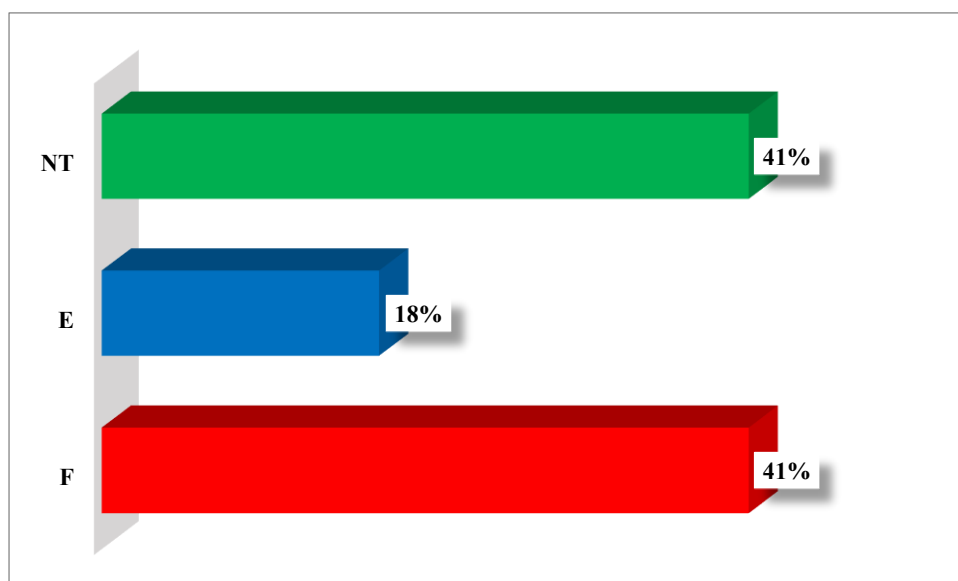


Figure 30: Virotypage de CC131

Étant donné que CC131 est aujourd'hui reconnu comme le principal lignage à haut risque dans les infections à *E. coli* (ExPEC), sa forte prévalence dans notre étude n'est pas surprenante. Une partie de ces isolats a été classée dans les virotypes F 7 sur 17 (41,1 %) et E 3 sur 17 (17,6 %) (**Figure 30**), ce qui concorde avec les études précédentes (**Flament-Simon et al., 2020; Pajand et al., 2021**). À l'inverse, (**García-Meniño et al., 2024**) ont signalé une faible prévalence du virotype F, tandis qu'une étude menée au Brésil n'a détecté aucun de ces deux virotypes (**Campos et al., 2018**).

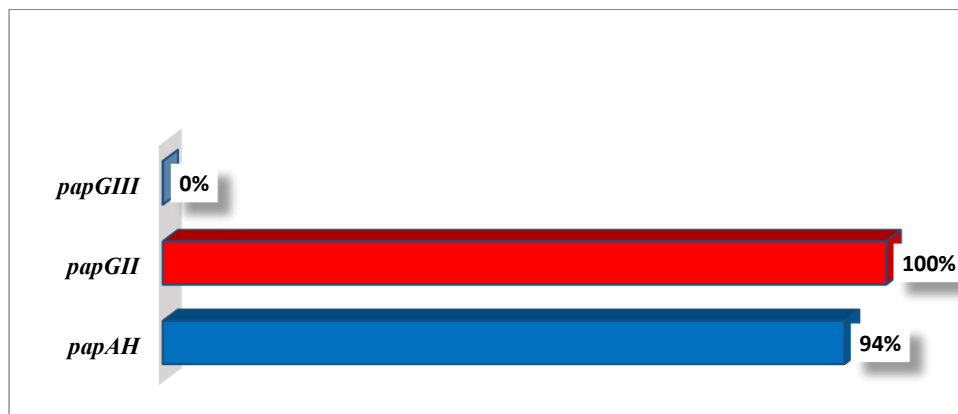


Figure 31 : Fréquence des gènes *papAH*, *papGII* et *papAIII* chez les isolats ST131 responsables de pyélonéphrites.

Chez les isolats appartenant au clone CC131, la présence de plusieurs gènes de virulence a été analysée afin d'évaluer leur potentiel uropathogène. En particulier, les gènes *papAH*, *papGII* et *papAIII*, impliqués dans les pyélonéphrites (**Ambite et al., 2019; Tanaka et al., 2025**), ont été analysés. Le gène *papAH* a été ciblé pour évaluer le statut ExPEC, tandis que *papGII* et *papAIII* ont été inclus dans le schéma de virulotypage spécifique au CC131. Les résultats montrent que *papAH* a été détecté chez 16 isolats, *papGII* chez 17 isolats, tandis qu'aucun isolat n'exprimait *papAIII* (**Figure 31**). Ces gènes codent pour les *pili P*, structures spécialisées dans l'adhésion à l'épithélium rénal, facilitant ainsi l'invasion et la persistance bactérienne. La détection de *papGII* en particulier confirme le fort potentiel virulent du clone ST131 et leur implication dans les infections urinaires sévères (**Mora et al., 2014; Ambite et al., 2019; Biggel et al., 2020; Tanaka et al., 2025**). D'ailleurs, les isolats porteurs de *PapGII* présentent des scores de virulence plus élevés que ceux porteurs de *PapAIII*, bien que ces derniers conservent aussi un haut potentiel pathogène (**Kudinha & Kong, 2022**).

✓ **Virotipe E chez ST131 : co-expression de *papGII*, *cnf1* et *hlyA***

Une co-occurrence des gènes *papGII*, *cnfI* et *hlyA* a été observée dans certaines souches du clone ST131 (**Tableau 40**). Cette combinaison de gènes définit le virotype E, identifié dans 17,6 % des isolats ST131. Bien que ce virotype ne soit pas majoritaire, il est cliniquement significatif en raison de la synergie virulente entre ces trois facteurs : *papGII*, *cnfI* et *hlyA*.

- *papGII* : ce gène code pour une adhésine des pili P, facilitant l'attachement aux cellules de l'épithélium rénal. Il est fortement associé aux infections hautes des voies urinaires, notamment la pyélonéphrite (**Kudinha & Kong, 2022**) ;
- *cnfI* : ce gène encode la toxine Cytotoxic Necrotizing Factor 1, produite par des souches UPEC impliquées dans des cystites, pyélonéphrites et prostatites. CNF1 active de manière constitutive les *GTPases Rho* (*RhoA*, *Rac1*, *Cdc42*) en désamidant des résidus clés, provoquant une réorganisation profonde du cytosquelette d'actine. Cela induit des altérations cellulaires (lamellipodes, filopodes, stress fibers) et une cytotoxicité directe dans les cellules urotéliales, facilitant la colonisation des couches profondes de l'urothélium (**Mills et al., 2000**) ;
- *HlyA* est une toxine hémolytique clé dans la pathogénicité des UPEC, *HlyA* joue un double rôle : elle exerce des effets cytotoxiques aigus et favorise la persistance intracellulaire à long terme. En inhibant l'acidification lysosomale et en perturbant les microtubules cellulaires, *HlyA* assure la survie des bactéries dans les cellules épithéliales de la vessie (**Naskar et al., 2023**).

La co-expression de *papGII*, *cnfI* et *hlyA* chez certaines souches ST131 met en évidence un phénotype hautement virulent, caractéristique du virotype E. Cette combinaison génétique confère à ces isolats une capacité accrue de colonisation, de persistance et de destruction tissulaire dans les voies urinaires. Ainsi, le clone ST131, déjà reconnu pour sa dissémination mondiale et sa multirésistance, qui peut compliquer le traitement.

V.7.1.11.2- Complexe Clonal CC14 : Première Détection en Algérie

Le clone ST1193 est considéré comme une lignée pathogène émergente d'*Escherichia coli* (**T. J. Johnson et al., 2019; Wyrsh et al., 2022**) typiquement associée au sérotype O75, aux pili de type 1 *fimH64*, et aux types capsulaires K1 ou K5. Ce clone se caractérise également par FQR et NLF (**Pitout et al., 2022b**).

Sur la base de l'analyse phénotypique, nous avons identifié une souche d'*Escherichia coli* MDR, NLF, appartenant au groupe phylogénétique B2 et au clonotype CH14-64. La PCR positive pour le gène *h5* renforce cette caractérisation (**Tableau 42**). L'ensemble de ces éléments est compatible avec le profil du lignage ST1193 (CC14), en accord avec les données rapportées par (**García-Meniño et al., 2024; Pitout et al., 2022b**). La souche *E. coli* Ec1b/LREC468 a été isolée en novembre 2023 chez une femme de 34 ans, au laboratoire de l'EPH Bouguerra Boularaas (Tébessa). Elle présentait à la fois les statuts UPEC et ExPEC, ainsi qu'une FQR (**Tableau 42**), des caractéristiques typiquement associées au *E.coli* ST1193 (**García-Meniño et al., 2022a; Pitout et al., 2022b; García-Meniño et al., 2024**).

À ce jour, aucun rapport n'a documenté la présence de ce clone en Algérie.

Tableau 42: Caractéristiques préliminaire de l'isolat d'*E. coli* Ec1b/LREC468.

Caractéristique	Description / Résultat
Isolat	<i>E. coli</i> Ec1b/LREC468
Source clinique	Femme de 34 ans - EPH Bouguerra Boularaas, Tébessa
Date d'isolement	Novembre 2023
Fermentation du lactose	NLF
Profil de résistance	MDR et FQR
Groupe phylogénétique	B2
Clonotype	CH14-64
Statut UPEC	Positif
Statut ExPEC	Positif
Gène de virulence détecté	<i>h5</i>
Résistance phénotypique ^h	AMP, AMC, CXM, CAZ, CTX, ATM, NAL, CIP, GEN
Gène de résistance détecté	<i>blaCTX-M-15</i>
Importance de la surveillance	<i>Première détection génomique en Algérie ; souligne une dissémination silencieuse transcontinentale</i>

V.7.1.11.2.1- Caractérisation in silico du colne ST1193

L'isolat NLF B2-CH14-64 a été soumis à un séquençage génomique complet (WGS) et à une analyse in silico à l'aide d'outils bioinformatiques du Center for Genomic Epidemiology.

L'analyse de sérotypage avec *SerotypeFinder* a identifié le sérotype *O75:H5*, tandis que *CHTyper* a confirmé son clonotype comme CH14-64. Le typage multilocus (MLST) basé sur le schéma à sept gènes d'Atchman a attribué le type de séquence ST1193, tandis que le schéma alternatif à huit gènes (*dinB*, *icdA*, *pabB*, *polB*, *putP*, *trpA*, *trpB* et *uidA*) (Jaureguy et al., 2008) a prédit le type ST53 (Tableau 43). L'analyse MLST du génome central (cgMLST), basée sur 2513 loci, a attribué l'isolat au cgST140226

Tableau 43 : Caractérisation du génome ST1193 in silico.

Identifiant de l'isolat/génome^a	Ec1a / LREC-468
Statut	Lignée pathogène émergente
Antigènes O:H^b	<i>O75:H5</i>
Clonotype	CH14-64
ST1 / ST2^c	1193 / 53
cgMLST^d	140226

V.7.1.11.2.1.1- Resistance aux antibiotiques in silico

Chaque année, les humains produisent et consomment environ 170 000 tonnes d'antibiotiques, une utilisation massive qui rend inévitable l'émergence d'une urgence sanitaire mondiale liée à la résistance aux antimicrobiens (RAM), touchant les populations humaines, animales ainsi que les écosystèmes environnementaux (M. Y. Ahmed et al., 2024).

Par l'analyse in silico et [The Comprehensive Antibiotic Resistance Database](#), on trouve :

a) Resistance aux aminoglycosides et aux fluoroquinolones

Les résultats montrent que notre souche porte des gènes de résistance acquis aux aminoglycosides et aux FQs, notamment *aac(3)-Iia* et *aac(6')-Ib* (aminoglycoside 6'-N-acétyltransférases) (Tableau 44) qui possèdent une activité particulière qui leur permet de conférer une double résistance aux aminoglycosides (par acétylation classique du groupe

amino), et aux FQs, par un mécanisme d'acétylation directe des FQs, en particulier la ciprofloxacine [The Comprehensive Antibiotic Resistance Database](#),. Alors, ces données expliquent la résistance observée au ciprofloxacine et à la gentamicine dans notre étude (**Tableau 42**). Cependant, bien que le gène *aac(6')-Ib*, connu pour conférer une résistance à l'amikacine, ait été détecté par ResFinder, la souche s'est révélée phénotypiquement sensible à cet antibiotique lors des tests de sensibilité (**Tableau 42**) (**Tableau 44**). Cette observation a été renforcée par les résultats du serveur ResFinderFG, qui a identifié un gène fonctionnel codant une AAC (aminoglycoside acetyltransferase) ciblant spécifiquement l'amikacine (**Tableau 45**). Or, malgré la présence de ces gènes, aucune résistance n'a été observée sur le plan phénotypique.

La résistance aux aminoglycosides est généralement liée à l'action d'acétyltransférases, des enzymes modifiant ces antibiotiques, dont l'expression varie selon les souches bactériennes et qui sont fréquemment retrouvées chez les Enterobacterales (M. Y. Ahmed et al., 2024). Ainsi, cette discordance entre génotype et phénotype peut s'expliquer par une faible expression du gène, une absence ou inactivation de promoteurs ou de régulateurs, ou encore par des mutations affectant la fonctionnalité de la protéine.

En complément de ces résultats, plusieurs mutations ponctuelles associées à la FQR ont été identifiées, notamment *gyrA p.S83L*, *gyrA p.D87N*, *parC p.S80I* et *parE p.L416F*. Ces mutations sont bien connues pour conférer une résistance élevée aux FQs, en altérant les cibles de ces antibiotiques (ADN gyrase et topoisomérase IV). Ces mécanismes moléculaires favorisent la persistance et la dissémination des clones résistants, comme ST1193, dans divers contextes géographiques et cliniques. L'analyse génétique menée via ResFinder a confirmé la présence de ces mutations (**Tableau 44**), et les tests de sensibilité phénotypique ont corroboré ces données en montrant une résistance au ciprofloxacine (**Figure 42**). En complément de ces résultats, plusieurs mutations ponctuelles associées à la FQR ont été identifiées, notamment *gyrA p.S83L*, *gyrA p.D87N*, *parC p.S80I* et *parE p.L416F*. Ces mutations sont bien connues pour conférer une résistance élevée aux FQs, en altérant les cibles de ces antibiotiques (ADN gyrase et topoisomérase IV). Ces mécanismes moléculaires favorisent la persistance et la dissémination des clones résistants, comme ST1193, dans divers contextes géographiques et cliniques. L'analyse génétique menée via ResFinder a confirmé la présence de ces mutations (**Tableau 44**), et les tests de sensibilité phénotypique ont corroboré ces données en montrant une résistance au ciprofloxacine (**Figure 42**).

b) Résistance aux beta lactams

Le clone ST1193 est un producteur de *blaCTX-M-15* (**Tableau 42**) (**Tableau 44**) qui limite l'efficacité des céphalosporines de 3^e génération, nécessitant des traitements de secours. Nos résultats sont cohérents avec des études récentes menées en Europe, qui rapportent une faible prévalence de ce clone en Espagne et en France (**Flament-Simon et al., 2020**). Toutefois, alors que le gène *blaCTX-M-15* n'était pas associé à ce clone en Espagne (**García-Meniño et al., 2024**), il a été identifié chez des cas pédiatriques en France (**Birgy, Levy, et al., 2019**). Ce clone a également été signalé en Allemagne (**Valenza et al., 2019a**) et en Suède (**Oldendorff et al., 2022**). En Chine, une forte prévalence du clone multirésistant E. coli ST1193 producteur de BLSE et résistant aux fluoroquinolones a été rapportée, en particulier dans les infections urinaires (**Quan et al., 2021**). Les données sur la présence de ce clone en Afrique sont très limitées. (**Decano et al., 2021**) ont identifié quatre souches productrices de *blaTEM-220* en Ouganda et au Kenya, bien que celles-ci portaient *fimH41*, un allèle différent de celui retrouvé dans notre isolat.

Le gène *blaOXA-1* code pour une oxacillinease, une enzyme de la famille des β -lactamases, qui cible principalement les pénicillines. Son expression augmente significativement la résistance à cette classe d'antibiotiques, réduisant ainsi les options thérapeutiques disponibles. Bien que moins fréquent que d'autres gènes de résistance aux β -lactamines, *blaOXA-1* joue un rôle crucial dans l'amplification de la résistance aux pénicillines (**Tableau 44**).

c) Résistance aux chloramphénicol

Par ailleurs, le gène *catB3* est responsable de la résistance au chloramphénicol. Il code une chloramphénicol acétyltransférase, une enzyme qui inactive cet antibiotique par acétylation. Ce gène est largement répandu parmi les souches bactériennes résistantes au chloramphénicol et constitue un mécanisme de résistance bien établi pour cet antibiotique à usage restreint, il est détecté par Resfinder (**Tableau 44**) et ResFinderFG (**Tableau 45**).

Tableau 44: Gènes de résistance acquis et mutations ponctuelles associés à la multirésistance chez *E.coli* ST1193.

Type de résistance	Gène / Mutation	Fonction / Rôle	Antibiotiques ciblés	Impact clinique	Remarques supplémentaires
Résistances acquises	<i>aac(3)-Iia</i>	Code pour une acétyltransférase 3-N, modifie certains aminoglycosides.	Aminoglycosides (gentamicine, tobramycine)	Réduit l'efficacité des aminoglycosides, augmentant la durée d'hospitalisation.	Présent dans de nombreux clones résistants aux aminoglycosides.
	<i>aac(6')-Ib-cr</i>	Variante du gène <i>aac(6')-Ib</i> , modifie également les fluoroquinolones.	Aminoglycosides, fluoroquinolones	Résistance croisée avec les fluoroquinolones .	Peut compliquer le traitement des infections multirésistantes.
	<i>blaCTX-M-15</i>	Code une BLSE qui hydrolyse les céphalosporines.	Céphalosporines de 3 ^e génération (céfotaxime, céftriaxone)	Limite l'efficacité des céphalosporines de 3 ^e génération, nécessitant des traitements de secours.	Fréquent dans les souches <i>E. coli</i> multirésistantes.
	<i>blaOXA-1</i>	Code une oxacillinase, inactive certaines pénicillines et céphalosporines.	Pénicillines, céphalosporines	Augmente la résistance aux pénicillines, rendant les options thérapeutiques moins nombreuses.	Moins commun que d'autres gènes de résistance, mais essentiel pour l'augmentation de la résistance.

Partie Expérimentale
Chapitre V : Résultats et discussion

	<i>catB3</i>	Code pour une chloramphénicol acétyltransférase qui inactive le chloramphénicol.	Chloramphénicol	Inactive le chloramphénicol, limitant son utilisation dans les infections graves.	Très répandu dans les bactéries résistantes au chloramphénicol.
Mutations ponctuelles	<i>gyrA</i> <i>p.S83L</i>	Mutation dans la sous-unité A de l'ADN gyrase, réduit l'affinité des FQs.	FQ (ciprofloxacine, lévofloxacine)	Réduit l'efficacité FQs, augmentant le taux d'échec thérapeutique.	L'une des mutations les plus courantes dans les souches résistantes.
	<i>gyrA</i> <i>p.D87N</i>	Mutation dans la sous-unité A de l'ADN gyrase, renforce FQR.	FQs	Associée à des niveaux plus élevés de FQR.	Cette mutation souvent combinée avec <i>S83L</i> , accentue la résistance.
	<i>parC</i> <i>p.S80I</i>	Mutation dans la topoisomérase IV (sous-unité C), cible FQs.	FQs	Interfère avec l'activité FQs, rendant leur utilisation inefficace.	Cette mutation est souvent retrouvée avec d'autres mutations <i>gyrA</i> .
	<i>parE</i> <i>p.L416F</i>	Mutation dans la topoisomérase IV (sous-unité E), amplifie la résistance.	FQs	Résistance accrue aux FQs, même si cette mutation est moins fréquente.	Combinaison avec d'autres mutations génétiques pour une résistance plus forte.

Tableau 45 : Détection de gènes de résistance aux antibiotiques par génomique fonctionnelle (ResFinderFG).

Gène	Antibiotique ciblé
<i>van_ligase</i>	D-cycloserine
<i>beta_lactamase</i>	Aztreonam
<i>Cat</i>	Chloramphénicol
<i>AAC (aminoglycoside acetyltransferase)</i>	Amikacine
<i>Dfr</i>	Cotrimoxazole

Tous les mécanismes identifiés dans cette étude sont considérés comme des facteurs majeurs de la résistance intrinsèque et acquise aux multi-antibiotiques chez les bactéries à Gram négatif. Nos résultats montrent que le séquençage du génome entier (WGS) permet de prédire de manière fiable les mécanismes de résistance aux antibiotiques chez les Enterobacterales. En raison de son temps d'analyse réduit, l'usage du WGS se généralise rapidement dans les laboratoires de diagnostic clinique, rendant les données génétiques plus accessibles et exploitables en routine (M. Y. Ahmed et al., 2024).

V.7.1.10.2.1.2- Facteurs de virulence in silico

Dans cette étude, les facteurs de virulence de clone ST1193 ont été identifiés à l'aide de VirulenceFinder 2.0 et ont été confirmées à travers la base de données VFDB ([VFDB - pathogenesis of Escherichia](#), [VFDB: Virulence Factors of Bacterial Pathogens](#)), and as described by, (Sarowska et al., 2019; Pakbin et al., 2021). Cependant, les gènes de captation du fer jouent un rôle crucial dans la survie des UPEC sous des conditions de restriction en fer, permettant aux bactéries de prospérer et de persister dans l'environnement de l'hôte (Garcia et al., 2011). De plus, le système Gad a été identifié comme un facteur de virulence chez UPEC, aidant *E. coli* à survivre sous des conditions de stress acide. Le système Gad contribue à la capacité de la bactérie à résister à des environnements à faible pH, bien qu'il ne soit pas considéré comme un facteur de virulence majeur (Castanié-Cornet et al., 2010) (Tableau 46).

Le profil de virulence a révélé un large éventail de facteurs de virulence, notamment *vat*, *fyuA*, *yfcV*, *chuA*, *iutA* et *kpsM II*, confirmant son statut de UPEC et ExPEC. Nos résultats corroborent des études récentes mettant en évidence la virulence et l'importance clinique de ce

clone (Wu et al., 2017; Dantas et al., 2024). L'analyse génomique a mis en évidence des caractéristiques typiques des isolats ST1193 à diffusion mondiale (García-Meniño et al., 2022b; Pitout et al., 2022b), notamment la présence du type capsulaire *K1* et des mutations *gyrA* (S83L, D87N), *parC* (S80I) et *parE* (L416F), typiquement associé au sérotype *O75*, aux *pili fimH64*, et aux capsules *K1* ou *K5*, et par son incapacité à fermenter le lactose

Tableau 46: Gènes de virulence de ST1193 in silico.

Gène de virulence	Facteur de virulence	Catégorie	Fonction de la protéine
sulfatase putative	<i>AslA</i>	-	-
récepteur de l'hémine de la membrane externe	<i>ChuA</i>	Facteur nutritionnel/Métabolique	Récepteur de l'hémine de la membrane externe permettant à E. coli de récupérer du fer à partir des hémoprotéines de l'hôte, soutenant la croissance bactérienne dans les environnements hôtes limités en fer, comme lors des infections urinaires (UTI).
sous-unité majeure de la curlin CsgA	<i>CsgA</i>	Adhésines/Colonisation	Sous-unité majeure de la curlin CsgA. Les fibres de curli composent jusqu'à 85% de la biomasse du biofilm.
adhésine de type intimin-like	<i>FdeC</i>	Adhésines/Colonisation	Adhésion aux cellules épithéliales.
fimbriae de type 1	<i>FimH</i>	Adhésines/Colonisation	Adhésion aux cellules hôtes, aide à l'absorption de fer, utilisée par les pathogènes pour surmonter la résistance de l'hôte.
récepteur de sidérophore	<i>FyuA</i>	Acquisition de fer	Récepteur de sidérophore, aide UPEC à survivre en améliorant l'absorption du fer dans des conditions de carence en fer.
décarboxylation de glutamate	<i>Gad</i>	Facteur nutritionnel/Métabolique	Le système gad aide E. coli à survivre au stress acide (facteur de virulence majeur pour UPEC).
protéine d'adhésion	<i>Iha</i>	Adhésines/Acquisition de fer	Facilite la liaison aux cellules uropathéliales, aide UPEC à survivre en augmentant l'absorption du fer dans des conditions de carence en fer.
protéine de haut poids moléculaire 2	<i>Irp2</i>	Acquisition de fer	Protéine de haut poids moléculaire 2, synthétase de peptides non ribosomiques, aide à la survie en améliorant l'absorption du fer.

Partie Expérimentale
Chapitre V : Résultats et discussion

synthétase d'aérobactine	<i>IucC</i>	Facteur nutritionnel/Métabolique	Synthétase de l'aérobactine, sidérophore permettant l'acquisition de fer dans le système hôte.
récepteur d'aérobactine ferrique	<i>IutA</i>	Facteur nutritionnel/Métabolique	Facilite l'absorption du fer lié à l'aérobactine, crucial pour la virulence des souches UPEC et ExPEC.
protéine de transport de la capsule	<i>KpsE</i>	Invasion	Protéine de transport de la capsule, confère l'invasivité et module le trafic des vacuoles contenant E. coli dans les cellules endothéliales des microvaisseaux cérébraux.
protéine de transport de l'acide polysialique	<i>KpsMII_K1</i>	Invasion	Protéine de transport de l'acide polysialique, facteur de protection contre la phagocytose et facteur de propagation.
protéine de biosynthèse de la capsule à acide polysialique	<i>NeuC</i>	Invasion	Protéine de biosynthèse de la capsule à acide polysialique.
précurseur de lipoprotéine NlpI	<i>NlpI</i>	Invasion	Précurseur de la lipoprotéine NlpI.
protéase de membrane externe	<i>OmpT</i>	Invasion	Protéase de membrane externe, favorise la survie intracellulaire et l'évasion des défenses de l'hôte.
sous-unité majeure des pilines F43	<i>PapA_F43</i>	Adhésion	Sous-unité majeure des pilines F43, stimule la production de cytokines par les lymphocytes T, facteur de colonisation dans les infections extra-intestinales.
toxine autotransportée sécrétée	<i>Sat</i>	Système de livraison des effecteurs	Cytotoxine vacuolante exprimée par UPEC, provoque des dommages définis à l'épithélium rénal lors des infections urinaires supérieures.
homologues du gène SHI-2 de Shigella flexneri	<i>ShiA</i>	Invasion	Impliqué dans l'invasion bactérienne, la pathogénie et la virulence.

Partie Expérimentale
Chapitre V : Résultats et discussion

protéine de transport du fer	<i>SitA</i>	Acquisition de fer	Protéine de transport du fer, permet l'absorption du fer dans des conditions de restriction.
protéine de résistance aux ions tellurium	<i>TerC</i>	Toxicité	Confère la résistance aux ions tellurium.
déterminant d'invasion	<i>Tia</i>	Invasion	Déterminant d'invasion, favorise l'invasion bactérienne dans les cellules hôtes.
protéine spécifique uropathogène	<i>Usp</i>	Protéine spécifique Uropathogène	Impliqué dans la pathogénie de UPEC, potentiellement en neutralisant les environnements acides.
toxine autotransportée vacuolante	<i>Vat</i>	Système de livraison des effecteurs	Induit des dommages cellulaires, formation de vacuoles et dysrégulation de la barrière urothéliale des cellules épithéliales de la vessie.
lipoprotéine de la membrane externe du cluster fimbrial YHD	<i>YehA</i>	Adhésion	Impliqué dans l'adhésion aux tissus hôtes et la formation de biofilm.
usher du cluster fimbrial YHD	<i>YehB</i>	Adhésion	Impliqué dans l'adhésion aux tissus hôtes et la formation de biofilm.
chaperone du cluster fimbrial YHD	<i>YehC</i>	Adhésion	Impliqué dans l'adhésion aux tissus hôtes et la formation de biofilm.
sous-unité majeure du pilin du cluster fimbrial YHD	<i>YehD</i>	Adhésion	Impliqué dans l'adhésion aux tissus hôtes et la formation de biofilm.
protéine imbriale	<i>YfcV</i>	Formation des pili pour l'adhésion	Impliquée dans l'adhésion et la colonisation de l'appareil urinaire, facteur de virulence dans les souches UPEC et ExPEC.

V.7.1.11.2.1.2- Analyse plasmidique in silico

L'analyse du plasmidome de l'isolat *E. coli* ST1193 a révélé la présence de plasmides de types *IncF* [*F*-:*A1*:*B10*], *IncII-I(Alpha)*, ainsi que de petits plasmides de type ColBS512-like. Ces éléments génétiques sont connus pour porter des gènes de résistance et de virulence, facilitant ainsi la dissémination des clones multirésistants. Une étude génomique à grande échelle (T. J. Johnson et al., 2019) a proposé une classification des isolats ST1193 en différents clades en fonction du type capsulaire et de la composition des plasmides *IncF*. Selon cette classification, on distingue : le clade A (capsule *K5*, plasmides *F*-:*A1*:*B20*), le sous-clade B1 (capsule *K1*, plasmides *F*-:*A1*:*B10*), et le sous-clade B2 (capsule *K1*, plasmides *F*-:*A1*:*B1*) (T. J. Johnson et al., 2019; Pitout et al., 2022a). Sur cette base, l'analyse génomique a permis d'identifier notre isolat au sous-clade B2 (**Tableau 47**), ce qui suggère un profil génétique distinct au sein du clone ST1193, potentiellement associé à des capacités accrues de dissémination ou de virulence.

Tableau 47 : Caractéristiques plasmidiques et classification phylogénétique de l'isolat *E. coli* ST1193 in silico.

Élément génétique/ Clade	Description
Plasmides identifiés	
<i>IncF</i> [<i>F</i> -: <i>A1</i> : <i>B10</i>]	Plasmide multirésistance fréquemment associé au clone ST1193
<i>IncII-I(Alpha)</i>	Plasmide conjugué portant souvent des gènes de résistance
ColBS512-like	Petit plasmide non conjuguatif ; rôle potentiel dans la stabilité génétique
Classification génomique	
Clade A	Capsule <i>K5</i> , plasmides <i>F</i> -: <i>A1</i> : <i>B20</i>
Sous-clade B1	Capsule <i>K1</i> , plasmides <i>F</i> -: <i>A1</i> : <i>B10</i>
Sous-clade B2 (notre isolat)	Capsule <i>K1</i> , plasmides <i>F</i> -: <i>A1</i> : <i>B1</i>

V.7.1.11.2.1.3- Prediction l'origine de clone in silico

L'analyse effectuée avec Pathogen Finder a prédit qu'isolat est un pathogène humain. Cette prédiction suggère que la souche étudiée possède des caractéristiques génétiques associées à la virulence et à la capacité de provoquer des infections humaines. Ces caractéristiques pourraient indiquer un potentiel pathogène pour des infections urinaires, ou d'autres types d'infections courantes associées à ST1193 et les statuts d'ExPEC et d'UPEC de notre souche confirment cette prédiction.

De plus, l'analyse approfondie de la souche ST1193 (**Tableau 46**) a révélé la présence de plusieurs gènes de virulence bien établis, tels que *fimH*, *chuA*, et *kpsM II*. Ces gènes sont largement reconnus pour leur rôle dans la pathogénicité des souches d'*E. coli*, et leur détection dans cette souche renforce l'hypothèse selon laquelle le clone ST1193 pourrait être un pathogène humain, potentiellement impliqué dans des infections urinaires et d'autres pathologies cliniques liées à *E. coli*.

V.7.1.11.2.1.4- Epidémiologie de ST1193

Bien que le clone *E. coli* ST1193 soit largement documenté en Europe (**Birgy et al., 2019; Valenza et al., 2019b; García-Meniño et al., 2022b, 2024**), en Asie (**Ding et al., 2021; Nguyen et al., 2021**) et aux États-Unis (**Tchesnokova et al., 2019**), sa détection en Afrique reste encore très limitée (**Yehouenou et al., 2021; Decano et al., 2021; Byarugaba et al., 2023; Gomi et al., 2024**). Dans cette étude, nous avons identifié un isolat ST1193 NLF, FQR et producteur de *blaCTX-M-15*, ce qui suggère une introduction récente ou une circulation silencieuse de ce clone dans la région. Selon (**Valenza et al., 2019b**), la présence de ST1193 en Allemagne représentait également une première, avec des isolats tous résistants à la ciprofloxacine, appartenant au sérotype O75:H5 et au phylogroupe B2, comme décrit auparavant (**Kocsis et al., 2022**). Ces isolats présentaient également les plasmides IncFIA et IncFIB, fréquemment associés à la dissémination des gènes *blaCTX-M-14*, *blaCTX-M-15* et de gènes PMQR (comme *aac(6')-Ib-cr*, *qnr*, *qepA*) (**Pitout et al., 2022a**). La résistance à la ciprofloxacine chez ST1193 est principalement due à l'accumulation de quatre mutations ponctuelles dans les gènes de la gyrase et de la topoisomérase IV (*gyrA S83L*, *gyrA D87N*, *parC S80I* et *parE L416F*), également rapportées chez des isolats d'Australie (**Pitout et al., 2022a**). La convergence des profils de virulence, de sérotypage, de phylotypage et des mécanismes de résistance observés dans différentes régions renforce l'idée que le clone ST1193 présente une

homogénéité génétique élevée, indépendamment de son origine géographique (Valenza et al., 2019b).

V.7.1.11.2.1.5- Typage cgMLST de ST1193 en Algérie : premières données génétiques et lien avec des souches européennes

Pour étudier la relation phylogénétique entre l'isolat algérien ST1193 (LREC-468) et cinq isolats ST1193 récemment récupérés dans un hôpital du nord-ouest de l'Espagne, nous avons réalisé une analyse des polymorphismes mononucléotidiques (SNPs) basée sur le génome central, représentant 95,65 % du génome de référence LREC-269 (5,4 Mb). Cette analyse a été conduite à l'aide de l'outil CSI Phylogeny 1.4, et les distances SNP obtenues sont résumées dans le **Tableau 29/****Tableau30**.

L'isolat algérien LREC-468 présentait une distance minimale de 78 SNPs par rapport à LREC-269, et une distance maximale de 128 SNPs par rapport à LREC-270, ce qui suggère une relative proximité génétique avec certains isolats espagnols, mais aussi une diversité intra-clonale notable.

Le 20 décembre 2024, nous avons élargi notre analyse en consultant la base de données EnteroBase (<https://enterobase.warwick.ac.uk/>) afin d'identifier des génomes ST1193 assignés au cgST140226, basé sur le schéma cgMLST, proposé par (Achtman et al., 2022), qui constitue une approche robuste pour l'identification de souches apparentées à partir de profils alléliques partagés. Bien que des centaines de génomes ST1193 soient disponibles dans les dépôts publics, peu sont annotés avec des identifiants cgST, et encore moins répondent aux critères de qualité et de métadonnées requis pour une comparaison fine au niveau des SNPs. Le typage par cgMLST, fondé sur 2 513 gènes du génome central, offre une résolution bien supérieure au MLST classique, en faisant un outil puissant pour retracer les dynamiques de transmission et caractériser la structure des populations à différents niveaux taxonomiques, y compris le genre (Achtman et al., 2022).

Nous avons identifié un seul génome correspondant : ESC_RA5887AA, soumis en 2020 par l'Université d'Oxford dans le cadre du projet PRJEB21277. Une analyse comparative plus étendue, incluant ce génome, a révélé que 82,6 % des positions nucléotidiques du génome de référence (LREC-269) étaient communes à l'ensemble des souches analysées. Notamment, l'isolat algérien LREC-468 ne différait que par 55 SNPs d'ESC_RA5887AA, ce qui représente

la plus faible distance observée, suggérant une forte parenté génomique et une dissémination transcontinentale possible. Cette proximité est d'autant plus significative que, selon les métadonnées du projet, ESC_RA5887AA serait d'origine irlandaise, illustrant ainsi une dissémination transcontinentale du clone ST1193.

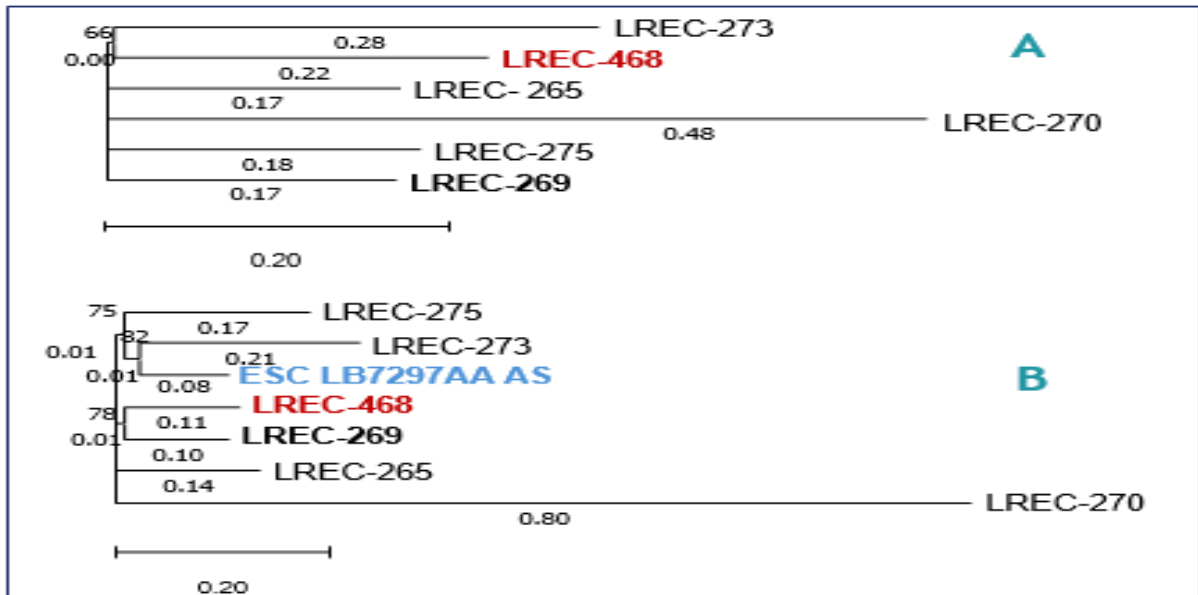


Figure 32: Arbre phylogénétique basé sur l'analyse des SNP du génome entier (A) Arbre phylogénétique basé sur le nombre de SNP par substitution dans le génome central des isolats ST1193 algérien et espagnols. La comparaison des génomes entiers (WGS) a permis d'obtenir un génome central couvrant 95,65 % du génome de référence LREC-269 (5,4 Mb). (B) Arbre phylogénétique intégrant les isolats ST1193 algérien, espagnols et ESC_RA5887AA, montrant le nombre de SNP par substitution. La comparaison WGS a abouti à un génome central couvrant 82,6 % du génome de référence LREC-269 (5,4 Mb). (Ziadi et al., 2025)

Ces résultats révèlent que le clone ST1193 circule activement à l'échelle internationale et pourrait avoir été introduit en Afrique du Nord via des routes de transmission encore inconnues.

Ce travail constitue le premier rapport génomique du clone ST1193 en Algérie, et souligne l'importance d'une surveillance génomique renforcée des uropathogènes multirésistants dans la région. Cela reflète le fait que les bactéries ne connaissent pas de frontières, et que le commerce mondial ainsi que les voyages internationaux facilitent la diffusion des germes résistants à travers le monde. Cela complexifie davantage le défi posé par

la résistance aux antimicrobiens et confirme qu'il s'agit d'un enjeu global et met en lumière l'urgence d'une surveillance génomique renforcée des uropathogènes multirésistants dans la région

Peu importe où émerge une bactérie résistante : si elle présente un avantage de survie et de dissémination, elle peut rapidement se propager à d'autres régions du globe dans le contexte de notre société mondialisée. (M. Y. Ahmed et al., 2024).

Déclaration de disponibilité des données

La séquence nucléotidique de l'isolat *E. coli* ST1193 a été déposée dans l'**European Nucleotide Archive (ENA)** sous le code d'accès **ERS22141751** et le code **BioSample SAMEA117078805**, dans le cadre du projet **BioProject ID PRJEB82513** (Ziadi et al., 2025).

IV.7.1.11.3- Complexe Clonal CC38

Le phylogroupe D était le deuxième plus fréquent dans notre collection d'*E. coli*, représentant 22,5 % des isolats, tous classés comme ExPEC. Ces isolats présentaient soit les clonotypes *fumC26 fimH5*, soit *fumC26 fimH*-négatif (absence d'amplification de la séquence interne de 489 pb du schéma de clonotypage) (Weissman et al., 2012b). Selon [Enterobase](#), tous les génomes attribués au phylogroupe D (selon le schéma de Clermont) avec *fumC26 fimH5/négatif* sont associés au complexe clonal CC38, qui comprend le ST38, un clone à haut risque et MDR, lié aux infections urinaires et sanguines, ainsi qu'à la dissémination mondiale de la carbapénémase *blaOXA-48* (Pengdbamba Dieudonné, 2024; Tanaka et al., 2025; Peirano & Pitout, 2025).

Dans cette étude, deux isolats appartenant au clonotype D-CH26-Neg coexprimaient les gènes *blaOXA-48-like* et *blaCTX-M-27*, tandis qu'un isolat du clonotype D-CH26-5 associait *OXA-48-like* à *blaCMY-59*. Des souches *E. coli* ST38 productrices d'*blaOXA-48* ont déjà été rapportées en Algérie, chez des hôtes variés tels que la cigogne blanche (*Ciconia ciconia*) migratrice (Bouaziz et al., 2018), dans l'eau des rivières (Tafoukt et al., 2017), des échantillons cliniques humains (Yagoubat et al., 2017) ainsi que chez les poulets de chair (Belmahdi et al., 2016). Ces résultats confirment l'implication du complexe clonique CC38 dans la dissémination de la résistance aux antimicrobiens dans cette région. Le gène *blaCTX-M-15* (Tableau 45) est le plus fréquemment détecté parmi les isolats. Sur le plan phénotypique, tous les isolats présentent un profil de multirésistance, avec une résistance particulièrement

fréquente à l'ampicilline, à l'amoxicilline/acide clavulanique, au cefuroxime, au céfotaxime, à la ceftazidime, à l'aztréonam, à la doxycycline et au triméthoprim-sulfaméthoxazole. Ces données révèlent la circulation d'un clone D (type *fimH5*) hautement résistant et virulent, jouant un rôle clé dans l'épidémiologie locale des infections à MDR *E. coli*

La présence des gènes *blaCTX-M-15*, *blaCTX-M-27* et *blaCMY* au sein du complexe clonique CC38 a été rapportée par **(Mo et al., 2023)**, renforçant l'implication de ce clone dans la dissémination des β -lactamases à spectre étendu.

Aussi Le **Tableau 48** présente les caractéristiques phénotypiques et moléculaires des isolats du CC38. Tous sont classés comme ExPEC, en raison de la présence de multiples gènes de virulence spécifiques, une classification conforme à celle rapportée par **(Fonseca et al., 2022)**, Cette appartenance suggère une origine extra-intestinale, typiquement associée aux infections urinaires. Toutefois, seul un isolat possède les trois gènes caractéristiques des souches UPEC, incluant notamment *vat*, tandis que les autres n'en présentent que deux. Ce qui pourrait renforcer la virulence du clone ST38. Cela soutient l'hypothèse selon laquelle certaines souches ST38 constituent des clones hybrides entre UPEC et EAEC (enteroaggregative *E. coli*), comme le confirment les observations de **(Rafaque et al., 2019; Fonseca et al., 2022)**, qui ont identifié la présence simultanée de facteurs de virulence intestinaux et extra-intestinaux chez ces souches.

L'augmentation rapide des infections à ExPEC résistantes aux antibiotiques a conduit à un biais dans la déclaration des souches d'*E. coli* montrant une résistance aux β -lactamines à large spectre, aux carbapénèmes et aux FQs **(Chowdhury et al., 2023)**. Cependant, dans notre étude, seule une souche a exhibé une FQR. Il est important de noter que la résistance aux antibiotiques peut varier selon les régions géographiques ou les périodes temporelles. Dans certaines zones, la FQR peut ne pas être aussi prédominante qu'ailleurs, ce qui pourrait expliquer pourquoi, dans notre étude, seule une souche a montré une résistance à ces antibiotiques.

Tableau 48: Caractéristiques phénotypiques et génétiques des isolats *E. coli* ExPEC CC38 : profils de résistance, gènes de virulence et clonotypes.

Isolat	UPEC	ExPEC	Profil de résistance aux antibiotiques	FQR	Gènes de résistance	Gènes de virulence	Clonotype
EC14	0	01	AMP, AMC, CXM, CTX, CAZ, ATM, NAL, DOX, SXT	0	<i>blaCTX-M-15</i>	<i>FyuA, chuA, uidA, afa/draBC, kpsM II, iutA, arpA, yjaA, TspE4.C2, FumC, FimH</i>	26-5
EC16	0	01	AMP, AMC, CXM, CTX, CAZ, ETP, ATM, DOX	0	<i>blaCTX-M-27 + blaOXA48</i>	<i>FyuA, chuA, uidA, afa/draBC, kpsM II, arpA, yjaA, TspE4.C2, FumC, FimH</i>	26-neg
EC18	0	01	AMP, AMC, CXM, FOX, CTX, CAZ, ETP, GEN, TOB, SXT	0	<i>blaCMY-59 + blaOXA48</i>	<i>FyuA, chuA, uidA, afa/draBC, kpsM II, arpA, yjaA, TspE4.C2, FumC, FimH</i>	26-5
EC21	0	01	AMP, AMC, CXM, FOX, CTX, CAZ, ETP, ATM, DOX	0	<i>blaCTX-M-27 + blaOXA48</i>	<i>FyuA, chuA, uidA, afa/draBC, kpsM II, arpA, yjaA, TspE4.C2, FumC, FimH</i>	26-neg
EC33	0	01	AMP, AMC, CXM, CTX, CAZ, ATM, NAL, AMK, DOX, SXT	0	<i>blaCTX-M-15</i>	<i>FyuA, chuA, uidA, afa/draBC, kpsM II, iutA, arpA, yjaA, TspE4.C2, FumC, FimH</i>	26-5
EC34	0	01	AMP, AMC, CXM, CTX, CAZ, ATM, NAL, DOX, SXT	0	<i>blaCTX-M-15</i>	<i>FyuA, chuA, uidA, afa/draBC, kpsM II, iutA, arpA, yjaA, TspE4.C2, FumC, FimH</i>	26-neg
EC36	0	01	AMP, AMC, CXM, CTX, CAZ, ATM, NAL, DOX	0	<i>blaCTX-M-15</i>	<i>FyuA, chuA, uidA, afa/draBC, kpsM II, iutA, arpA, yjaA, TspE4.C2, FumC, FimH</i>	26-5
EC39a	0	01	AMP, AMC, CXM, CTX, CAZ, ATM, NAL, CIP, DOX, SXT	01	<i>blaCTX-M-15</i>	– <i>FyuA, chuA, uidA, afa/draBC, kpsM II, iutA, arpA, yjaA, TspE4.C2, FumC, FimH</i>	26-5
EC48	0	01	AMP, AMC, CXM, CTX, CAZ, ETP, ATM, NAL, AMK, DOX, SXT	0	<i>blaCTX-M-15</i>	– <i>FyuA, chuA, uidA, afa/draBC, kpsM II, iutA, arpA, yjaA, TspE4.C2, FumC, FimH</i>	26-5
EC42	01	01	AMP, AMC, NAL, DOX, SXT	0	Non BLSE	<i>vat, FyuA, chuA, uidA, afa/draBC, kpsM II, iutA, arpA, yjaA, TspE4.C2, FumC, FimH</i>	26-5

V.7.2- Analyse Moléculaire du *K. Pneumoniae*

V.7.2.1- Détection de gènes de résistances chez *K. pneumoniae*

Le gène *blaCTX-M-15* était le principal BLSE retrouvé chez *K. pneumoniae* (72.72 %) (Figure 33). Ce résultat est en accord avec plusieurs études menées en Algérie (Belbel et al., 2014; Zemmour et al., 2021; Rahmani et al., 2023) ainsi qu'à l'international, notamment au Portugal (Carvalho et al., 2021). De plus, deux isolats producteurs de *blaCTX-M-15* co-produisaient *blaSHV* (9.10%), un taux similaire à celui rapporté par (Yaici et al., 2017; H. Yousfi et al., 2019), bien que (belbel Zineb, 2014) aient observé une prévalence plus élevée. Par ailleurs, (9.10%) de notre collection étaient exclusivement producteurs de *blaSHV*, un résultat également observé par (Caneiras et al., 2019; Zemmour et al., 2021).

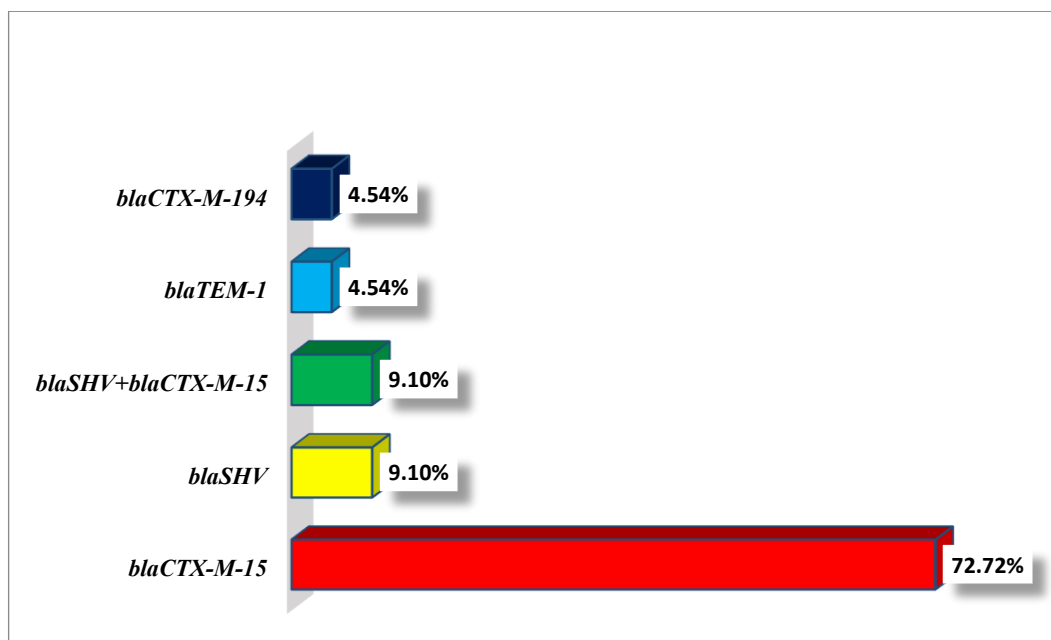


Figure 33: Distribution des gènes de résistance aux antibiotiques chez *K. pneumoniae*.

De plus, deux isolats résistants à l'ertapénème étaient positifs pour le gène *blaNDM* (Tableau 49) ce qui complique considérablement les options thérapeutiques en raison de la co-occurrence de résistances aux carbapénèmes et aux BLSE dans un même isolat. La présence simultanée des gènes *blaCTX-M-15* et *blaNDM* chez *K. pneumoniae* avait déjà été signalée dans deux échantillons urinaires prélevés sur un patient hospitalisé au CHU d'Annaba en 2014 (Abderrahim et al., 2022), et aussi dans l'étude de (Sassi et al., 2014). La présence de *blaNDM* a également été signalée dans d'autres études menées à Oum El Bouaghi (Rahmani et al.,

2023), ainsi qu'à Tébessa et Annaba, toutes situées dans l'est de l'Algérie. Plusieurs hypothèses peuvent expliquer l'émergence de cette enzyme dans cette région, notamment la proximité de Tébessa et Annaba avec la Tunisie, où une forte mobilité transfrontalière est observée (Abderrahim et al., 2017). La Tunisie a déjà rapporté l'émergence de *blaNDM* (Messaoudi et al., 2017) ou aussi en association avec *blaOXA-48* (Ben Nasr et al., 2013). Par ailleurs, des études récentes en Algérie ont mis en évidence la présence de *blaNDM* chez des animaux et dans l'alimentation (Mairi et al., 2020; Chaalal et al., 2021). En 2023, la prévalence globale de cette enzyme en Algérie était de 8,2 %, un taux inférieur à celui du Maroc (39,9 %), de l'Égypte (39,9 %) et de la Tunisie (20,3 %) (Kedišaletše et al., 2023).

Tableau 49 : Gènes de résistance aux antibiotiques de souches d' *K. pneumoniae* isolées de patients du milieu hospitalier et la communauté.

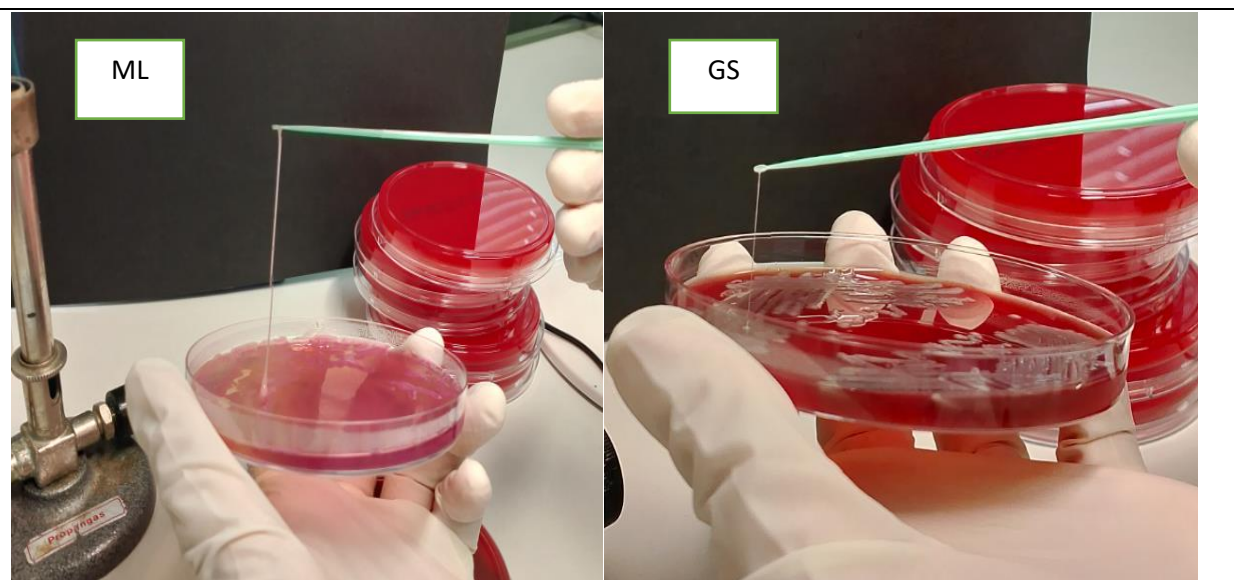
Isolat	Type de BLSE	AmpC et/ou Carba	Autres β lac	Isolat	Type de BLSE	AmpC et/ou Carba	Autres β lac
Kp 1	<i>blaCTX-M-15</i>			Kp 17	<i>blaCTX-M-15</i>		
Kp 4	<i>blaCTX-M-15</i>			Kp 20	<i>blaCTX-M-15</i>		
Kp 5	<i>blaCTX-M-194</i>			Kp 21	<i>blaCTX-M-15</i>		
Kp 6	<i>blaCTX-M-15</i>			Kp22			<i>blaTEM-1</i>
Kp 7	<i>blaCTX-M-15</i>			Kp 24	<i>blaCTX-M-15</i>		
Kp 9	<i>blaCTX-M-15</i>			Kp 25	<i>blaCTX-M-15</i>		
Kp 10	<i>blaCTX-M-15</i>	<i>BlaNDM</i>		KP26	<i>blaCTX-M-15</i>		<i>blaSHV-148</i>
Kp 12	<i>blaCTX-M-15</i>			KP27	<i>blaCTX-M-15</i>		
Kp 14	<i>blaCTX-M-15</i>		<i>blaSHV-148</i>	KP 28			
Kp 15				KP 29			<i>blaSHV-187</i>
Kp 16	<i>blaCTX-M-15</i>	<i>blaNDM</i>		kp 30			<i>blaSHV-172</i>

D'autres études ont confirmé la large diffusion du gène *blaCTX-M-15* en Algérie, avec une prévalence élevée chez les isolats de *K. pneumoniae* producteurs de BLSE dans des établissements cliniques, notamment à l'CHU d'Oran où presque tous les isolats BLSE

portaient ce gène (**Zemmour et al., 2021**). À l'Hôpital Militaire Régional Universitaire d'Oran, 37,5 % des isolats étaient producteurs de BLSE (**Benbrahim et al., 2021**) et des souches résistantes aux carbapénèmes ont également été rapportées au CHU d'Annaba, portant les carbapénémases *OXA-48* et *KPC-2* chez des patients du service d'urologie (**Brahmia et al., 2021b**). Ces données confirment l'émergence continue de souches multirésistantes de *K. pneumoniae* dans les hôpitaux algériens, nécessitant un renforcement de la surveillance et des mesures de prévention des infections.

V.7.2.2- Détection des *K. pneumoniae* hypervirulentes (hvKP)

Sur le plan de la virulence, *K. pneumoniae* se divise en deux pathotypes : les souches classiques (cKp), responsables d'infections nosocomiales fréquentes chez les patients âgés ou immunodéprimés, et les souches hypervirulentes (hvKp), capables de provoquer des infections sévères même chez des individus sains. Alors que les tests phénotypiques comme le "string test" (>5 mm) ont longtemps servi de critère d'identification, leur manque de spécificité a conduit à privilégier la détection de cinq gènes plasmidiques (*peg-344*, *rmpA*, *rmpA2*, *iroB* et *iucA*) comme meilleurs marqueurs moléculaires de l'hypervirulence (**Russo & Marr, 2019; Tang et al., 2025**).



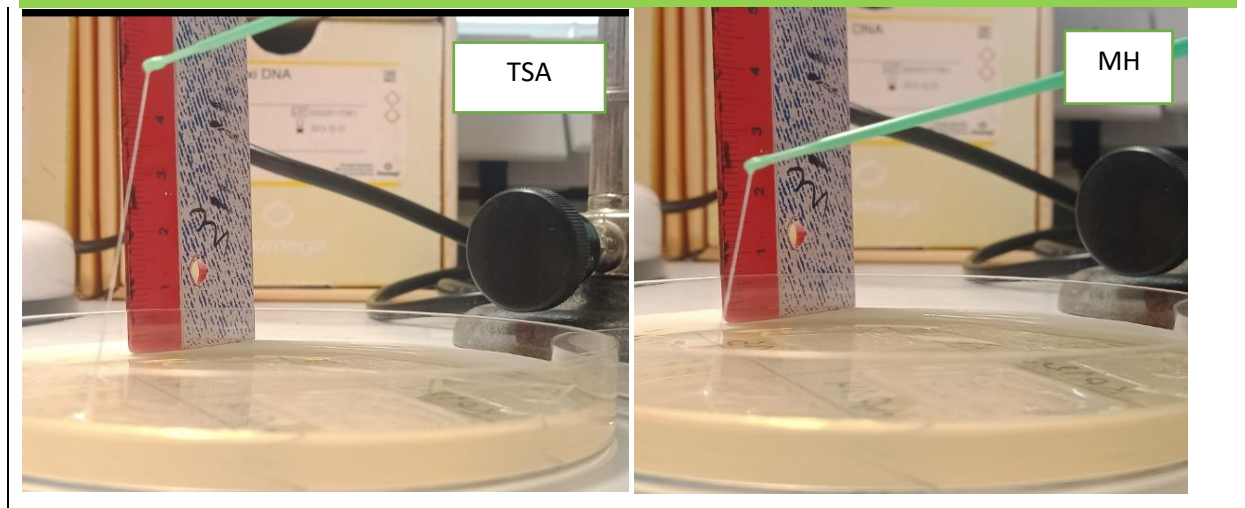


Figure 34: Test de "string" positif indiquant une hypermuco-viscosité.

Dans notre collection, quatre isolats présentaient un phénotype hypermucoviscosité, mais seulement deux étaient positifs pour le test de string dans les quatre milieux (**Tableau 50**) (**Figure 34**) et portaient trois des cinq gènes de virulence (*peg-344*, *rmpA* et *iucA*). Fait préoccupant, ces deux isolats étaient également porteurs des gènes blaNDM et blaCTX-M-15 (**Tableau 50**), illustrant la convergence alarmante entre virulence accrue et multirésistance. Bien que les souches hvKp aient été initialement sensibles aux antibiotiques courants, la récente émergence de souches MDR-hvKp, notamment le clone ST23 porteur de carbapénémases dans plusieurs pays européens, représente une menace sanitaire majeure (**European Centre for Disease Prevention and Control., 2024**). Nos résultats confirment cette évolution préoccupante en Algérie, soulignant la nécessité urgente d'une surveillance continue et d'une adaptation des stratégies thérapeutiques et de contrôle des infections.

Tableau 50: Principales caractéristiques de virulence et de résistance aux antibiotiques des quatre souches phénotypiques hypermucoviscieuses de *K. pneumoniae* (Ziadi et al., 2025).

ML : Macconky Lactose, MH : Muller Hinton, TSA : ; GS :Gélose au sang

Isolat	Phénotype Hypermucoviscosite (HMV)				Résistance phénotypique	Gènes de virulence	Gènes <i>bla</i>
	ML	MH	TSA	GS			
KP6b	+	-	+	-	AMP, CXM, CTX, CAZ, AZT, CIP, FOS	<i>terB</i>	CTX-M-15
KP10c	+	+	+	+	AMP, AMC, CXM, FOX, CTX, CAZ, ETP, AZT, NAL, CIP, GEN, TOB, NIT, FOS	<i>iucA, peg-344, rmpA</i>	NDM, CTX-M-15
KP16	+	+	+	+	AMP, AMC, CXM, FOX, CTX, CAZ, ETP, AZT, NAL, CIP, GEN, TOB, TGC, NIT, FOS, TMP-SXT, CHL	<i>iucA, peg-344, rmpA</i>	NDM, CTX-M-15
KP20a	+	+	-	-	AMP, CXM, CTX, CAZ, AZT, CIP, FOS, TMP-SXT	<i>terB</i>	CTX-M-15

Ce type des isolats producteurs de *bla*NDM est qu'ils appartiennent au type carbapenem-resistant hypervirulent *K. pneumoniae* (CR-hvKP), caractérisé par la combinaison des gènes *rmpA/ucA* et un test de ficelles positif sur quatre milieux de culture différents (**Tableau 50**) (**Figure 33**). Cette combinaison est considérée comme un critère fiable pour identifier les véritables souches *hvKP*, une observation soutenue par (G. Li et al., 2019) dans une étude *in vivo*. Le gène *rmpA* joue un rôle indispensable dans l'hypermucoviscosité des souches (Li et al., 2019), bien qu'il ne soit pas systématiquement associé à l'hypervirulence (Li et al., 2019). Le *hvKP* est fréquemment retrouvé en communauté, mais les souches MDR-hvKP affectent aussi bien les patients hospitalisés que les patients de la communauté (Zhu et al., 2021). La prévalence la plus élevée de ce type de *hvKP* a été observée dans la région de l'Asie-Pacifique (Sellick et Russo, 2018). L'acquisition de la multirésistance par le *hvKP* représente un défi croissant, comme le soulignent plusieurs études récentes (W. Li et al., 2014). De nombreuses études ont démontré que *K. pneumoniae* résistant aux carbapénèmes (CR-KP) est associé à une morbidité et une mortalité élevées, notamment les souches CR-hvKP (Holt et al., 2015).

La première détection de CR-hvKP remonte à 2018 en Chine (Gu et al., 2018). Nos résultats sont en accord avec une étude de cas menée au Soudan, qui a rapporté un isolat MDR CTX-M-15-produisant *hvKP* associé à une infection urinaire (Altayb et al., 2022).

Conclusion

Les entérobactéries constituent le principal agent responsable des infections urinaires, en particulier les souches multirésistantes aux antibiotiques couramment utilisés, notamment les céphalosporines de troisième génération et la ciprofloxacine. Parmi ces bactéries, *E. coli* et *K. pneumoniae* jouent un rôle prépondérant. L'émergence de clones complexes tels que ST131, ST1193 et ST38, ainsi que des souches hypervirulentes de *K. pneumoniae*, associées à la multirésistance, représente un problème majeur de santé publique à l'échelle mondiale, posant un défi considérable en matière de prise en charge et de contrôle des infections.

Cette étude, la première menée dans la région de Tébessa, a mis en évidence un taux élevé d'entérobactéries productrices de BLSE associées aux infections urinaires. Des taux de résistance préoccupants ont également été observés pour les fluoroquinolones, le triméthoprim-sulfaméthoxazole.

L'analyse moléculaire des gènes de résistance a permis d'identifier divers gènes codant des β -lactamases, notamment *blaCTX-M-15*, *blaCTX-M-27*, *blaCTX-M-1*, *blaTEM*, *blaCMY-2* et *blaOXA-48* chez *E. coli*, ainsi que *blaCTX-M-15*, *blaCTX-M-194*, *blaSHV* et *NDM* chez *K. pneumoniae*, avec une prédominance de *blaCTX-M-15*.

Pour la première fois en Algérie, nous avons isolé deux souches cliniques de *E. coli* co-exprimant une BLSE de type *blaCTX-M-27* associée à une carbapénémase *blaOXA-48*. De plus, nous avons identifié pour la première fois une souche clinique de *E. coli* appartenant au clone ST1193, productrice de *blaCTX-M-15* et présentant une résistance aux FQR ainsi qu'un phénotype multirésistant. De manière inédite, nous avons également détecté un pourcentage important de souches CC131 productrices de *blaCTX-M-15* et FQR, ainsi que le clone CC38, dont deux souches co-produisent *blaOXA-48* et *blaCTX-M27* et appartiennent au phylotype D. En outre, tous les clones CC131 et CC1193 appartiennent au phylotype B2, qui est prédominant. La majorité des souches isolées sont des ExPEC, et près de la moitié sont UPEC, tandis que certaines ne relèvent ni de UPEC ni de ExPEC.

Enfin, cette étude met en évidence l'augmentation inquiétante de la résistance aux antibiotiques dans la région de Tébessa, en particulier en lien avec les facteurs de virulence et l'émergence de clones complexes tels que ST1193 et les souches hypervirulentes productrices de *blaCTX-M-15* et *blaNDM*.

Il est aujourd'hui impératif d'adopter des mesures strictes, notamment l'utilisation rationnelle des antibiotiques disponibles, le renforcement des mesures d'hygiène hospitalière et la mise en

place de réseaux locaux et nationaux de surveillance de la résistance aux antibiotiques. Ces efforts sont cruciaux pour limiter la dissémination des souches multirésistantes, en particulier dans les établissements de santé où la prise en charge des patients est une priorité. Cette problématique est d'autant plus critique pour les patients immunodéprimés, chez qui les infections causées par des pathogènes MDR sont associées à une mortalité accrue.

L'émergence de ces mécanismes de résistance en Algérie, mise en évidence par cette étude et d'autres recherches, souligne la nécessité d'intégrer les techniques de diagnostic moléculaire dans les pratiques cliniques. Ces approches pourraient jouer un rôle clé dans l'amélioration de la prise en charge des infections urinaires et d'autres infections bactériennes.

Perspectives

Dans le cadre de futures recherches, il serait intéressant de compléter cette étude par :

- Une analyse génomique approfondie des clones complexes ST131 productrices *blaCTX-M15*, ST38 co-productrices *blaCTX-M27* et *blaOXA48* et des souches hypervirulentes de *K. pneumoniae* productrice *blaNDM*.
- L'évaluation de traitements alternatifs face à l'émergence de ces souches multirésistantes.

Références bibliographiques

- Abay, G. K., Shfare, M. T., Teklu, T. G., Kidane, K. M., Gebremeskel, T. K., Kahsay, A. G., Gezae, K. E., Muthupandian, S., & Degene, T. A. (2025). Extended-spectrum β -lactamase production and antimicrobial resistance among Enterobacteriaceae causing clinical infections in Africa : A systematic review and meta-analysis (2012–2020). *European Journal of Medical Research*, 30(1), 14. <https://doi.org/10.1186/s40001-024-02267-8>
- Abbott, I. J., Van Gorp, E., Wyres, K. L., Wallis, S. C., Roberts, J. A., Meletiadiis, J., & Peleg, A. Y. (2022). Oral fosfomycin activity against *Klebsiella pneumoniae* in a dynamic bladder infection *in vitro* model. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 77(5), 1324-1333. <https://doi.org/10.1093/jac/dkac045>
- Abdelrahim, S., Zaki, S., Abdel Hamid, H., & Kotb, D. (2024). Virulence characterization of Escherichia coli sequence type 131 clone isolated from hospital-acquired and community-acquired urinary tract infections, Egypt. *Microbes and Infectious Diseases*, 0(0), 0-0. <https://doi.org/10.21608/mid.2024.275654.1837>
- 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>
- Achtman, M., Zhou, Z., Charlesworth, J., & Baxter, L. (2022). EnteroBase : Hierarchical clustering of 100 000s of bacterial genomes into species/subspecies and populations. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 377(1861), 20210240. <https://doi.org/10.1098/rstb.2021.0240>
- Agabou, A., Pantel, A., Ouchenane, Z., Lezzar, N., Khemissi, S., Satta, D., Sotto, A., & Lavigne, J.-P. (2014a). 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*, 33(9), 1641-1646.
<https://doi.org/10.1007/s10096-014-2122-y>
- Agabou, A., Pantel, A., Ouchenane, Z., Lezzar, N., Khemissi, S., Satta, D., Sotto, A., & Lavigne, J.-P. (2014b). 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*, 33(9), 1641-1646.
<https://doi.org/10.1007/s10096-014-2122-y>
- 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. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 12(11), 1039-1044.
<https://doi.org/10.3855/jidc.9692>
- 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>
- Ahmed El-Domany, R., El-Banna, T., Sonbol, F., & Hamed Abu-Sayedahmed, S. (2021). Co-existence of NDM-1 and OXA-48 genes in Carbapenem Resistant *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates in Kafrelsheikh, Egypt. *African Health Sciences*, 21(2), 489-496. <https://doi.org/10.4314/ahs.v21i2.2>
- Ahmed, H., Mostafa, N., Elariny, E., & Ahmed, R. (2023). Molecular characterization of potentially virulent multidrug-resistant *Enterococcus faecalis* isolated from acquired urinary tract infections in Egyptian patients. *Archives of Biological Sciences*, 75(3), 351-364. <https://doi.org/10.2298/ABS230630030A>

- Ahmed, M. Y., Gorish, B. M. T., Alhaj, E. M., Elrhim, M. A. E. A., Siddig, S. S., & Altayb, H. N. (2024). Whole-genome sequencing of multidrug-resistant *Escherichia coli* causing urinary tract infection in an immunocompromised patient : A case report. *Journal of Medical Case Reports*, 18(1), 326. <https://doi.org/10.1186/s13256-024-04663-4>
- Ahmed, S. K., Hussein, S., Qurbani, K., Ibrahim, R. H., Fareeq, A., Mahmood, K. A., & Mohamed, M. G. (2024). Antimicrobial resistance : Impacts, challenges, and future prospects. *Journal of Medicine, Surgery, and Public Health*, 2, 100081. <https://doi.org/10.1016/j.glmedi.2024.100081>
- 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*. <https://doi.org/10.18502/ijm.v14i2.9180>
- Alkan, S., Balkan, I. I., Surme, S., Bayramlar, O. F., Kaya, S. Y., Karaali, R., Mete, B., Aygun, G., Tabak, F., & Saltoglu, N. (2024). Urinary tract infections in older adults : Associated factors for extended-spectrum beta-lactamase production. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1384392. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1384392>
- Altayb, H. N., Elbadawi, H. S., Baothman, O., Kazmi, I., Alzahrani, F. A., Nadeem, M. S., Hosawi, S., & Chaieb, K. (2022). Genomic Analysis of Multidrug-Resistant Hypervirulent (Hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae* Strain Lacking the Hypermucoviscous Regulators (rmpA/rmpA2). *Antibiotics*, 11(5), 596. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11050596>
- Amawi, H. A., U'wais, H. T., Nusair, M. B., Al-okour, R., Amawi, S., Al-Shatnawi, S., & Abdi, A. (2021). Management of urinary tract infections and antibiotic susceptibility patterns of bacterial isolates. *International Journal of Clinical Practice*, 75(10). <https://doi.org/10.1111/ijcp.14475>

- Ambite, I., Butler, D. S. C., Stork, C., Grönberg-Hernández, J., Köves, B., Zdziarski, J., Pinkner, J., Hultgren, S. J., Dobrindt, U., Wullt, B., & Svanborg, C. (2019). Fimbriae reprogram host gene expression – Divergent effects of P and type 1 fimbriae. *PLOS Pathogens*, 15(6), e1007671. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007671>
- Ambler et al. (1980). The structure of β -lactamases. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences*, 289(1036), 321-331. <https://doi.org/10.1098/rstb.1980.0049>
- Ambroise, J., Benaissa, E., Ireng, L. M. W. B., Belouad, E. M., Bearzatto, B., Durant, J.-F., Badir, J., Elouennass, M., & Gala, J.-L. (2021). Genomic characterisation of extended-spectrum β -lactamase-producing multidrug-resistant *Escherichia coli* in Rabat, Morocco. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 26, 335-341. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2021.07.008>
- Amel Mhaya. (2019). *Analyse de la résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries et étude d'une potentielle voie alternative aux traitements antibiotiques.*
- 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>
- Arzanlou, M., Chai, W. C., & Venter, H. (2017). Intrinsic, adaptive and acquired antimicrobial resistance in Gram-negative bacteria. *Essays in Biochemistry*, 61(1), 49-59. <https://doi.org/10.1042/EBC20160063>
- Aschbacher, R., Giani, T., Corda, D., Conte, V., Arena, F., Pasquetto, V., Scalzo, K., Nicoletti, M., Rossolini, G. M., & Pagani, E. (2013). Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae during 2011-12 in the Bolzano area (Northern Italy) : Increasing

- diversity in a low-endemicity setting. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 77(4), 354-356. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2013.08.029>
- Ashefo, D. P., Ngwai, Y. B., & Ishaleku, D. (2023). ISOLATION AND ANTIMICROBIAL RESISTANCE PHENOTYPE OF *Klebsiella pneumonia* FROM THE URINE OF SUSPECTED UTI PATIENTS ATTENDING PUBLIC HOSPITALS IN NASARAWA SOUTH SENATORIAL DISTRICT, NASARAWA STATE, NIGERIA. *FUDMA JOURNAL OF SCIENCES*, 7(1), 119-125. <https://doi.org/10.33003/fjs-2023-0701-1258>
- Aubert, D., Naas, T., Lartigue, M.-F., & Nordmann, P. (2005). Novel Genetic Structure Associated with an Extended-Spectrum β -Lactamase *bla*_{VEB} Gene in a *Providencia stuartii* Clinical Isolate from Algeria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49(8), 3590-3592. <https://doi.org/10.1128/AAC.49.8.3590-3592.2005>
- Ayad, A., Drissi, M., De Curraize, C., Dupont, C., Hartmann, A., Solanas, S., Siebor, E., Amoureux, L., & Neuwirth, C. (2016a). Occurrence of ArmA and RmtB Aminoglycoside Resistance 16S rRNA Methylases in Extended-Spectrum β -Lactamases Producing *Escherichia coli* in Algerian Hospitals. *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01409>
- Ayad, A., Drissi, M., De Curraize, C., Dupont, C., Hartmann, A., Solanas, S., Siebor, E., Amoureux, L., & Neuwirth, C. (2016b). Occurrence of ArmA and RmtB Aminoglycoside Resistance 16S rRNA Methylases in Extended-Spectrum β -Lactamases Producing *Escherichia coli* in Algerian Hospitals. *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01409>
- Baba Ahmed-Kazi Tani, Z., Decré, D., Genel, N., Boucherit-Otmani, Z., Arlet, G., & Drissi, M. (2013). Molecular and Epidemiological Characterization of Enterobacterial

- Multidrug-Resistant Strains in Tlemcen Hospital (Algeria) (2008–2010). *Microbial Drug Resistance*, 19(3), 185-190. <https://doi.org/10.1089/mdr.2012.0161>
- Bachiri, T., Bakour, S., Ladjouzi, R., Thongpan, L., Rolain, J. M., & Touati, A. (2017). High rates of CTX-M-15-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in wild boars and Barbary macaques in Algeria. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 8, 35-40. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2016.10.005>
- 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>
- Banerjee, R., & Johnson, J. R. (2014). A New Clone Sweeps Clean : The Enigmatic Emergence of *Escherichia coli* Sequence Type 131. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(9), 4997-5004. <https://doi.org/10.1128/AAC.02824-14>
- Bauer, A. W., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C., & Turck, M. (1966). Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45(4_ts), 493-496. https://doi.org/10.1093/ajcp/45.4_ts.493
- Bej, A. K., DiCesare, J. L., Haff, L., & Atlas, R. M. (1991). Detection of *Escherichia coli* and *Shigella* spp. In water by using the polymerase chain reaction and gene probes for uid. *Applied and Environmental Microbiology*, 57(4), 1013-1017. <https://doi.org/10.1128/aem.57.4.1013-1017.1991>
- Belbel, Z., Chettibi, H., Dekhil, M., Ladjama, A., Nedjai, S., & Rolain, J.-M. (2014). Outbreak of an *armA* Methyltransferase-Producing ST39 *Klebsiella pneumoniae* Clone in a Pediatric Algerian Hospital. *Microbial Drug Resistance*, 20(4), 310-315. <https://doi.org/10.1089/mdr.2013.0193>

- belbel Zineb. (2014). *Evaluation de la résistance aux antibiotiques des souches de Klebsiella pneumoniae isolées dans les hôpitaux de la ville d'Annaba.*
- Belmahdi, M., Bakour, S., Al Bayssari, C., Touati, A., & Rolain, J.-M. (2016). Molecular characterisation of extended-spectrum β -lactamase- and plasmid AmpC-producing *Escherichia coli* strains isolated from broilers in Béjaïa, Algeria. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 6, 108-112. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2016.04.006>
- Belouad, E. M., Benaïssa, 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, 1-10. <https://doi.org/10.1155/2023/8581883>
- Ben Haj Yahia, A., Tayh, G., Landolsi, S., Maamar, E., Galai, N., Landoulsi, Z., & Messadi, L. (2023). First Report of *OXA-48* and *IMP* Genes Among Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli* Isolates from Diarrheic Calves in Tunisia. *Microbial Drug Resistance*, 29(4), 150-162. <https://doi.org/10.1089/mdr.2022.0129>
- Ben Nasr, A., Decré, D., Compain, F., Genel, N., Barguelli, F., & Arlet, G. (2013). Emergence of NDM-1 in Association with OXA-48 in *Klebsiella pneumoniae* from Tunisia. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 57(8), 4089-4090. <https://doi.org/10.1128/AAC.00536-13>
- Benaïssa, E., Belouad, E., Mechal, Y., Benlahlou, Y., Chadli, M., Maleb, A., & Elouennass, M. (2021). Multidrug-resistant community-acquired urinary tract infections in a northern region of Morocco : Epidemiology and risk factors. *Germs*, 11(4), 562-569. <https://doi.org/10.18683/germs.2021.1291>
- Bennameur, Q., Tali-Maamar, H., Assaous, F., Guettou, B., Rahal, K., & Ben-Mahdi, M.-H. (2019). Detection of multidrug resistant *Escherichia coli* in the ovaries of healthy broiler breeders with emphasis on extended-spectrum β -lactamases producers.

- Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 64, 163-167.
<https://doi.org/10.1016/j.cimid.2019.03.009>
- Benbrahim, C., Barka, M. S., Benmahdi, L., Zatout, A., & Khadir, A. (2021). *Klebsiella pneumoniae* producing extended spectrum β -lactamase in Regional Military University Hospital of Oran, Algeria : Antibiotic resistance, biofilm formation, and detection of blaCTX-M and blaTEM genes. *African Journal of Clinical and Experimental Microbiology*, 22(1), 28-37. <https://doi.org/10.4314/ajcem.v22i1.5>
- Benmoumou, S., Hamaidi-Chergui, F., Bouznada, K., Bouras, N., Bakli, M., & Meklat, A. (2023). Antibiotic Resistance Pattern of *Enterobacteriaceae* 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>
- Benyagoub, E., Alkhudhairy, M. K., Bouchaib, S. M., Zaalan, A., Mekhfi, Y., Teyebi, N., Razni, D., & Bendada, F. (2021). Isolation Frequency of Uropathogenic Strains and Search for ESBL Producing Enterobacteriaceae Isolated from Patients with UTI in Bechar (Algeria). *Anti-Infective Agents*, 19(3), 303-316.
<https://doi.org/10.2174/2211352518999201224102209>
- Bhatt, S., & Chatterjee, S. (2022). Fluoroquinolone antibiotics : Occurrence, mode of action, resistance, environmental detection, and remediation – A comprehensive review. *Environmental Pollution*, 315, 120440. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.120440>
- Bialek-Davenet, S., Criscuolo, A., Ailloud, F., Passet, V., Nicolas-Chanoine, M.-H., Decré, D., & Brisse, S. (2014). Development of a multiplex PCR assay for identification of *Klebsiella pneumoniae* hypervirulent clones of capsular serotype K2. *Journal of Medical Microbiology*, 63(12), 1608-1614. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.081448-0>
- Biggel, M., Xavier, B. B., Johnson, J. R., Nielsen, K. L., Frimodt-Møller, N., Mattheuissen, V., Goossens, H., Moons, P., & Van Puyvelde, S. (2020). Horizontally acquired

- papGII-containing pathogenicity islands underlie the emergence of invasive uropathogenic *Escherichia coli* lineages. *Nature Communications*, 11(1), 5968. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19714-9>
- Birgy, A., Levy, C., Nicolas-Chanoine, M.-H., Cointe, A., Hobson, C. A., Magnan, M., Bechet, S., Bidet, P., Cohen, R., & Bonacorsi, S. (2019). Independent Host Factors and Bacterial Genetic Determinants of the Emergence and Dominance of *Escherichia coli* Sequence Type 131 CTX-M-27 in a Community Pediatric Cohort Study. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 63(7), e00382-19. <https://doi.org/10.1128/AAC.00382-19>
- Birgy, A., Madhi, F., Jung, C., Levy, C., Cointe, A., Bidet, P., Hobson, C. A., Bechet, S., Sobral, E., Vuthien, H., Ferroni, A., Abergane, S., Cuzon, G., Beraud, L., Gajdos, V., Launay, E., Piquier, D., Haas, H., Desmarest, M., ... Vignaud, O. (2019). Diversity and trends in population structure of ESBL-producing Enterobacteriaceae in febrile urinary tract infections in children in France from 2014 to 2017. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, dkz423. <https://doi.org/10.1093/jac/dkz423>
- Bitsori, M., & Galanakis, E. (2019). Treatment of Urinary Tract Infections Caused by ESBL-producing *Escherichia coli* or *Klebsiella pneumoniae*. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 38(12), e332-e335. <https://doi.org/10.1097/INF.0000000000002487>
- Blair, J. M. A., Webber, M. A., Baylay, A. J., Ogbolu, D. O., & Piddock, L. J. V. (2015). Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature Reviews Microbiology*, 13(1), 42-51. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3380>
- Blanco, M., Alonso, M. P., Nicolas-Chanoine, M.-H., Dahbi, G., Mora, A., Blanco, J. E., López, C., Cortés, P., Llagostera, M., Leflon-Guibout, V., Puentes, B., Mamani, R., Herrera, A., Coira, M. A., García-Garrote, F., Pita, J. M., & Blanco, J. (2009). Molecular epidemiology of *Escherichia coli* producing extended-spectrum β -

<https://doi.org/10.1093/jac/dkp122>

(2017). Identification of a novel transposon-associated phosphoethanolamine transferase gene, *mcr-5*, conferring colistin resistance in d-tartrate fermenting

Bouaziz, A., Loucif, L., Ayachi, A., Guehaz, K., Bendjama, E., & Rolain, J.-M. (2018).

BOUAZIZ Amira. (2018). *Etude phénotypique et moléculaire de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à partir des fientes de la cigogne blanche (Ciconia ciconia) de la commune d'El Madher wilaya de Batna* [Thèse en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat 3eme cycle, UNIVERSITE BATNA 2].

c2f11fc16722&psq=etude+ph%3%a9notypique+et+mol%3%a9culaire+de+la+r%3%
%a9sistance+aux+antibiotiques+des+ent%3%a9robact%3%a9ries+isol%3%a9es+
%3%a0+partir+des+fientes+de+la+cigogne+blanche+(Ciconia+ciconia)+de+la+com
mune+d%e2%80%99El+Madher+wilaya+de+Batna&u=a1aHR0cHM6Ly9kc3BhY2U

- udW5pdilYXRuYTIuZHovYml0c3RyZWFTcy9mNzdhoWE0YS1hZTYzLTRkMG
QtYmRkNi00NzZhOTNiMWY2MmYvZG93bmXvYWQ&ntb=1
- Bougouizi, A., Tagueha, A. D., Scribano, D., Chekroud, Z., Lamraoui, Z. E. I., Nencioni, L., Ambrosi, C., & Rahab, H. (2025). Third-Generation Cephalosporin-Resistant Uropathogenic *Escherichia coli* From Community- and Hospital-Acquired Infections Show High Level of Antibiotic Resistance and Specific Virulence Traits. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*, 2025(1), 9021465. <https://doi.org/10.1155/cjid/9021465>
- 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*, Volume 11, 735-742. <https://doi.org/10.2147/IDR.S150005>
- 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, table of contents. <https://doi.org/10.1128/CMR.14.4.933-951.2001>
- Brahmi, S., Dunyach-Rémy, C., Touati, A., & Lavigne, J.-P. (2015). CTX-M-15-producing *Escherichia coli* and the pandemic clone O25b-ST131 isolated from wild fish in Mediterranean Sea. *Clinical Microbiology and Infection*, 21(3), e18-e20. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2014.09.019>
- Brahmia, S., Lalaoui, R., Nedjai, S., Djahmi, N., Chettibi, S., Rolain, J.-M., & Bakour, S. (2021a). 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>

- Brahmia, S., Lalaoui, R., Nedjai, S., Djahmi, N., Chettibi, S., Rolain, J.-M., & Bakour, S. (2021b). 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>
- Brons, J. K., Vink, S. N., De Vos, M. G. J., Reuter, S., Dobrindt, U., & Van Elsas, J. D. (2020). Fast identification of *Escherichia coli* in urinary tract infections using a virulence gene based PCR approach in a novel thermal cycler. *Journal of Microbiological Methods*, 169, 105799. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2019.105799>
- Bryson, H. M., & Brogden, R. N. (1994). Piperacillin/Tazobactam : A Review of its Antibacterial Activity, Pharmacokinetic Properties and Therapeutic Potential. *Drugs*, 47(3), 506-535. <https://doi.org/10.2165/00003495-199447030-00008>
- Bunduki, G. K., Heinz, E., Phiri, V. S., Noah, P., Feasey, N., & Musaya, J. (2021). Virulence factors and antimicrobial resistance of uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) isolated from urinary tract infections : A systematic review and meta-analysis. *BMC Infectious Diseases*, 21(1), 753. <https://doi.org/10.1186/s12879-021-06435-7>
- Bush, K., & Bradford, P. A. (2016). β -Lactams and β -Lactamase Inhibitors : An Overview. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 6(8), a025247. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025247>
- Bush, K., & Bradford, P. A. (2020). Epidemiology of β -Lactamase-Producing Pathogens. *Clinical Microbiology Reviews*, 33(2), e00047-19. <https://doi.org/10.1128/CMR.00047-19>
- Bush, K., & Jacoby, G. A. (2010). Updated Functional Classification of β -Lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(3), 969-976. <https://doi.org/10.1128/AAC.01009-09>

- Buxeraud, J., & Buxeraud, B. (2005). Amoxicilline/acide clavulanique. *Actualités Pharmaceutiques Hospitalières*, 1(4), 39-42. [https://doi.org/10.1016/S1769-7344\(05\)70089-5](https://doi.org/10.1016/S1769-7344(05)70089-5)
- Byarugaba, D. K., Erima, B., Wokorach, G., Alafi, S., Kibuuka, H., Mworozzi, E., Musinguzi, A. K., Kiyengo, J., Najjuka, F., & Wabwire-Mangen, F. (2023). Resistome and virulome of high-risk pandemic clones of multidrug-resistant extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC) isolated from tertiary healthcare settings in Uganda. *PLOS ONE*, 18(11), e0294424. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0294424>
- Campos, A. C. C., Andrade, N. L., Ferdous, M., Chlebowicz, M. A., Santos, C. C., Correal, J. C. D., Lo Ten Foe, J. R., Rosa, A. C. P., Damasco, P. V., Friedrich, A. W., & Rossen, J. W. A. (2018). Comprehensive Molecular Characterization of *Escherichia coli* Isolates from Urine Samples of Hospitalized Patients in Rio de Janeiro, Brazil. *Frontiers in Microbiology*, 9, 243. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00243>
- Caneiras, C., Lito, L., Melo-Cristino, J., & Duarte, A. (2019). Community- and Hospital-Acquired *Klebsiella pneumoniae* Urinary Tract Infections in Portugal : Virulence and Antibiotic Resistance. *Microorganisms*, 7(5), 138. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7050138>
- Cantón, R., Novais, A., Valverde, A., Machado, E., Peixe, L., Baquero, F., & Coque, T. M. (2008). Prevalence and spread of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Clinical Microbiology and Infection*, 14, 144-153. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01850.x>
- Carroll, K. C., Glanz, B. D., Borek, A. P., Burger, C., Bhally, H. S., Henciak, S., & Flayhart, D. (2006). Evaluation of the BD Phoenix Automated Microbiology System for Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing of *Enterobacteriaceae*. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(10), 3506-3509. <https://doi.org/10.1128/JCM.00994-06>

- Carvalho, I., Carvalho, J. A., Martínez-Álvarez, S., Sadi, M., Capita, R., Alonso-Calleja, C., Rabbi, F., Dapkevicius, M. D. L. N. E., Igrejas, G., Torres, C., & Poeta, P. (2021). Characterization of ESBL-Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* Isolated from Clinical Samples in a Northern Portuguese Hospital : Predominance of CTX-M-15 and High Genetic Diversity. *Microorganisms*, 9(9), 1914.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms9091914>
- Castanié-Cornet, M.-P., Cam, K., Bastiat, B., Cros, A., Bordes, P., & Gutierrez, C. (2010). Acid stress response in *Escherichia coli* : Mechanism of regulation of *gadA* transcription by RcsB and GadE. *Nucleic Acids Research*, 38(11), 3546-3554.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkq097>
- 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>
- Cerquetti, M., Giufrè, M., García-Fernández, A., Accogli, M., Fortini, D., Luzzi, I., & Carattoli, A. (2010). Ciprofloxacin-resistant, CTX-M-15-producing *Escherichia coli* ST131 clone in extraintestinal infections in Italy. *Clinical Microbiology and Infection*, 16(10), 1555-1558. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03162.x>
- Chaalal, N., Touati, A., Bakour, S., Aissa, M. A., Sotto, A., Lavigne, J.-P., & Pantel, A. (2021). Spread of OXA-48 and NDM-1-Producing *Klebsiella pneumoniae* ST48 and ST101 in Chicken Meat in Western Algeria. *Microbial Drug Resistance*, 27(4), 492-500. <https://doi.org/10.1089/mdr.2019.0419>
- Chan, K., Ledesma, K. R., Wang, W., & Tam, V. H. (2020). Characterization of Amikacin Drug Exposure and Nephrotoxicity in an Animal Model. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 64(9), e00859-20. <https://doi.org/10.1128/AAC.00859-20>

- Chan, R. K., Lye, W. C., Lee, E. J., & Kumarasinghe, G. (1993). Nosocomial urinary tract infection : A microbiological study. *Annals of the Academy of Medicine, Singapore*, 22(6), 873-877.
- Charfi, K., Grami, R., Ben Jeddou, A., Messaoudi, A., Mani, Y., Bouallegue, O., Boujaafar, N., Aouni, M., Mammeri, H., & Mansour, W. (2017). Extended-spectrum β -lactamases and plasmid-mediated quinolone resistance in enterobacterial clinical isolates from neonates in Tunisia. *Microbial Pathogenesis*, 110, 184-188.
<https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.06.030>
- Chen, J., Zhang, H., & Liao, X. (2023). Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *Infection and Drug Resistance*, Volume 16, 5243-5249. <https://doi.org/10.2147/IDR.S418523>
- Cheng, M.-F., Chen, W.-L., Hung, W.-Y., Huang, I.-F., Chiou, Y.-H., Chen, Y.-S., Lee, S. S.-J., Hung, C.-H., & Wang, J.-L. (2015). Emergence of Extended Spectrum- β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* O25b-ST131 : A Major Community-Acquired Uropathogen in Infants. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 34(5), 469-475.
<https://doi.org/10.1097/INF.0000000000000623>
- Chenouf, N. S., Carvalho, I., Messaï, C. R., Ruiz-Ripa, L., Mama, O. M., Titouche, Y., Zitouni, A., Hakem, A., & Torres, C. (2021). Extended Spectrum β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* from Broiler Liver in the Center of Algeria, with Detection of CTX-M-55 and B2/ST131-CTX-M-15 in *Escherichia coli*. *Microbial Drug Resistance*, 27(2), 268-276.
<https://doi.org/10.1089/mdr.2020.0024>
- Cho, S.-Y., Choi, S.-M., Park, S. H., Lee, D.-G., Choi, J.-H., & Yoo, J.-H. (2015). Amikacin therapy for urinary tract infections caused by extended-spectrum β -lactamase-producing <i>Escherichia coli</i>; *The Korean Journal of Internal Medicine*, 31(1), 156-161. <https://doi.org/10.3904/kjim.2016.31.1.156>

- Chudejova, K., Caltagirone, M. S., Mattioni Marchetti, V., Rezzani, A., Navarra, A., & Bitar, I. (2024). FosA8-producing *E. coli* ST131 : Clinical cases in Italy, February 2023. *Eurosurveillance*, 29(21). <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2024.29.21.2400276>
- Clermont, O., Bonacorsi, S., & Bingen, E. (2000). Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. *Applied and environmental microbiology*, 66(10), 4555-4558.
- Clermont, O., Christenson, J. K., Denamur, E., & Gordon, D. M. (2013a). The C lermont *E scherichia 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>
- Clermont, O., Christenson, J. K., Denamur, E., & Gordon, D. M. (2013b). The Clermont *Escherichia coli* phylo-typing method revisited : Improvement of specificity and detection of new phylo-groups. *Environmental Microbiology Reports*. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12019>
- Clermont, O., Dhanji, H., Upton, M., Gibreel, T., Fox, A., Boyd, D., Mulvey, M. R., Nordmann, P., Ruppe, E., Sarthou, J. L., Frank, T., Vimont, S., Arlet, G., Branger, C., Woodford, N., & Denamur, E. (2009). Rapid detection of the O25b-ST131 clone of *Escherichia coli* encompassing the CTX-M-15-producing strains. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 64(2), 274-277. <https://doi.org/10.1093/jac/dkp194>
- Clermont, O., Dixit, O. V. A., Vangchhia, B., Condamine, B., Dion, S., Bridier-Nahmias, A., Denamur, E., & Gordon, D. (2019). Characterization and rapid identification of phylogroup G in *Escherichia coli* , a lineage with high virulence and antibiotic resistance potential. *Environmental Microbiology*, 21(8), 3107-3117. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14713>

- Clermont, O., Dixit, O. V. A., Vangchhia, B., Condamine, B., Dion, S., Bridier-Nahmias, A., Denamur, E., & Gordon, D. (2019). Characterization and rapid identification of phylogroup G in *Escherichia coli*, a lineage with high virulence and antibiotic resistance potential. *Environmental Microbiology*, 21(8), 3107-3117.
<https://doi.org/10.1111/1462-2920.14713>
- Clermont, O., Lavollay, M., Vimont, S., Deschamps, C., Forestier, C., Branger, C., Denamur, E., & Arlet, G. (2008). The CTX-M-15-producing *Escherichia coli* diffusing clone belongs to a highly virulent B2 phylogenetic subgroup. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 61(5), 1024-1028. <https://doi.org/10.1093/jac/dkn084>
- Colpan, A., Johnston, B., Porter, S., Clabots, C., Anway, R., Thao, L., Kuskowski, M. A., Tchesnokova, V., Sokurenko, E. V., Johnson, J. R., on behalf of the VICTORY (Veterans Influence of Clonal Types on Resistance: Year 2011) Investigators, Allen, B. L., Baracco, G. J., Bedimo, R., Bessesen, M., Bonomo, R. A., Brecher, S. M., Brown, S. T., Castellino, L., ... Swiatlo, E. (2013). *Escherichia coli* Sequence Type 131 (ST131) Subclone H30 as an Emergent Multidrug-Resistant Pathogen Among US Veterans. *Clinical Infectious Diseases*, 57(9), 1256-1265.
<https://doi.org/10.1093/cid/cit503>
- Cummins, E. A., Snaith, A. E., McNally, A., & Hall, R. J. (2021). The role of potentiating mutations in the evolution of pandemic *Escherichia coli* clones. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. <https://doi.org/10.1007/s10096-021-04359-3>
- Czajkowski, K., Broś-Konopielko, M., & Teliga-Czajkowska, J. (2021). Urinary tract infection in women. *Menopausal Review*, 20(1), 40-47.
<https://doi.org/10.5114/pm.2021.105382>

- Dahbi, G., Mora, A., Mamani, R., López, C., Alonso, M. P., Marzoa, J., Blanco, M., Herrera, A., Viso, S., García-Garrote, F., Tchesnokova, V., Billig, M., De La Cruz, F., De Toro, M., González-López, J. J., Prats, G., Chaves, F., Martínez-Martínez, L., López-Cerezo, L., ... Blanco, J. (2014). Molecular epidemiology and virulence of *Escherichia coli* O16:H5-ST131 : Comparison with H30 and H30-Rx subclones of O25b:H4-ST131. *International Journal of Medical Microbiology*, 304(8), 1247-1257. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2014.10.002>
- Dahmen, S., Bettaieb, D., Mansour, W., Boujaafar, N., Bouallègue, O., & Arlet, G. (2010). Characterization and Molecular Epidemiology of Extended-Spectrum β -Lactamases in Clinical Isolates of Enterobacteriaceae in a Tunisian University Hospital. *Microbial Drug Resistance*, 16(2), 163-170. <https://doi.org/10.1089/mdr.2009.0108>
- D'Andrea, M. M., Arena, F., Pallecchi, L., & Rossolini, G. M. (2013). CTX-M-type β -lactamases : A successful story of antibiotic resistance. *International Journal of Medical Microbiology*, 303(6-7), 305-317. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2013.02.008>
- Dantas, K., Melocco, G., Esposito, F., Fontana, H., Cardoso, B., & Lincopan, N. (2024). Emergent *Escherichia coli* of the highly virulent B2-ST1193 clone producing KPC-2 carbapenemase in ready-to-eat vegetable. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, S2213716524004612. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2024.11.020>
- Darwich, L., Vidal, A., Seminati, C., Albamonte, A., Casado, A., López, F., Molina-López, R. A., & Migura-Garcia, L. (2019). High prevalence and diversity of extended-spectrum β -lactamase and emergence of OXA-48 producing Enterobacterales in wildlife in Catalonia. *PLOS ONE*, 14(8), e0210686. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210686>
- Debabza, M., Dziri, R., Mechai, A., Bouguessa, A., Klibi, N., & Ouzari, H. I. (2023). Characterization of carbapenemase-producing Gram-negative bacilli : First report of

- blaNDM-1 in *Enterobacter cloacae*. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 17(09), 1300-1309. <https://doi.org/10.3855/jidc.18031>
- Decano, A. G., Pettigrew, K., Sabiiti, W., Sloan, D. J., Neema, S., Bazira, J., Kiiru, J., Onyango, H., Asiimwe, B., & Holden, M. T. G. (2021). Pan-Resistome Characterization of Uropathogenic *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* Strains Circulating in Uganda and Kenya, Isolated from 2017–2018. *Antibiotics*, 10(12), 1547. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10121547>
- Decre, D. (2002). Characterization of CMY-type beta-lactamases in clinical strains of *Proteus mirabilis* and *Klebsiella pneumoniae* isolated in four hospitals in the Paris area. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 50(5), 681-688. <https://doi.org/10.1093/jac/dkf193>
- Denamur, E., Clermont, O., Bonacorsi, S., & Gordon, D. (2021). The population genetics of pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*, 19(1), 37-54. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0416-x>
- Desta, K., Woldeamanuel, Y., Azazh, A., Mohammad, H., Desalegn, D., Shimelis, D., Gulilat, D., Lamisso, B., Makonnen, E., Worku, A., Mannerqvist, K., Struwe, J., Aspevall, O., & Aklillu, E. (2016). High Gastrointestinal Colonization Rate with Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae in Hospitalized Patients : Emergence of Carbapenemase-Producing *K. pneumoniae* in Ethiopia. *PLOS ONE*, 11(8), e0161685. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0161685>
- Ding, Y., Zhang, J., Yao, K., Gao, W., & Wang, Y. (2021). Molecular characteristics of the new emerging global clone ST1193 among clinical isolates of *Escherichia coli* from neonatal invasive infections in China. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 40(4), 833-840. <https://doi.org/10.1007/s10096-020-04079-0>

- Dziri, O., Dziri, R., Maraoub, A., & Chouchani, C. (2020). Characterization of O25b-ST131 *Escherichia coli* Clone Producing CTX-M-15, DHA-4, and CMY-42 in Urinary Tract Infections in a Tunisian Island. *Microbial Drug Resistance*, 26(7), 741-746.
<https://doi.org/10.1089/mdr.2019.0076>
- Elbehiry, A., Al Shoaibi, M., Alzahrani, H., Ibrahim, M., Moussa, I., Alzaben, F., Alsubki, R. A., Hemeg, H. A., Almutairi, D., Althobaiti, S., Alanazi, F., Alotaibi, S. A., Almutairi, H., Alzahrani, A., & Abu-Okail, A. (2024). Enterobacter cloacae from urinary tract infections : Frequency, protein analysis, and antimicrobial resistance. *AMB Express*, 14(1), 17. <https://doi.org/10.1186/s13568-024-01675-7>
- Eliopoulos, G. M., & Huovinen, P. (2001). Resistance to Trimethoprim-Sulfamethoxazole. *Clinical Infectious Diseases*, 32(11), 1608-1614. <https://doi.org/10.1086/320532>
- European Centre for Disease Prevention and Control. (2024). *Emergence of hypervirulent Klebsiella pneumoniae ST23 carrying carbapenemase genes in EU/EEA countries, first update*. Publications Office. <https://data.europa.eu/doi/10.2900/993023>
- Faine, B. A., Rech, M. A., Vakkalanka, P., Gross, A., Brown, C., Harding, S. J., Slocum, G., Zimmerman, D., Zepeski, A., Rewitzer, S., Howington, G. T., Campbell, M., Dawson, J., Treu, C. N., Nelson, L., Jones, M., Flack, T., Porter, B., Sarangarm, P., ... Talan, D. A. (2022). High prevalence of fluoroquinolone-resistant UTI among US emergency department patients diagnosed with urinary tract infection, 2018–2020. *Academic Emergency Medicine*, 29(9), 1096-1105. <https://doi.org/10.1111/acem.14545>
- Fang, C.-T., Chuang, Y.-P., Shun, C.-T., Chang, S.-C., & Wang, J.-T. (2004). A Novel Virulence Gene in *Klebsiella pneumoniae* Strains Causing Primary Liver Abscess and Septic Metastatic Complications. *The Journal of Experimental Medicine*, 199(5), 697-705. <https://doi.org/10.1084/jem.20030857>

- Fares, R., Debabza, M., & Mechai, A. (2023). Detection and prevalence of extended spectrum β -lactamases production among Enterobacteriaceae isolated from urinary tract infections. *Biosystems Diversity*, 31(2), 163-169. <https://doi.org/10.15421/012317>
- FDA. (2018, août 3). *FDA Drug Safety Communication : FDA updates warnings for oral and injectable fluoroquinolone antibiotics due to disabling side effects*. 2018. <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/fda-drug-safety-communication-fda-updates-warnings-oral-and-injectable-fluoroquinolone-antibiotics> [Federal government website]. U.S. Food and Drug Administration. <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/fda-drug-safety-communication-fda-updates-warnings-oral-and-injectable-fluoroquinolone-antibiotics>
- Ferjani, S., Saidani, M., Ennigrou, S., Hsairi, M., Slim, A. F., & Boutiba Ben Boubaker, I. (2014). Multidrug resistance and high virulence genotype in uropathogenic *Escherichia coli* due to diffusion of ST131 clonal group producing CTX-M-15 : An emerging problem in a Tunisian hospital. *Folia Microbiologica*, 59(3), 257-262. <https://doi.org/10.1007/s12223-013-0292-0>
- Flament-Simon, S.-C., García, V., Duprilot, M., Mayer, N., Alonso, M. P., García-Meniño, I., Blanco, J. E., Blanco, M., Nicolas-Chanoine, M.-H., & Blanco, J. (2020). High Prevalence of ST131 Subclades C2-H30Rx and C1-M27 Among Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* Causing Human Extraintestinal Infections in Patients From Two Hospitals of Spain and France During 2015. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10, 125. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00125>
- Flores-Mireles, A. L., Walker, J. N., Caparon, M., & Hultgren, S. J. (2015). Urinary tract infections : Epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nature Reviews Microbiology*, 13(5), 269-284. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3432>

- Fonseca, E. L., Morgado, S. M., Caldart, R. V., & Vicente, A. C. (2022). Global Genomic Epidemiology of Escherichia coli (ExPEC) ST38 Lineage Revealed a Virulome Associated with Human Infections. *Microorganisms*, 10(12), 2482.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms10122482>
- Foxman, B. (2003). Epidemiology of urinary tract infections : Incidence, morbidity, and economic costs. *Disease-a-Month*, 49(2), 53-70. <https://doi.org/10.1067/mda.2003.7>
- Frédéric Robin, Lucie Gibold, & Richard Bonnet. (2012, octobre). Résistances naturelles et acquises aux β -lactamines chez les entérobactéries : Comment les identifier en pratique quotidienne ? *REVUE FRANCOPHONE DES LABORATOIRES– Elsevier Masson SAS*.
- Friedlaender, C. (1882). Ueber die Schizomyceten bei der acuten fibrösen Pneumonie. *Archiv für Pathologische Anatomie und Physiologie und für Klinische Medicin*, 87(2), 319-324. <https://doi.org/10.1007/BF01880516>
- Funke, G., & Funke-Kissling, P. (2004). Evaluation of the New VITEK 2 Card for Identification of Clinically Relevant Gram-Negative Rods. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(9), 4067-4071. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.9.4067-4071.2004>
- Garcia, E. C., Brumbaugh, A. R., & Mobley, H. L. T. (2011). Redundancy and Specificity of *Escherichia coli* Iron Acquisition Systems during Urinary Tract Infection. *Infection and Immunity*, 79(3), 1225-1235. <https://doi.org/10.1128/IAI.01222-10>
- García, V., García-Meniño, I., Gómez, V., Jiménez-Orellana, M., Méndez, A., Aguarón, A., Roca, E., & Mora, A. (2022). Mobile colistin resistance (MCR), extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) and multidrug resistance monitoring in *Escherichia coli* (commensal and pathogenic) in pig farming : Need of harmonized guidelines and clinical breakpoints. *Frontiers in Microbiology*, 13, 1042612.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1042612>

- García, V., Lestón, L., Parga, A., García-Meniño, I., Fernández, J., Otero, A., Olsen, J. E., Herrero-Fresno, A., & Mora, A. (2023). Genomics, biofilm formation and infection of bladder epithelial cells in potentially uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) from animal sources and human urinary tract infections (UTIs) further support food-borne transmission. *One Health*, *16*, 100558. <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2023.100558>
- García-Meniño, I., Díaz-Jiménez, D., García, V., De Toro, M., Flament-Simon, S. C., Blanco, J., & Mora, A. (2019). Genomic Characterization of Prevalent *mcr-1*, *mcr-4*, and *mcr-5* *Escherichia coli* Within Swine Enteric Colibacillosis in Spain. *Frontiers in Microbiology*, *10*, 2469. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02469>
- García-Meniño, I., García, V., Lumbreras-Iglesias, P., Fernández, J., & Mora, A. (2024). Fluoroquinolone resistance in complicated urinary tract infections : Association with the increased occurrence and diversity of *Escherichia coli* of clonal complex 131, together with ST1193. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *14*, 1351618. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1351618>
- García-Meniño, I., García, V., Mora, A., Díaz-Jiménez, D., Flament-Simon, S. C., Alonso, M. P., Blanco, J. E., Blanco, M., & Blanco, J. (2018). Swine enteric colibacillosis in Spain : Pathogenic potential of *mcr-1* ST10 and ST131 *E. Coli* Isolates. *Frontiers in Microbiology*, *9*(NOV). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02659>
- García-Meniño, I., Lumbreras, P., Lestón, L., Álvarez-Álvarez, M., García, V., Hammerl, J. A., Fernández, J., & Mora, A. (2022a). Occurrence and Genomic Characterization of Clone ST1193 Clonotype 14-64 in Uncomplicated Urinary Tract Infections Caused by *Escherichia coli* in Spain. *Microbiology Spectrum*, *10*(3), e00041-22. <https://doi.org/10.1128/spectrum.00041-22>
- García-Meniño, I., Lumbreras, P., Lestón, L., Álvarez-Álvarez, M., García, V., Hammerl, J. A., Fernández, J., & Mora, A. (2022b). Occurrence and Genomic Characterization of

- Clone ST1193 Clonotype 14-64 in Uncomplicated Urinary Tract Infections Caused by *Escherichia coli* in Spain. *Microbiology Spectrum*, 10(3), e00041-22.
<https://doi.org/10.1128/spectrum.00041-22>
- Girlich, D., Bouihat, N., Poirel, L., Benouda, A., & Nordmann, P. (2014). High rate of faecal carriage of extended-spectrum β -lactamase and OXA-48 carbapenemase-producing Enterobacteriaceae at a University hospital in Morocco. *Clinical Microbiology and Infection*, 20(4), 350-354. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12325>
- Giuffrè, M., Cipolla, D., Bonura, C., Geraci, D. M., Aleo, A., Di Noto, S., Nociforo, F., Corsello, G., & Mammina, C. (2013). Outbreak of colonizations by extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* sequence type 131 in a neonatal intensive care unit, Italy. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 2(1), 8.
<https://doi.org/10.1186/2047-2994-2-8>
- Gómez-Duarte, O. G., Arzuza, O., Urbina, D., Bai, J., Guerra, J., Montes, O., Puello, M., Mendoza, K., & Castro, G. Y. (2010). Detection of *Escherichia coli* Enteropathogens by Multiplex Polymerase Chain Reaction from Children's Diarrheal Stools in Two Caribbean-Colombian Cities. *Foodborne Pathogens and Disease*, 7(2), 199-206.
<https://doi.org/10.1089/fpd.2009.0355>
- Gomi, R., Matsumura, Y., Yamamoto, M., Tanaka, M., Komakech, A. J., Matsuda, T., & Harada, H. (2024). Genomic surveillance of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* in fecal sludge and sewage in Uganda. *Water Research*, 248, 120830.
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2023.120830>
- Grey, B., Upton, M., & Joshi, L. T. (2023). Urinary tract infections : A review of the current diagnostics landscape. *Journal of Medical Microbiology*, 72(11).
<https://doi.org/10.1099/jmm.0.001780>

- Gu, D., Dong, N., Zheng, Z., Lin, D., Huang, M., Wang, L., Chan, E. W.-C., Shu, L., Yu, J., Zhang, R., & Chen, S. (2018). A fatal outbreak of ST11 carbapenem-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* in a Chinese hospital : A molecular epidemiological study. *The Lancet Infectious Diseases*, 18(1), 37-46.
[https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30489-9](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30489-9)
- Guerhazi-Toumi, S., Boujlel, S., Assoudi, M., Issaoui, R., Tlili, S., & Hlaïem, M. E. (2018). Susceptibility profiles of bacteria causing urinary tract infections in Southern Tunisia. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 12, 48-52.
<https://doi.org/10.1016/j.jgar.2017.09.004>
- Gupta, V., Ye, G., Olesky, M., Lawrence, K., Murray, J., & Yu, K. (2019). Trends in resistant Enterobacteriaceae and Acinetobacter species in hospitalized patients in the United States : 2013–2017. *BMC Infectious Diseases*, 19(1), 742.
<https://doi.org/10.1186/s12879-019-4387-3>
- Gutmann, L., Ferré, B., Goldstein, F. W., Rizk, N., Pinto-Schuster, E., Acar, J. F., & Collatz, E. (1989). SHV-5, a novel SHV-type beta-lactamase that hydrolyzes broad-spectrum cephalosporins and monobactams. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 33(6), 951-956. <https://doi.org/10.1128/AAC.33.6.951>
- Hammami, S., Saidani, M., Ferjeni, S., Aissa, I., Slim, A., & Boutiba-Ben Boubaker, I. (2013). Characterization of Extended Spectrum β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* in Community-Acquired Urinary Tract Infections in Tunisia. *Microbial Drug Resistance*, 19(3), 231-236. <https://doi.org/10.1089/mdr.2012.0172>
- Hammoudi, D., Ayoub Moubareck, C., & Karam Sarkis, D. (2014). How to detect carbapenemase producers? A literature review of phenotypic and molecular methods. *Journal of Microbiological Methods*, 107, 106-118.
<https://doi.org/10.1016/j.mimet.2014.09.009>

- Hammoudi Halat, D., & Ayoub Moubareck, C. (2020). The Current Burden of Carbapenemases : Review of Significant Properties and Dissemination among Gram-Negative Bacteria. *Antibiotics*, 9(4), 186. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9040186>
- Hassuna, N. A., Rabea, E. M., Mahdi, W. K. M., & Abdelraheem, W. M. (2024). Biofilm formation and antimicrobial resistance pattern of uropathogenic E. coli ST131 isolated from children with malignant tumors. *The Journal of Antibiotics*, 77(5), 324-330. <https://doi.org/10.1038/s41429-024-00704-8>
- Holt, K. E., Wertheim, H., Zadoks, R. N., Baker, S., Whitehouse, C. A., Dance, D., Jenney, A., Connor, T. R., Hsu, L. Y., Severin, J., Brisse, S., Cao, H., Wilksch, J., Gorrie, C., Schultz, M. B., Edwards, D. J., Nguyen, K. V., Nguyen, T. V., Dao, T. T., ... Thomson, N. R. (2015). Genomic analysis of diversity, population structure, virulence, and antimicrobial resistance in *Klebsiella pneumoniae* , an urgent threat to public health. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(27). <https://doi.org/10.1073/pnas.1501049112>
- Hussaini, I. M., Suleiman, A. B., Olonitola, O. S., & Oyi, R. A. (2024). Antibiotic susceptibility pattern of carbapenem resistant Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae, 2019. *The Microbe*, 5, 100174. <https://doi.org/10.1016/j.microb.2024.100174>
- Hyun, M., Lee, J. Y., Kim, H. A., & Ryu, S. Y. (2019). Comparison of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* Acute Pyelonephritis in Korean Patients. *Infection & Chemotherapy*, 51(2), 130. <https://doi.org/10.3947/ic.2019.51.2.130>
- Ikuta, K. S., Swetschinski, L. R., Robles Aguilar, G., Sharara, F., Mestrovic, T., Gray, A. P., Davis Weaver, N., Wool, E. E., Han, C., Gershberg Hayoon, A., Aali, A., Abate, S. M., Abbasi-Kangevari, M., Abbasi-Kangevari, Z., Abd-Elsalam, S., Abebe, G., Abedi, A., Abhari, A. P., Abidi, H., ... Naghavi, M. (2022). Global mortality associated with

- 33 bacterial pathogens in 2019 : A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *The Lancet*, 400(10369), 2221-2248.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)02185-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)02185-7)
- Imran, H., Khan, Z., Saleem, F., Gull, S., & Tahir, A. (2023). The growing threat of antibiotic resistance in wound infections : Evidence from tertiary care in Pakistan. *Archives of Biological Sciences*, 75(3), 263-277. <https://doi.org/10.2298/ABS230313021I>
- Iskandar, K., Rizk, R., Matta, R., Husni-Samaha, R., Sacre, H., Bouraad, E., Dirani, N., Salameh, P., Molinier, L., Roques, C., Dimassi, A., Hallit, S., Abdo, R., Hanna, P. A., Yared, Y., Matta, M., & Mostafa, I. (2021). Economic Burden of Urinary Tract Infections From Antibiotic-Resistant Escherichia coli Among Hospitalized Adult Patients in Lebanon : A Prospective Cohort Study. *Value in Health Regional Issues*, 24, 38-46. <https://doi.org/10.1016/j.vhri.2020.01.006>
- Jarlier, V., Nicolas, M.-H., Fournier, G., & Philippon, A. (1988). Extended Broad-Spectrum -Lactamases Conferring Transferable Resistance to Newer -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>
- Jauregui, F., Landraud, L., Passet, V., Diancourt, L., Frapy, E., Guigon, G., Carbonnelle, E., Lortholary, O., Clermont, O., Denamur, E., Picard, B., Nassif, X., & Brisse, S. (2008). Phylogenetic and genomic diversity of human bacteremic Escherichia coli strains. *BMC Genomics*, 9(1), 560. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-560>
- Jindal, J., Meelu, A., Kaur, S., Chahal, H., Makkar, V., & Garg, V. (2022). Clinical profile and outcome in patients of complicated urinary tract infections : A single-center prospective observational study. *International Journal of Applied and Basic Medical Research*, 12(3), 167. https://doi.org/10.4103/ijabmr.ijabmr_50_22

- Johnson, J. R., Gajewski, A., Lesse, A. J., & Russo, T. A. (2003). Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* as a cause of invasive nonurinary infections. *Journal of clinical microbiology*, 41(12), 5798-5802.
- Johnson, J. R., & O'Bryan, T. T. (2004). Detection of the *Escherichia coli* group 2 polysaccharide capsule synthesis Gene kpsM by a rapid and specific PCR-based assay. *Journal of clinical microbiology*, 42(4), 1773-1776.
- Johnson, J. R., Porter, S., Johnston, B., Kuskowski, M. A., Spurbeck, R. R., Mobley, H. L. T., & Williamson, D. A. (2015). Host Characteristics and Bacterial Traits Predict Experimental Virulence for *Escherichia coli* Bloodstream Isolates From Patients With Urosepsis. *Open Forum Infectious Diseases*, 2(3), ofv083.
<https://doi.org/10.1093/ofid/ofv083>
- Johnson, J. R., Russo, T. A., Tarr, P. I., Carlino, U., Bilge, S. S., Vary, J. C., & Stell, A. L. (2000). Molecular epidemiological and phylogenetic associations of two novel putative virulence genes, *iha* and *iroN*(*E. coli*), among *Escherichia coli* isolates from patients with urosepsis. *Infection and immunity*, 68(5), 3040-3047.
- Johnson, J. R., Stapleton, A. E., Russo, T. A., Scheutz, F., Brown, J. J., & Maslow, J. N. (1997). Characteristics and prevalence within serogroup O4 of a J96-like clonal group of uropathogenic *Escherichia coli* O4:H5 containing the class I and class III alleles of *papG*. *Infection and Immunity*, 65(6), 2153-2159.
<https://doi.org/10.1128/iai.65.6.2153-2159.1997>
- Johnson, J. R., & Stell, A. L. (2000a). Extended Virulence Genotypes of *Escherichia coli* Strains from Patients with Urosepsis in Relation to Phylogeny and Host Compromise. *The Journal of Infectious Diseases*, 181(1), 261-272. <https://doi.org/10.1086/315217>

- Johnson, J. R., & Stell, A. L. (2000b). Extended Virulence Genotypes of *Escherichia coli* Strains from Patients with Urosepsis in Relation to Phylogeny and Host Compromise. *The Journal of Infectious Diseases*, 181(1), 261-272. <https://doi.org/10.1086/315217>
- Johnson, T. J., Elnekave, E., Miller, E. A., Munoz-Aguayo, J., Flores Figueroa, C., Johnston, B., Nielson, D. W., Logue, C. M., & Johnson, J. R. (2019). Phylogenomic Analysis of Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* Sequence Type 1193, an Emerging Multidrug-Resistant Clonal Group. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 63(1), e01913-18. <https://doi.org/10.1128/AAC.01913-18>
- Kaza, P., Xavier, B. B., Mahindroo, J., Singh, N., Baker, S., Nguyen, T. N. T., Mavuduru, R. S., Mohan, B., & Taneja, N. (2024). Extensively Drug-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Associated with Complicated Urinary Tract Infection in Northern India. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 77(1), 7-15. <https://doi.org/10.7883/yoken.JJID.2023.009>
- Kedišaletše, M., Phumuzile, D., Angela, D., Andrew, W., & Mae, N.-F. (2023). Epidemiology, risk factors, and clinical outcomes of carbapenem-resistant Enterobacterales in Africa : A systematic review. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 35, 297-306. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2023.10.008>
- 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>
- Khadka, S., Ring, B. E., Walker, R. S., Krzeminski, L. R., Pariseau, D. A., Hathaway, M., Mobley, H. L. T., & Mike, L. A. (2023). Urine-mediated suppression of *Klebsiella pneumoniae* mucoidy is counteracted by spontaneous Wzc variants altering capsule chain length. *mSphere*, 8(5), e00288-23. <https://doi.org/10.1128/msphere.00288-23>

- Khan, H. A., Baig, F. K., & Mehboob, R. (2017). Nosocomial infections : Epidemiology, prevention, control and surveillance. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(5), 478-482. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2017.01.019>
- Kilani, H., Abbassi, M. S., Ferjani, S., Ben Salem, R., Mansouri, R., Ben Chehida, N., & Boutiba-Ben Boubaker, I. (2017). Diverse Escherichia coli pathovars of phylogroups B2 and D isolated from animals in Tunisia. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 11(07), 549-556. <https://doi.org/10.3855/jidc.8579>
- Klein, R. D., & Hultgren, S. J. (2020). Urinary tract infections : Microbial pathogenesis, host–pathogen interactions and new treatment strategies. *Nature Reviews Microbiology*, 18(4), 211-226. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0324-0>
- Kocsis, B., Gulyás, D., & Szabó, D. (2022). Emergence and Dissemination of Extraintestinal Pathogenic High-Risk International Clones of Escherichia coli. *Life*, 12(12), 2077. <https://doi.org/10.3390/life12122077>
- Koeck, J. (1997). A plasmid-mediated CMY-2 β -lactamase from an Algerian clinical isolate of Salmonella senftenberg. *FEMS Microbiology Letters*, 152(2), 255-260. [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(97\)00206-1](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(97)00206-1)
- Krumperman, P. H. (1983). Multiple antibiotic resistance indexing of Escherichia coli to identify high-risk sources of fecal contamination of foods. *Applied and Environmental Microbiology*, 46(1), 165-170. <https://doi.org/10.1128/aem.46.1.165-170.1983>
- 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>
- Kumabe, A., & Kenzaka, T. (2014). String test of hypervirulent Klebsiella pneumonia. *QJM*, 107(12), 1053-1053. <https://doi.org/10.1093/qjmed/hcu124>

Lahdibi Sahraoui, H., Qasmaoui, A., Charof, R., Hamamouchi, J., & Berny, E. H. (2021).

Nosocomial infections : Importance of rapid and early detection of ESBL

Enterobacteriaceae by molecular biology. *E3S Web of Conferences*, 319, 01014.

<https://doi.org/10.1051/e3sconf/202131901014>

Laxminarayan, R., Duse, A., Wattal, C., Zaidi, A. K. M., Wertheim, H. F. L., Sumpradit, N.,

Vlieghe, E., Hara, G. L., Gould, I. M., Goossens, H., Greko, C., So, A. D., Bigdeli,

M., Tomson, G., Woodhouse, W., Ombaka, E., Peralta, A. Q., Qamar, F. N., Mir, F.,

... Cars, O. (2013). Antibiotic resistance—The need for global solutions. *The Lancet*

Infectious Diseases, 13(12), 1057-1098. <https://doi.org/10.1016/S1473->

3099(13)70318-9

Le Bouguenec, C., Archambaud, M., & Labigne, A. (1992). Rapid and specific detection of

the pap, afa, and sfa adhesin-encoding operons in uropathogenic *Escherichia coli*

strains by polymerase chain reaction. *Journal of Clinical Microbiology*, 30(5),

1189-1193. <https://doi.org/10.1128/jcm.30.5.1189-1193.1992>

Le Bouguenec, C., Archambaud, M., & Labigne, A. (1992). Rapid and specific detection of

the pap, afa, and sfa adhesin-encoding operons in uropathogenic *Escherichia coli*

strains by polymerase chain reaction. *Journal of clinical microbiology*, 30(5),

1189-1193.

Lee, C.-H., Chuah, S.-K., Tai, W.-C., Chang, C.-C., & Chen, F.-J. (2017). Delay in Human

Neutrophil Constitutive Apoptosis after Infection with *Klebsiella pneumoniae*

Serotype K1. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 7.

<https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00087>

Lescat, M., Clermont, O., Woerther, P. L., Glodt, J., Dion, S., Skurnik, D., Djossou, F.,

Dupont, C., Perroz, G., Picard, B., Catzeflis, F., Andremont, A., & 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>
- Li, G., Sun, S., Zhao, Z. Y., & Sun, Y. (2019). The pathogenicity of *rmpA* or aerobactin-positive *Klebsiella pneumoniae* in infected mice. *Journal of International Medical Research*, 47(9), 4344-4352. <https://doi.org/10.1177/0300060519863544>
- Li, L., Li, S., Wei, X., Lu, Z., Qin, X., & Li, M. (2023). Infection with Carbapenem-resistant Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* : Clinical, virulence and molecular epidemiological characteristics. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 12(1), 124. <https://doi.org/10.1186/s13756-023-01331-y>
- Li, W., Sun, G., Yu, Y., Li, N., Chen, M., Jin, R., Jiao, Y., & Wu, H. (2014). Increasing Occurrence of Antimicrobial-Resistant Hypervirulent (Hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae* Isolates in China. *Clinical Infectious Diseases*, 58(2), 225-232. <https://doi.org/10.1093/cid/cit675>
- Liakopoulos, A., Mevius, D., & Ceccarelli, D. (2016). A Review of SHV Extended-Spectrum β -Lactamases : Neglected Yet Ubiquitous. *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01374>
- Lin, T.-H., Wu, C.-C., Tseng, C.-Y., Fang, J.-H., & Lin, C.-T. (2022). Effects of gallic acid on capsular polysaccharide biosynthesis in *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 55(6), 1255-1262. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2021.07.002>
- Lindblom, A., Kiszakiewicz, C., Kristiansson, E., Yazdanshenas, S., Kamenska, N., Karami, N., & Åhrén, C. (2022). The impact of the ST131 clone on recurrent ESBL-producing *E. coli* urinary tract infection : A prospective comparative study. *Scientific Reports*, 12(1), 10048. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-14177-y>

- Liu, C., Dong, N., Chan, E. W. C., Chen, S., & Zhang, R. (2022a). Molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in China, 2016–20. *The Lancet Infectious Diseases*, 22(2), 167-168. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(22\)00009-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(22)00009-3)
- Liu, C., Dong, N., Chan, E. W. C., Chen, S., & Zhang, R. (2022b). Molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in China, 2016–20. *The Lancet Infectious Diseases*, 22(2), 167-168. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(22\)00009-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(22)00009-3)
- Liu, Y.-C. (1986). *Klebsiella pneumoniae* Liver Abscess Associated With Septic Endophthalmitis. *Archives of Internal Medicine*, 146(10), 1913. <https://doi.org/10.1001/archinte.1986.00360220057011>
- Loqman, S., Soraa, N., Diene, S. M., & Rolain, J.-M. (2021). Dissemination of Carbapenemases (OXA-48, NDM and VIM) Producing Enterobacteriaceae Isolated from the Mohamed VI University Hospital in Marrakech, Morocco. *Antibiotics*, 10(5), 492. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10050492>
- 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>
- 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>
- M. Shakir, Z., O. Alhatami, A., Ismail Khudhair, Y., & Muhsen Abdulwahab, H. (2021). Antibiotic resistance profile and Multiple Antibiotic Resistance (MAR) index of

- Campylobacter spp. Isolated from poultry. *Archives of Razi Institute*, (Online First).
<https://doi.org/10.22092/ari.2021.356400.1837>
- Ma, X., Zhang, L., Yue, C., Liu, Y., & Li, J. (2022). The Anti-Virulence Effect of Sub-Minimal Inhibitory Concentrations of Levofloxacin on Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *Infection and Drug Resistance*, Volume 15, 3513-3522.
<https://doi.org/10.2147/IDR.S370273>
- Magiorakos, A.-P., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M. E., Giske, C. G., Harbarth, S., Hindler, J. F., Kahlmeter, G., Olsson-Liljequist, B., Paterson, D. L., Rice, L. B., Stelling, J., Struelens, M. J., Vatopoulos, A., Weber, J. T., & Monnet, D. L. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria : An international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(3), 268-281.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>
- 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>
- 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. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 74(7), 1848-1855. <https://doi.org/10.1093/jac/dkz146>
- Mancuso, G., Midiri, A., Gerace, E., Marra, M., Zummo, S., & Biondo, C. (2023a). Urinary Tract Infections : The Current Scenario and Future Prospects. *Pathogens*, 12(4), 623.
<https://doi.org/10.3390/pathogens12040623>

- Mancuso, G., Midiri, A., Gerace, E., Marra, M., Zummo, S., & Biondo, C. (2023b). Urinary Tract Infections : The Current Scenario and Future Prospects. *Pathogens*, 12(4), 623. <https://doi.org/10.3390/pathogens12040623>
- Mantengoli, E., Luzzaro, F., Pecile, P., Cecconi, D., Cavallo, A., Attala, L., Bartoloni, A., & Rossolini, G. M. (2011). Escherichia coli ST131 Producing Extended-Spectrum - Lactamases Plus VIM-1 Carbapenemase : Further Narrowing of Treatment Options. *Clinical Infectious Diseases*, 52(5), 690-691. <https://doi.org/10.1093/cid/ciq194>
- Marathe, N. P., Salvà-Serra, F., Karlsson, R., Larsson, D. G. J., Moore, E. R. B., Svensson-Stadler, L., & Jakobsson, H. E. (2019). Scandinavium goeteborgense gen. Nov., sp. Nov., a New Member of the Family Enterobacteriaceae Isolated From a Wound Infection, Carries a Novel Quinolone Resistance Gene Variant. *Frontiers in Microbiology*, 10, 2511. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02511>
- Mathers, A. J., Peirano, G., & Pitout, J. D. 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>
- Mathlouthi, N., Al-Bayssari, C., El Salabi, A., Bakour, S., Ben Gwierif, S., Zorgani, A. A., Jridi, Y., Ben Slama, K., Rolain, J.-M., & Chouchani, C. (2016a). Carbapenemases and extended-spectrum β -lactamases producing Enterobacteriaceae isolated from Tunisian and Libyan hospitals. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 10(07), 718-727. <https://doi.org/10.3855/jidc.7426>
- Mathlouthi, N., Al-Bayssari, C., El Salabi, A., Bakour, S., Ben Gwierif, S., Zorgani, A. A., Jridi, Y., Ben Slama, K., Rolain, J.-M., & Chouchani, C. (2016b). Carbapenemases and extended-spectrum β -lactamases producing Enterobacteriaceae isolated from

- Tunisian and Libyan hospitals. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 10(07), 718-727. <https://doi.org/10.3855/jidc.7426>
- Matthew, M., Hedges, R. W., & Smith, J. T. (1979). Types of beta-lactamase determined by plasmids in gram-negative bacteria. *Journal of Bacteriology*, 138(3), 657-662. <https://doi.org/10.1128/jb.138.3.657-662.1979>
- Mazumder, R., Abdullah, A., Ahmed, D., & Hussain, A. (2020). High Prevalence of blaCTX-M-15 Gene among Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* Isolates Causing Extraintestinal Infections in Bangladesh. *Antibiotics*, 9(11), 796. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9110796>
- Mazumder, R., Hussain, A., Phelan, J. E., Campino, S., Haider, S. M. A., Mahmud, A., Ahmed, D., Asadulghani, M., Clark, T. G., & Mondal, D. (2022). Non-lactose fermenting *Escherichia coli* : Following in the footsteps of lactose fermenting *E. coli* high-risk clones. *Frontiers in Microbiology*, 13, 1027494. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1027494>
- Messaoudi, A., Haenni, M., Mansour, W., Saras, E., Bel Haj Khalifa, A., Chaouch, C., Naija, W., Boujâafar, N., Bouallègue, O., & Madec, J.-Y. (2017). ST147 NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* spread in two Tunisian hospitals : Table 1. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 72(1), 315-316. <https://doi.org/10.1093/jac/dkw401>
- Mhaya, A., Trabelsi, R., Begu, D., Aillerie, S., M'zali, F., Tounsi, S., Gdoura, R., & Arpin, C. (2019). Emergence of B2-ST131-C2 and A-ST617 *Escherichia coli* clones producing both CTX-M-15- and CTX-M-27 and ST147 NDM-1 positive *Klebsiella pneumoniae* in the Tunisian community. <https://doi.org/10.1101/713461>
- Miller, W. R., & Arias, C. A. (2024). ESKAPE pathogens : Antimicrobial resistance, epidemiology, clinical impact and therapeutics. *Nature Reviews Microbiology*, 22(10), 598-616. <https://doi.org/10.1038/s41579-024-01054-w>

- Mills, M., Meysick, K. C., & O'Brien, A. D. (2000). Cytotoxic Necrotizing Factor Type 1 of Uropathogenic *Escherichia coli* Kills Cultured Human Uroepithelial 5637 Cells by an Apoptotic Mechanism. *Infection and Immunity*, 68(10), 5869-5880.
<https://doi.org/10.1128/IAI.68.10.5869-5880.2000>
- Mir, R., Salari, S., Najimi, M., & Rashki, A. (2022). Determination of frequency, multiple antibiotic resistance index and resistotype of *Salmonella* spp. In chicken meat collected from southeast of Iran. *Veterinary Medicine and Science*, 8(1), 229-236.
<https://doi.org/10.1002/vms3.647>
- Mirzaei, B., Babaei, R., Bazgir, Z. N., Goli, H. R., Keshavarzi, S., & Amiri, E. (2021). Prevalence of Enterobacteriaceae spp. and its multidrug-resistant rates in clinical isolates : A two-center cross-sectional study. *Molecular Biology Reports*, 48(1), 665-675. <https://doi.org/10.1007/s11033-020-06114-x>
- Mlaga, K. D., Lotte, R., Montaudié, H., Rolain, J.-M., & Ruimy, R. (2017). 'Nissabacter archeti' gen. Nov., sp. Nov., a new member of Enterobacteriaceae family, isolated from human sample at Archet 2 Hospital, Nice, France. *New Microbes and New Infections*, 17, 81-83. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2017.02.001>
- Mnif, B., & Hammami, A. (2020). Emergence and treatment of community-acquired OXA-48 producing Enterobacteriaceae infections in Tunisia. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 53(2), 360-362. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2019.10.003>
- Mnif, B., Harhour, H., Jdidi, J., Mahjoubi, F., Genel, N., Arlet, G., & Hammami, A. (2013). Molecular epidemiology of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in Tunisia and characterization of their virulence factors and plasmid addiction systems. *BMC Microbiology*, 13(1), 147. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-13-147>
- Mo, S. S., Fiskebeck, E. Z., Slettemeås, J. S., Lagesen, K., Nilsson, O., Naseer, U., Jørgensen, S. B., Thorsteinsdottir, T. R., & Sunde, M. (2023). *Escherichia coli* multilocus

- sequence type 38 from humans and broiler production represent distinct monophyletic groups. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1173287.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1173287>
- Mohamed, E. S., Khairy, R. M. M., & Abdelrahim, S. S. (2020). Prevalence and molecular characteristics of ESBL and AmpC β -lactamase producing Enterobacteriaceae strains isolated from UTIs in Egypt. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 9(1), 198.
<https://doi.org/10.1186/s13756-020-00856-w>
- Mohd Asri, N. A., Ahmad, S., Mohamud, R., Mohd Hanafi, N., Mohd Zaidi, N. F., Irekeola, A. A., Shueb, R. H., Yee, L. C., Mohd Noor, N., Mustafa, F. H., Yean, C. Y., & Yusof, N. Y. (2021). Global Prevalence of Nosocomial Multidrug-Resistant Klebsiella pneumoniae : A Systematic Review and Meta-Analysis. *Antibiotics*, 10(12), 1508.
<https://doi.org/10.3390/antibiotics10121508>
- Moja, L., Zanichelli, V., Mertz, D., Gandra, S., Cappello, B., Cooke, G. S., Chuki, P., Harbarth, S., Pulcini, C., Mendelson, M., Tacconelli, E., Ombajo, L. A., Chitatanga, R., Zeng, M., Imi, M., Elias, C., Ashorn, P., Marata, A., Paulin, S., ... Loeb, M. (2024). WHO's essential medicines and AWaRe : Recommendations on first- and second-choice antibiotics for empiric treatment of clinical infections. *Clinical Microbiology and Infection*, 30, S1-S51. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2024.02.003>
- Mora, A., Dahbi, G., López, C., Mamani, R., Marzoa, J., Dion, S., Picard, B., Blanco, M., Alonso, M. P., Denamur, E., & Blanco, J. (2014). Virulence Patterns in a Murine Sepsis Model of ST131 Escherichia coli Clinical Isolates Belonging to Serotypes O25b:H4 and O16:H5 Are Associated to Specific Virotypes. *PLoS ONE*, 9(1), e87025.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087025>
- Mora, A., Herrera, A., López, C., Dahbi, G., Mamani, R., Pita, J. M., Alonso, M. P., Llovo, J., Bernárdez, M. I., Blanco, J. E., Blanco, M., & Blanco, J. (2011). Characteristics of

- the Shiga-toxin-producing enteroaggregative Escherichia coli O104:H4 German outbreak strain and of STEC strains isolated in Spain. *International microbiology : the official journal of the Spanish Society for Microbiology*, 14(3), 121-141.
<https://doi.org/10.2436/20.1501.01.142>
- Mora, A., Viso, S., López, C., Alonso, M. P., García-Garrote, F., Dabhi, G., Mamani, R., Herrera, A., Marzoa, J., Blanco, M., Blanco, J. E., Moulin-Schouleur, M., Schouler, C., & Blanco, J. (2013). Poultry as reservoir for extraintestinal pathogenic Escherichia coli O45 : K1 : H7-B2-ST95 in humans. *Veterinary Microbiology*, 167(3-4), 506-512.
<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.08.007>
- Moulin-Schouleur, M., Schouler, C., Tailliez, P., Kao, M.-R., Brée, A., Germon, P., Oswald, E., Mainil, J., Blanco, M., & Blanco, J. (2006). Common virulence factors and genetic relationships between O18:K1:H7 Escherichia coli isolates of human and avian origin. *Journal of clinical microbiology*, 44(10), 3484-3492.
<https://doi.org/10.1128/JCM.00548-06>
- Murray, C. J. L., Ikuta, K. S., Sharara, F., Swetschinski, L., Robles Aguilar, G., Gray, A., Han, C., Bisignano, C., Rao, P., Wool, E., Johnson, S. C., Browne, A. J., Chipeta, M. G., Fell, F., Hackett, S., Haines-Woodhouse, G., Kashef Hamadani, B. H., Kumaran, E. A. P., McManigal, B., ... Naghavi, M. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019 : A systematic analysis. *The Lancet*, 399(10325), 629-655. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0)
- MUYLAERT A., MAINIL J.G. (2012, juillet 9). *Résistances bactériennes aux antibiotiques : Les mécanismes et leur « contagiosité »*. 109-123.
- Naas, T., Poirel, L., & Nordmann, P. (2008). Minor extended-spectrum β -lactamases. *Clinical Microbiology and Infection*, 14, 42-52. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01861.x>

- Nabti, L. Z., Sahli, F., Hadjadj, L., Ngaiganam, E. P., Lupande-Mwenebitu, D., Rolain, J.-M., & Diene, S. M. (2019). Autochthonous case of mobile colistin resistance gene *mcr-1* from a uropathogenic *Escherichia coli* isolate in Sétif Hospital, Algeria. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 19, 356-357.
<https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.10.006>
- Nabti, L. Z., Sahli, F., Olowo-okere, A., Benslama, A., Harrar, A., Lupande-Mwenebitu, D., Diene, S. M., & Rolain, J.-M. (2021). Molecular Characterization of Clinical Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Isolates from Sétif, Algeria. *Microbial Drug Resistance*, mdr.2021.0123. <https://doi.org/10.1089/mdr.2021.0123>
- 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>
- Nabti Zakaria. (2020). *Sensibilité aux antibiotiques et aux huiles essentielles d'Origanum glandulosum Desf. Des souches d'Escherichia coli isolées d'infection urinaire au CHU de Sétif*. [Université Ferhat Abbas Sétif 1]. <https://theses-algerie.com/2163008413937866/these-de-doctorat/universite-ferhat-abbas---setif-1/sensibilit%C3%A9-aux-antibiotiques-et-aux-huiles-essentielles-d-origanum-glandulosumdesf-des-souches-d-escherichia-coli-isol%C3%A9es-d-infection-urinaire-au-chu-de-s%C3%A9tif>
- Naskar, M., Parekh, V. P., Abraham, M. A., Alibasic, Z., Kim, M. J., Suk, G., Noh, J. H., Ko, K. Y., Lee, J., Kim, C., Yoon, H., Abraham, S. N., & Choi, H. W. (2023). α -Hemolysin promotes uropathogenic *E. coli* persistence in bladder epithelial cells via

- abrogating bacteria-harboring lysosome acidification. *PLOS Pathogens*, 19(5), e1011388. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1011388>
- Nedjai, S., Barguigua, A., Djahmi, N., Jamali, L., Zerouali, K., Dekhil, M., & Timinouni, M. (2012). Prevalence and characterization of extended spectrum β -lactamases in Klebsiella-Enterobacter-Serratia group bacteria, in Algeria. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 42(1), 20-29. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2011.10.001>
- Neumann, B., Stürhof, C., Rath, A., Kieninger, B., Eger, E., Müller, J. U., Von Poblocki, A., Gerlitz, N., Wollschläger, P., Schneider-Brachert, W., Schaufler, K., Klaper, K., & Steinmann, J. (2023). Detection and characterization of putative hypervirulent Klebsiella pneumoniae isolates in microbiological diagnostics. *Scientific Reports*, 13(1), 19025. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-46221-w>
- Ng, T. M., Khong, W. X., Harris, P. N. A., De, P. P., Chow, A., Tambyah, P. A., & Lye, D. C. (2016). Empiric Piperacillin-Tazobactam versus Carbapenems in the Treatment of Bacteraemia Due to Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae. *PLOS ONE*, 11(4), e0153696. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153696>
- Nguyen, Q., Nguyen, T. T. N., Pham, P., Chau, V., Nguyen, L. P. H., Nguyen, T. D., Ha, T. T., Le, N. T. Q., Vu, D. T., Baker, S., Thwaites, G. E., Rabaa, M. A., & Pham, D. T. (2021). Genomic insights into the circulation of pandemic fluoroquinolone-resistant extra-intestinal pathogenic Escherichia coli ST1193 in Vietnam. *Microbial Genomics*, 7(12). <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000733>
- Nicolas, M. H., Jarlier, V., Honore, N., Philippon, A., & Cole, S. T. (1989). Molecular characterization of the gene encoding SHV-3 beta-lactamase responsible for transferable cefotaxime resistance in clinical isolates of Klebsiella pneumoniae.

- Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 33(12), 2096-2100.
<https://doi.org/10.1128/AAC.33.12.2096>
- Nicolas-Chanoine, M.-H., Blanco, J., Leflon-Guibout, V., Demarty, R., Alonso, M. P., Canica, M. M., Park, Y.-J., Lavigne, J.-P., Pitout, J., & Johnson, J. R. (2007). Intercontinental emergence of *Escherichia coli* clone O25:H4-ST131 producing CTX-M-15. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 61(2), 273-281.
<https://doi.org/10.1093/jac/dkm464>
- Nordmann, P. (2010). Résistance aux carbapénèmes chez les bacilles à Gram négatif. *médecine/sciences*, 26(11), 950-959. <https://doi.org/10.1051/medsci/20102611950>
- 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>
- 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>
- Octavia, S., & Lan, R. (2014). The Family Enterobacteriaceae. In E. Rosenberg, E. F. DeLong, S. Lory, E. Stackebrandt, & F. Thompson (Éds.), *The Prokaryotes* (p. 225-286). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-38922-1_167
- 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>

- Okafor, J., & Nweze, E. (2020). Antibiotic susceptibility of *Escherichia coli* isolated in cases of urinary tract infection in Nsukka, Nigeria. *Journal of Pre-Clinical and Clinical Research*, 14(1), 1-7. <https://doi.org/10.26444/jpccr/118949>
- Oldendorff, F., Linnér, A., Finder, M., Eisenlauer, P., Kjellberg, M., Giske, C. G., & Nordberg, V. (2022). Case Report : Fatal Outcome for a Preterm Newborn With Meningitis Caused by Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* Sequence Type 1193. *Frontiers in Pediatrics*, 10, 866762. <https://doi.org/10.3389/fped.2022.866762>
- OMS. (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*.
- Orakzai, N., Ali, L., Kakakhel, M. K., . A., Hayat, F., & Khan, I. (2021). Multi Drug Resistance (MDR) Urinary Tract Infection : An Evidence Based Study. *Pakistan Journal of Medical and Health Sciences*, 15(6), 1910-1913. <https://doi.org/10.53350/pjmhs211561910>
- Pajand, O., Rahimi, H., Darabi, N., Roudi, S., Ghassemi, K., Aarestrup, F. M., & Leekitcharoenphon, P. (2021). Arrangements of Mobile Genetic Elements among Virotype E Subpopulation of *Escherichia coli* Sequence Type 131 Strains with High Antimicrobial Resistance and Virulence Gene Content. *mSphere*, 6(4), e00550-21. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00550-21>
- Pakbin, B., Brück, W. M., & Rossen, J. W. A. (2021). Virulence Factors of Enteric Pathogenic *Escherichia coli* : A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(18), 9922. <https://doi.org/10.3390/ijms22189922>

- Partridge, S. R., Kwong, S. M., Firth, N., & Jensen, S. O. (2018). Mobile Genetic Elements Associated with Antimicrobial Resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 31(4), e00088-17. <https://doi.org/10.1128/CMR.00088-17>
- Peirano, G., & Pitout, J. D. D. (2025). Rapidly spreading *Enterobacterales* with OXA-48-like carbapenemases. *Journal of Clinical Microbiology*, 63(2), e01515-24. <https://doi.org/10.1128/jcm.01515-24>
- Peirano, G., Van Der Bij, A. K., Freeman, J. L., Poirel, L., Nordmann, P., Costello, M., Tchesnokova, V. L., & Pitout, J. D. D. (2014). Characteristics of Escherichia coli Sequence Type 131 Isolates That Produce Extended-Spectrum β -Lactamases : Global Distribution of the H 30-Rx Sublineage. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(7), 3762-3767. <https://doi.org/10.1128/AAC.02428-14>
- Pengdbamba Dieudonné, Z. (2024). *Contribution de l'intégration du gène blaOXA-48 dans la dissémination des clones ST38 d'Escherichia coli producteurs de carbapénémase* [Sorbonne Université]. <https://theses.hal.science/tel-04639049>
- Pérez-Pérez, F. J., & Hanson, N. D. (2002). Detection of plasmid-mediated AmpC beta-lactamase genes in clinical isolates by using multiplex PCR. *Journal of clinical microbiology*, 40(6), 2153-2162.
- Philippon, A., & Arlet, G. (2005). Les bêta-lactamases chez les bacilles à Gram-négatif : Que de nouveautés en 15 ans ! *Antibiotiques*, 7(4), 247-259. [https://doi.org/10.1016/S1294-5501\(05\)80458-3](https://doi.org/10.1016/S1294-5501(05)80458-3)
- Piazza, A., Corbella, M., Mattioni Marchetti, V., Merla, C., Mileto, I., Kuka, A., Petazzoni, G., Gaiarsa, S., Migliavacca, R., Baldanti, F., & Cambieri, P. (2024). Clinical isolates of ST131 blaOXA-244-positive Escherichia coli, Italy, December 2022 to July 2023. *Eurosurveillance*, 29(8). <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2024.29.8.2400073>

- Pitout, J. D. D., & DeVinney, R. (2017). Escherichia coli ST131 : A multidrug-resistant clone primed for global domination. *F1000Research*, 6, 195.
<https://doi.org/10.12688/f1000research.10609.1>
- Pitout, J. D. D., Peirano, G., Chen, L., DeVinney, R., & Matsumura, Y. (2022a). Escherichia coli ST1193 : Following in the Footsteps of E. coli ST131. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 66(7), e00511-22. <https://doi.org/10.1128/aac.00511-22>
- Pitout, J. D. D., Peirano, G., Chen, L., DeVinney, R., & Matsumura, Y. (2022b). Escherichia coli ST1193 : Following in the Footsteps of E. coli ST131. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 66(7), e00511-22. <https://doi.org/10.1128/aac.00511-22>
- Pitton, J.-S. (1972). Mechanisms of bacterial resistance to antibiotics. In *Ergebnisse der Physiologie Reviews of Physiology, Volume 65* (p. 15-93). Springer Berlin Heidelberg.
https://doi.org/10.1007/3-540-05814-1_2
- Podbielski, A., Schonling, J., Melzer, B., Warnatz, K., & Leusch, H.-G. (1991). Molecular characterization of a new plasmid-encoded SHV-type -lactamase (SHV-2 variant) conferring high-level cefotaxime resistance upon Klebsiella pneumoniae. *Journal of General Microbiology*, 137(3), 569-578. <https://doi.org/10.1099/00221287-137-3-569>
- 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>
- 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>
- Poirel, L., Rodriguez-Martinez, J.-M., Mammeri, H., Liard, A., & Nordmann, P. (2005). Origin of Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Determinant QnrA. *Antimicrobial*

- Agents and Chemotherapy*, 49(8), 3523-3525. <https://doi.org/10.1128/AAC.49.8.3523-3525.2005>
- Poirel, L., Walsh, T. R., Cuvillier, V., & Nordmann, P. (2011). Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 70(1), 119-123. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2010.12.002>
- Pomba, C., López-Cerero, L., Bellido, M., Serrano, L., Belas, A., Couto, N., Cavaco-Silva, P., Rodríguez-Baño, J., & Pascual, A. (2014). Within-lineage variability of ST131 *Escherichia coli* isolates from humans and companion animals in the south of Europe. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 69(1), 271-273. <https://doi.org/10.1093/jac/dkt343>
- Pulss, S., Stolle, I., Stamm, I., Leidner, U., Heydel, C., Semmler, T., Prenger-Berninghoff, E., & Ewers, C. (2018). Multispecies and Clonal Dissemination of OXA-48 Carbapenemase in Enterobacteriaceae From Companion Animals in Germany, 2009—2016. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1265. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01265>
- Quan, J., Dai, H., Liao, W., Zhao, D., Shi, Q., Zhang, L., Shi, K., Akova, M., & Yu, Y. (2021). Etiology and prevalence of ESBLs in adult community-onset urinary tract infections in East China : A prospective multicenter study. *Journal of Infection*, 83(2), 175-181. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2021.06.004>
- Rafailidis, P. I., Ioannidou, E. N., & Falagas, M. E. (2007). Ampicillin/Sulbactam : Current Status in Severe Bacterial Infections. *Drugs*, 67(13), 1829-1849. <https://doi.org/10.2165/00003495-200767130-00003>
- Rafaque, Z., Dasti, J. I., & Andrews, S. C. (2019). Draft genome sequence of a uropathogenic *Escherichia coli* isolate (ST38 O1:H15) from Pakistan, an emerging multidrug-resistant sequence type with a high virulence profile. *New Microbes and New Infections*, 27, 1-2. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2018.10.004>

- Rahmani, A., Meradi, L., & Piris, R. (2023). Molecular characterization of the whole genome in clinical multidrug-resistant strains of *Klebsiella pneumoniae*. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 17(01), 59-65. <https://doi.org/10.3855/jidc.17168>
- Ramadan, A. A., Abdelaziz, N. A., Amin, M. A., & Aziz, R. K. (2019). Novel blaCTX-M variants and genotype-phenotype correlations among clinical isolates of extended spectrum beta lactamase-producing *Escherichia coli*. *Scientific Reports*, 9(1), 4224. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39730-0>
- Ramdani-Bougoussa, N., Manageiro, V., Jones-Dias, D., Ferreira, E., Tazir, M., & Caniça, M. (2011). Role of SHV β -lactamase variants in resistance of clinical *Klebsiella pneumoniae* strains to β -lactams in an Algerian hospital. *Journal of Medical Microbiology*, 60(7), 983-987. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.030577-0>
- Ramdani-Bougoussa, N., Mendonça, N., Leitão, J., Ferreira, E., Tazir, M., & Caniça, M. (2006). CTX-M-3 and CTX-M-15 Extended-Spectrum β -Lactamases in Isolates of *Escherichia coli* from a Hospital in Algiers, Algeria. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(12), 4584-4586. <https://doi.org/10.1128/JCM.01445-06>
- Raphael, E., Glymour, M. M., & Chambers, H. F. (2021). Trends in prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* isolated from patients with community- and healthcare-associated bacteriuria : Results from 2014 to 2020 in an urban safety-net healthcare system. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 10(1), 118. <https://doi.org/10.1186/s13756-021-00983-y>
- Rebelo, A. R., Bortolaia, V., Kjeldgaard, J. S., Pedersen, S. K., Leekitcharoenphon, P., Hansen, I. M., Guerra, B., Malorny, B., Borowiak, M., Hammerl, J. A., Battisti, A., Franco, A., Alba, P., Perrin-Guyomard, A., Granier, S. A., De Frutos Escobar, C., Malhotra-Kumar, S., Villa, L., Carattoli, A., & 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. *Euro surveillance : bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin*, 23(6). <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.6.17-00672>
- Riegel, P., Briel, D. D., & Dauwalder, O. (2016). Automatisation de l'identification bactérienne. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2016(482), 39-47. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(16\)30171-X](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(16)30171-X)
- Rivera-Izquierdo, M., Láinez-Ramos-Bossini, A. J., Rivera-Izquierdo, C., López-Gómez, J., Fernández-Martínez, N. F., Redruello-Guerrero, P., Martín-delosReyes, L. M., Martínez-Ruiz, V., Moreno-Roldán, E., & Jiménez-Mejías, E. (2021). OXA-48 Carbapenemase-Producing Enterobacterales in Spanish Hospitals : An Updated Comprehensive Review on a Rising Antimicrobial Resistance. *Antibiotics*, 10(1), 89. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10010089>
- Robin, F., Aggoune-Khinache, N., Delmas, J., Naim, M., & Bonnet, R. (2010). Novel VIM Metallo- β -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>
- Rodrigues, C., Machado, E., Fernandes, S., Peixe, L., & Novais, Â. (2017). Different *Escherichia coli* B2-ST131 clades (B and C) producing extended-spectrum β - lactamases (ESBL) colonizing residents of Portuguese nursing homes. *Epidemiology and Infection*, 145(15), 3303-3306. <https://doi.org/10.1017/S0950268817002266>
- Rodríguez-Villodres, Á., Galiana-Cabrera, A., Torres Fink, I., Duran Jiménez, R., Cisneros, J. M., & Lepe, J. A. (2023). Evaluation of the MDR Direct Flow Chip Kit for the Detection of Multiple Antimicrobial Resistance Determinants. *Microbial Drug Resistance*, 29(8), 381-385. <https://doi.org/10.1089/mdr.2022.0264>

- Roy Chowdhury, P., Hastak, P., DeMaere, M., Wyrsch, E., Li, D., Elankumaran, P., Dolejska, M., Browning, G. F., Marena, M. S., Gottlieb, T., Cheong, E., Merlino, J., Myers, G. S. A., & Djordjevic, S. P. (2023). Phylogenomic analysis of a global collection of *Escherichia coli* ST38 : Evidence of interspecies and environmental transmission? *mSystems*, 8(5), e01236-22. <https://doi.org/10.1128/msystems.01236-22>
- Rubin, J. E., & Pitout, J. D. D. (2014). Extended-spectrum β -lactamase, carbapenemase and AmpC producing Enterobacteriaceae in companion animals. *Veterinary Microbiology*, 170(1-2), 10-18. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.01.017>
- Russo, T. A., & Marr, C. M. (2019). Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *Clinical Microbiology Reviews*, 32(3), e00001-19. <https://doi.org/10.1128/CMR.00001-19>
- Russo, T. A., Olson, R., Fang, C.-T., Stoesser, N., Miller, M., MacDonald, U., Hutson, A., Barker, J. H., La Hoz, R. M., Johnson, J. R., Backer, M., Bajwa, R., Catanzaro, A. T., Crook, D., De Almeda, K., Fierer, J., Greenberg, D. E., Klevay, M., Patel, P., ... Zola, J. (2018). Identification of Biomarkers for Differentiation of Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* from Classical *K. pneumoniae*. *Journal of Clinical Microbiology*, 56(9), e00776-18. <https://doi.org/10.1128/JCM.00776-18>
- Saïdani, M., Hammami, S., Kammoun, A., Slim, A., & Boutiba-Ben Boubaker, I. (2012). Emergence of carbapenem-resistant OXA-48 carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Tunisia. *Journal of Medical Microbiology*, 61(12), 1746-1749. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.045229-0>
- Saladin, M., Cao, V. T. B., Lambert, T., Donay, J.-L., Herrmann, J.-L., Ould-Hocine, Z., Verdet, C., Delisle, F., Philippon, A., & Arlet, G. (2002). Diversity of CTX-M beta-lactamases and their promoter regions from Enterobacteriaceae isolated in three Parisian hospitals. *FEMS microbiology letters*, 209(2), 161-168. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2002.tb11126.x>

- Salverda, M. L. M., De Visser, J. A. G. M., & Barlow, M. (2010). Natural evolution of TEM-1 β -lactamase : Experimental reconstruction and clinical relevance. *FEMS Microbiology Reviews*, 34(6), 1015-1036. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2010.00222.x>
- Santos, A. L., Dos Santos, A. P., Ito, C. R. M., Queiroz, P. H. P. D., De Almeida, J. A., De Carvalho Júnior, M. A. B., De Oliveira, C. Z., Avelino, M. A. G., Wastowski, I. J., Gomes, G. P. L. A., Souza, A. C. S. E., Vasconcelos, L. S. N. D. O. L., Santos, M. D. O., Da Silva, C. A., & Carneiro, L. C. (2020). Profile of Enterobacteria Resistant to Beta-Lactams. *Antibiotics*, 9(7), 410. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9070410>
- 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), 10. <https://doi.org/10.1186/s13099-019-0290-0>
- 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>
- Schmidt, T. J., Aurich, S., Unger, F., Eisenberg, T., & Ewers, C. (2024). Genomic and Functional Characterization of CTX-M-15-Producing *Klebsiella pneumoniae* ST307 Isolated from Imported Leopard Tortoises in Germany. *Applied Microbiology*, 4(2), 782-793. <https://doi.org/10.3390/applmicrobiol4020054>
- Seki, L. M., Pereira, P. S., De Souza Conceição, M., Souza, M. J., Marques, E. A., Carballido, J. M., De Carvalho, M. E. S., Assef, A. P. D. C., & Asensi, M. D. (2013). Molecular epidemiology of CTX-M producing Enterobacteriaceae isolated from bloodstream

- infections in Rio de Janeiro, Brazil : Emergence of CTX-M-15. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 17(6), 640-646. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2013.03.012>
- Shaker, M., Zaki, A., Asser, S. L., & Sayed, I. E. (2024). Trends and predictors of antimicrobial resistance among patients with urinary tract infections at a tertiary hospital facility in Alexandria, Egypt : A retrospective record-based classification and regression tree analysis. *BMC Infectious Diseases*, 24(1), 246. <https://doi.org/10.1186/s12879-024-09086-6>
- Shirley, M. (2018). Ceftazidime-Avibactam : A Review in the Treatment of Serious Gram-Negative Bacterial Infections. *Drugs*, 78(6), 675-692. <https://doi.org/10.1007/s40265-018-0902-x>
- Simarro, E., Navarro, F., Ruiz, J., Miró, E., Gómez, J., & Mirelis, B. (2000). Salmonella enterica serovar virchow with CTX-M-like beta-lactamase in Spain. *Journal of clinical microbiology*, 38(12), 4676-4678.
- Slimene, K., Salabi, A. E., Dziri, O., Mathlouthi, N., Diene, S. M., Mohamed, E. A., Amhalhal, J. M. A., Aboalgasem, M. O., Alrjael, J. F., Rolain, J.-M., & Chouchani, C. (2023). Epidemiology, Phenotypic and Genotypic Characterization of Carbapenem-Resistant Gram-Negative Bacteria from a Libyan Hospital. *Microbial Drug Resistance*, 29(8), 333-343. <https://doi.org/10.1089/mdr.2022.0060>
- Smith, J. D., Li, D. H., & Rafferty, M. R. (2020). The Implementation Research Logic Model : A method for planning, executing, reporting, and synthesizing implementation projects. *Implementation Science*, 15(1), 84. <https://doi.org/10.1186/s13012-020-01041-8>
- Spadar, A., Perdigão, J., Campino, S., & Clark, T. G. (2023). Large-scale genomic analysis of global *Klebsiella pneumoniae* plasmids reveals multiple simultaneous clusters of

- carbapenem-resistant hypervirulent strains. *Genome Medicine*, 15(1), 3.
<https://doi.org/10.1186/s13073-023-01153-y>
- Spurbeck, R. R., Dinh, P. C., Walk, S. T., Stapleton, A. E., Hooton, T. M., Nolan, L. K., Kim, K. S., Johnson, J. R., & Mobley, H. L. T. (2012a). *Escherichia coli* Isolates That Carry *vat*, *fyuA*, *chuA*, and *yfcV* Efficiently Colonize the Urinary Tract. *Infection and Immunity*, 80(12), 4115-4122. <https://doi.org/10.1128/IAI.00752-12>
- Spurbeck, R. R., Dinh, P. C., Walk, S. T., Stapleton, A. E., Hooton, T. M., Nolan, L. K., Kim, K. S., Johnson, J. R., & Mobley, H. L. T. (2012b). *Escherichia coli* isolates that carry *vat*, *fyuA*, *chuA*, and *yfcV* efficiently colonize the urinary tract. *Infection and immunity*, 80(12), 4115-4122. <https://doi.org/10.1128/IAI.00752-12>
- Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques, 2023*. (s. d.).
- Taati Moghadam, M., Mirzaei, M., Fazel Tehrani Moghaddam, M., Babakhani, S., Yeganeh, O., Asgharzadeh, S., Farahani, H. E., & Shahbazi, S. (2021). The Challenge of Global Emergence of Novel Colistin-Resistant *Escherichia coli* ST131. *Microbial Drug Resistance*, 27(11), 1513-1524. <https://doi.org/10.1089/mdr.2020.0505>
- 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>
- Tamma, P. D., Heil, E. L., Justo, J. A., Mathers, A. J., Satlin, M. J., & Bonomo, R. A. (2024). Infectious Diseases Society of America 2024 Guidance on the Treatment of Antimicrobial-Resistant Gram-Negative Infections. *Clinical Infectious Diseases*, ciae403. <https://doi.org/10.1093/cid/ciae403>
- Tanaka, M., Hanawa, T., Suda, T., Tanji, Y., Minh, L. N., Kondo, K., Azam, A. H., Kiga, K., Yonetani, S., Yashiro, R., Ohmori, T., & Matsuda, T. (2025). Comparative analysis of

- virulence-associated genes in ESBL-producing *Escherichia coli* isolates from bloodstream and urinary tract infections. *Frontiers in Microbiology*, 16, 1571121. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1571121>
- Tandogdu, Z., Cai, T., Koves, B., Wagenlehner, F., & Bjerklund-Johansen, T. E. (2016). Urinary Tract Infections in Immunocompromised Patients with Diabetes, Chronic Kidney Disease, and Kidney Transplant. *European Urology Focus*, 2(4), 394-399. <https://doi.org/10.1016/j.euf.2016.08.006>
- Tang, Y., Du, P., Du, C., Yang, P., Shen, N., Russo, T. A., & Liu, C. (2025). Genomically defined hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* contributed to early-onset increased mortality. *Nature Communications*, 16(1), 2096. <https://doi.org/10.1038/s41467-025-57379-4>
- Tchesnokova, V. L., Rechkina, E., Larson, L., Ferrier, K., Weaver, J. L., Schroeder, D. W., She, R., Butler-Wu, S. M., Agüero-Rosenfeld, M. E., Zerr, D., Fang, F. C., Ralston, J., Riddell, K., Scholes, D., Weissman, S., Parker, K., Spellberg, B., Johnson, J. R., & Sokurenko, E. V. (2019). Rapid and Extensive Expansion in the United States of a New Multidrug-resistant *Escherichia coli* Clonal Group, Sequence Type 1193. *Clinical Infectious Diseases*, 68(2), 334-337. <https://doi.org/10.1093/cid/ciy525>
- Teichmann, L., Luitwieler, S., Bengtsson-Palme, J., & Ter Kuile, B. (2025). Fluoroquinolone-specific resistance trajectories in *E. coli* and their dependence on the SOS-response. *BMC Microbiology*, 25(1), 37. <https://doi.org/10.1186/s12866-025-03771-5>
- Thomson, C. J., & Amyes, S. G. (1993). Molecular epidemiology of the plasmid-encoded TEM-1 beta-lactamase in Scotland. *Epidemiology and Infection*, 110(1), 117-125. <https://doi.org/10.1017/s0950268800050743>
- Tipper, D. J., & Strominger, J. L. (1965). Mechanism of action of penicillins : A proposal based on their structural similarity to acyl-D-alanyl-D-alanine. *Proceedings of the*

- National Academy of Sciences*, 54(4), 1133-1141.
<https://doi.org/10.1073/pnas.54.4.1133>
- Tolkoff-Rubin, N. E., & Rubin, R. H. (1997). URINARY TRACT INFECTION IN THE IMMUNOCOMPROMISED HOST. *Infectious Disease Clinics of North America*, 11(3), 707-717. [https://doi.org/10.1016/S0891-5520\(05\)70381-0](https://doi.org/10.1016/S0891-5520(05)70381-0)
- Tooke, C. L., Hinchliffe, P., Bragginton, E. C., Colenso, C. K., Hirvonen, V. H. A., Takebayashi, Y., & Spencer, J. (2019). β -Lactamases and β -Lactamase Inhibitors in the 21st Century. *Journal of Molecular Biology*, 431(18), 3472-3500.
<https://doi.org/10.1016/j.jmb.2019.04.002>
- Tóth, I., Hérault, F., Beutin, L., & Oswald, E. (2003). Production of cytolethal distending toxins by pathogenic *Escherichia coli* strains isolated from human and animal sources : Establishment of the existence of a new cdt variant (Type IV). *Journal of clinical microbiology*, 41(9), 4285-4291.
- Touati, A., & Mairi, A. (2020a). Carbapenemase-Producing Enterobacterales in Algeria : A Systematic Review. *Microbial Drug Resistance*, 26(5), 475-482.
<https://doi.org/10.1089/mdr.2019.0320>
- Touati, A., & Mairi, A. (2020b). Carbapenemase-Producing Enterobacterales in Algeria : A Systematic Review. *Microbial Drug Resistance*, 26(5), 475-482.
<https://doi.org/10.1089/mdr.2019.0320>
- Tullus, K., & Shaikh, N. (2020). Urinary tract infections in children. *The Lancet*, 395(10237), 1659-1668. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30676-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30676-0)
- Ullah, N., Assawakongkarat, T., Akeda, Y., & Chaichanawongsaroj, N. (2023). Detection of Extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* isolates by isothermal amplification and association of their virulence genes and phylogroups with

- extraintestinal infection. *Scientific Reports*, 13(1), 12022.
<https://doi.org/10.1038/s41598-023-39228-w>
- Valenza, G., Werner, M., Eisenberger, D., Nickel, S., Lehner-Reindl, V., Höller, C., & Bogdan, C. (2019a). First report of the new emerging global clone ST1193 among clinical isolates of extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* from Germany. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 17, 305-308.
<https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.01.014>
- Valenza, G., Werner, M., Eisenberger, D., Nickel, S., Lehner-Reindl, V., Höller, C., & Bogdan, C. (2019b). First report of the new emerging global clone ST1193 among clinical isolates of extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* from Germany. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 17, 305-308.
<https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.01.014>
- Victoire, G. (2019). *EPIDEMIOLOGIE MOLECULAIRE DES ENTEROBACTERIES PRODUCTRICES DE β LACTAMASES A SPECTRE ELARGI RESISTANTES AUX AMINOSIDES ET AUX FLUOROQUINOLONES DANS LE DISTRICT D'ABIDJAN, CÔTE D'IVOIR* [Félix HOUPHOUET BOIGNY]. https://theses.hal.science/tel-02417084/file/Th%c3%a8se_GADOU%20Victoire.pdf
- Walker, E., Lyman, A., Gupta, K., Mahoney, M. V., Snyder, G. M., & Hirsch, E. B. (2016). Clinical Management of an Increasing Threat : Outpatient Urinary Tract Infections Due to Multidrug-Resistant Uropathogens: Table 1. *Clinical Infectious Diseases*, 63(7), 960-965. <https://doi.org/10.1093/cid/ciw396>
- Wanford, J. J., Hames, R. G., Carreno, D., Jasiunaite, Z., Chung, W. Y., Arena, F., Di Pilato, V., Straatman, K., West, K., Farzand, R., Pizza, M., Martinez-Pomares, L., Andrew, P. W., Moxon, E. R., Dennison, A. R., Rossolini, G. M., & Oggioni, M. R. (2021). Interaction of *Klebsiella pneumoniae* with tissue macrophages in a mouse infection

- model and ex-vivo pig organ perfusions : An exploratory investigation. *The Lancet Microbe*, 2(12), e695-e703. [https://doi.org/10.1016/S2666-5247\(21\)00195-6](https://doi.org/10.1016/S2666-5247(21)00195-6)
- Wang, L., Shen, D., Wu, H., & Ma, Y. (2017). Resistance of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* to both intracellular and extracellular killing of neutrophils. *PLOS ONE*, 12(3), e0173638. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173638>
- Weissman, S. J., Johnson, J. R., Tchesnokova, V., Billig, M., Dykhuizen, D., Riddell, K., Rogers, P., Qin, X., Butler-Wu, S., Cookson, B. T., Fang, F. C., Scholes, D., Chattopadhyay, S., & Sokurenko, E. (2012a). High-Resolution Two-Locus Clonal Typing of Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(5), 1353-1360. <https://doi.org/10.1128/AEM.06663-11>
- Weissman, S. J., Johnson, J. R., Tchesnokova, V., Billig, M., Dykhuizen, D., Riddell, K., Rogers, P., Qin, X., Butler-Wu, S., Cookson, B. T., Fang, F. C., Scholes, D., Chattopadhyay, S., & Sokurenko, E. (2012b). High-Resolution Two-Locus Clonal Typing of Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(5), 1353-1360. <https://doi.org/10.1128/AEM.06663-11>
- Weissman, S. J., Johnson, J. R., Tchesnokova, V., Billig, M., Dykhuizen, D., Riddell, K., Rogers, P., Qin, X., Butler-Wu, S., Cookson, B. T., Fang, F. C., Scholes, D., Chattopadhyay, S., & Sokurenko, E. (2012c). *High-Resolution Two-Locus Clonal Typing of Extraintestinal Pathogenic Escherichia coli*. <https://doi.org/10.1128/AEM.06663-11>
- Whitman, W. B. (Éd.). (2015). *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria* (1^{re} éd.). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781118960608>
- Wirth, T., Falush, D., Lan, R., Colles, F., Mensa, P., Wieler, L. H., Karch, H., Reeves, P. R., Maiden, M. C. J., Ochman, H., & Achtman, M. (2006). Sex and virulence in

- Escherichia coli : An evolutionary perspective. *Molecular Microbiology*, 60(5), 1136-1151. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2006.05172.x>
- Woh, P. Y., Yeung, M. P. S., & Goggins, W. B. (2023). Multiple antibiotic resistance index (MARI) of human-isolated *Salmonella* species : A practical bacterial antibiotic surveillance tool. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 78(5), 1295-1299. <https://doi.org/10.1093/jac/dkad092>
- Wu, J., Lan, F., Lu, Y., He, Q., & Li, B. (2017). Molecular Characteristics of ST1193 Clone among Phylogenetic Group B2 Non-ST131 Fluoroquinolone-Resistant *Escherichia coli*. *Frontiers in Microbiology*, 8, 2294. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02294>
- Wyrsh, E. R., Bushell, R. N., Marenda, M. S., Browning, G. F., & Djordjevic, S. P. (2022). Global Phylogeny and F Virulence Plasmid Carriage in Pandemic *Escherichia coli* ST1193. *Microbiology Spectrum*, 10(6), e02554-22. <https://doi.org/10.1128/spectrum.02554-22>
- Xedzro, C., Kimura, T., Shimamoto, T., Ahmed, A. M., & Shimamoto, T. (2023). Comparative molecular profiling of antimicrobial resistance and phylogenetic characterization of multidrug-resistant *Escherichia coli* isolated from meat sources in 2009 and 2021 in Japan. *International Journal of Food Microbiology*, 391-393, 110146. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110146>
- Yagoubat, M., Ould El-Hadj-Khelil, A., 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>
- 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*, 21(5), 516-526. <https://doi.org/10.1089/mdr.2015.0045>
- 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>
- 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>
- Yamamoto, S., Terai, A., Yuri, K., Kurazono, H., Takeda, Y., & Yoshida, O. (1995). Detection of urovirulence factors in *Escherichia coli* by multiplex polymerase chain reaction. *FEMS immunology and medical microbiology*, 12(2), 85-90. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.1995.tb00179.x>
- Yanat, B., Machuca, J., Díaz-De-Alba, P., Mezhoud, H., Touati, A., Pascual, Á., & Rodríguez-Martínez, J.-M. (2017). Characterization of Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Determinants in High-Level Quinolone-Resistant *Enterobacteriaceae* Isolates from the Community : First Report of *qnrD* Gene in Algeria. *Microbial Drug Resistance*, 23(1), 90-97. <https://doi.org/10.1089/mdr.2016.0031>
- Yang, G., Xu, Q., & Chen, S. (2022). Neutrophil function in hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* infection. *The Lancet Microbe*, 3(4), e248. [https://doi.org/10.1016/S2666-5247\(22\)00004-0](https://doi.org/10.1016/S2666-5247(22)00004-0)

- Yang, X., Chen, H., Zheng, Y., Qu, S., Wang, H., & Yi, F. (2022). Disease burden and long-term trends of urinary tract infections : A worldwide report. *Frontiers in Public Health*, 10, 888205. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2022.888205>
- Yaratha, G., Perloff, S., & Changala, K. (2017). Lactose vs Non-Lactose Fermenting E. coli : Epidemiology, Clinical Outcomes, and Resistance. *Open Forum Infectious Diseases*, 4(suppl_1), S589-S590. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofx163.1546>
- Yasir, M., Ajlan, A. M., Shakil, S., Jiman-Fatani, A. A., Almasaudi, S. B., Farman, M., Baazeem, Z. M., Baabdullah, R., Alawi, M., Al-Abdullah, N., Ismaeel, N. A., Shukri, H. A., & Azhar, E. I. (2018). Molecular characterization, antimicrobial resistance and clinico-bioinformatics approaches to address the problem of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* in western Saudi Arabia. *Scientific Reports*, 8(1), 14847. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-33093-8>
- Yehouenou, C. L., Bogaerts, B., De Keersmaecker, S. C. J., Roosens, N. H. C., Marchal, K., Tchiakpe, E., Affolabi, D., Simon, A., Dossou, F. M., Vanneste, K., & Dalleur, O. (2021). Whole-Genome Sequencing-Based Antimicrobial Resistance Characterization and Phylogenomic Investigation of 19 Multidrug-Resistant and Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Positive *Escherichia coli* Strains Collected From Hospital Patients in Benin in 2019. *Frontiers in Microbiology*, 12, 752883. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.752883>
- Yousfi, H., Hadjadj, L., Dandachi, I., Lalaoui, R., Merah, A., Amoura, K., Dahi, A., Dekhil, M., Messalhi, N., Diene, S. M., Baron, S., & 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>
- 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>
- 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>
- Yousfi, M., Touati, A., Muggeo, A., Mira, B., Asma, B., Brasme, L., Guillard, T., & De Champs, C. (2018). Clonal dissemination of OXA-48-producing *Enterobacter cloacae* isolates from companion animals in Algeria. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 12, 187-191. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2017.10.007>
- 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>
- Zemmour, A., Dali-Yahia, R., Maatallah, M., Saidi-Ouahrani, N., Rahmani, B., Benhamouche, N., Al-Farsi, H. M., & Giske, C. G. (2021). High-risk clones of extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolated from the University Hospital Establishment of Oran, Algeria (2011–2012). *PLOS ONE*, 16(7), e0254805. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0254805>
- Zenati, F., Barguigua, A., Nayme, K., Benbelaïd, F., Khadir, A., Bellahsene, C., Bendahou, M., Hafida, H., & Timinouni, M. (2019a). Characterization of uropathogenic ESBL-producing *Escherichia coli* isolated from hospitalized patients in western Algeria. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 13(04), 291-302.
<https://doi.org/10.3855/jidc.10702>

- Zenati, F., Barguigua, A., Nayme, K., Benbelaïd, F., Khadir, A., Bellahsene, C., Bendahou, M., Hafida, H., & Timinouni, M. (2019b). Characterization of uropathogenic ESBL-producing *Escherichia coli* isolated from hospitalized patients in western Algeria. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 13(04), 291-302.
<https://doi.org/10.3855/jidc.10702>
- Zenati, F., Barguigua, A., Nayme, K., Benbelaïd, F., Khadir, A., Bellahsene, C., Bendahou, M., Hafida, H., & Timinouni, M. (2019c). Characterization of uropathogenic ESBL-producing *Escherichia coli* isolated from hospitalized patients in western Algeria. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 13(04), 291-302.
<https://doi.org/10.3855/jidc.10702>
- Zeynudin, A., Pritsch, M., Schubert, S., Messerer, M., Liegl, G., Hoelscher, M., Belachew, T., & Wieser, A. (2018). Prevalence and antibiotic susceptibility pattern of CTX-M type extended-spectrum β -lactamases among clinical isolates of gram-negative bacilli in Jimma, Ethiopia. *BMC Infectious Diseases*, 18(1), 524.
<https://doi.org/10.1186/s12879-018-3436-7>
- Zhu, J., Wang, T., Chen, L., & Du, H. (2021). Virulence Factors in Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *Frontiers in Microbiology*, 12, 642484.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.642484>
- Ziadi, H., Chougrani, F., Cheriguene, A., Carballeira, L., García, V., & Mora, A. (2025). Phenotypic and Genotypic Characterization of ESBL-, AmpC-, and Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae* and High-Risk *Escherichia coli* CC131, with the First Report of ST1193 as a Causative Agent of Urinary Tract Infections in Human Patients in Algeria. *Antibiotics*, 14(5), 485.
<https://doi.org/10.3390/antibiotics14050485>

Annexes

Annexe 01 : Publication

**antibiotics**

Article

Phenotypic and Genotypic Characterization of ESBL-, AmpC-, and Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae* and High-Risk *Escherichia coli* CC131, with the First Report of ST1193 as a Causative Agent of Urinary Tract Infections in Human Patients in Algeria

Hajer Ziadi, Fadela Chougrani, Abderrahim Cheriguene, Leticia Carballeira, Vanesa García and Azucena Mora

Special Issue

Genomic Analysis of Antimicrobial Drug-Resistant Bacteria

Edited by

Prof. Dr. Maria Rosario Rodicio and Dr. Carlos Rodriguez-Lucas



<https://doi.org/10.3390/antibiotics14050485>



Article

Phenotypic and Genotypic Characterization of ESBL-, AmpC-, and Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae* and High-Risk *Escherichia coli* CC131, with the First Report of ST1193 as a Causative Agent of Urinary Tract Infections in Human Patients in Algeria

Hajer Ziadi ^{1,2,3} , Fadela Chougrani ², Abderrahim Cheriguene ⁴, Leticia Carballeira ¹ , Vanesa García ^{1,5,6,*} and Azucena Mora ^{1,5,6,*}

- ¹ Laboratorio de Referencia de *Escherichia coli* (LREC), Departamento de Microbiología e Parasitología, Universidade de Santiago de Compostela (USC), 27002 Lugo, Spain; hajer.ziadi@rai.usc.es or hajer.ziadi.etu@univ-mosta.dz (H.Z.); leticia.carballeira.campa@usc.es (L.C.)
 - ² Laboratory of Animal Production Science and Technology, Faculty of Natural and Life Sciences, Abdelhamid Ibn Badis University, Mostaganem 27000, Algeria; chougrani.fadela@yahoo.fr
 - ³ Biodiversity Laboratory, Water and Soil Conservation, Mostaganem 27000, Algeria
 - ⁴ Laboratory of Bioeconomy, Food Security and Health, Faculty of Natural and Life Sciences, Abdelhamid Ibn Badis University, Mostaganem 27000, Algeria; abderrahim.cheriguene@univ-mosta.dz
 - ⁵ Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela (IDIS), 15706 Santiago de Compostela, Spain
 - ⁶ iARCUS Aquatic One Health Research Center, Universidade de Santiago de Compostela, 15705 Santiago de Compostela, Spain
- * Correspondence: vanesag.menendez@usc.es (V.G.); azucena.mora@usc.es (A.M.)



Academic Editor: William R. Schwan

Received: 24 March 2025

Revised: 1 May 2025

Accepted: 8 May 2025

Published: 9 May 2025

Citation: Ziadi, H.; Chougrani, F.; Cheriguene, A.; Carballeira, L.; García, V.; Mora, A. Phenotypic and Genotypic Characterization of ESBL-, AmpC-, and Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae* and High-Risk *Escherichia coli* CC131, with the First Report of ST1193 as a Causative Agent of Urinary Tract Infections in Human Patients in Algeria. *Antibiotics* **2025**, *14*, 485. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14050485>

Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Background: High-risk *Escherichia coli* clones, such as sequence type (ST)131 and ST1193, along with multidrug-resistant (MDR) *Klebsiella pneumoniae*, are globally recognized for their significant role in urinary tract infections (UTIs). This study aimed to provide an overview of the virulence factors, clonal diversity, and antibiotic resistance profiles of extended-spectrum cephalosporin (ESC)-*E. coli* and *K. pneumoniae* causing UTIs in humans in the Tebessa region of Algeria. Methods: Forty *E. coli* and 17 *K. pneumoniae* isolates exhibiting ESC-resistance were recovered (July 2022–January 2024) from urine samples of patients at three healthcare facilities to be phenotypically and genotypically characterized. Whole genome sequencing (WGS) was performed on the ST1193 clone. Results: Among *K. pneumoniae* isolates, all except one harbored CTX-M-15, with a single isolate carrying bla_{CTX-M-194}. Additionally, two *K. pneumoniae* isolates co-harboring bla_{CTX-M-15} and bla_{NDM} exhibited phenotypic and genotypic hypervirulence traits. Fluoroquinolone resistance (FQR) was detected in 94.1% of *K. pneumoniae* isolates. The *E. coli* isolates carried diverse ESC-resistance genes, including CTX-M-15 (87.5%), CTX-M-27 (5%), CTX-M-1, CMY-59, and CMY-166 (2.5% each). Co-carriage of bla_{ESC} and bla_{OXA-48} was identified in three *E. coli* isolates, while 62.5% exhibited FQR. Phylogenetic analysis revealed that 52.5% of *E. coli* belonged to phylogroup B2, including the high-risk clonal complex (CC)131 CH40-30 (17 isolates) and ST1193 (one isolate). In silico analysis of the ST1193 genome determined O75:H5-B2 (CH14-64), and the carriage of IncI1-I(Alpha) and IncF [F::A1:B10] plasmids. Notably, core genome single-nucleotide polymorphism (SNP) analysis demonstrated high similarity between the Algerian ST1193 isolate and a previously annotated genome from a hospital in Northwest Spain. Conclusions: This study highlights the spread and genetic diversity of *E. coli* CC131 CH40-30 and hypervirulent *K. pneumoniae* clones in Algeria. It represents the first report of a CTX-M-15-carrying *E. coli* ST1193 in the region. The findings emphasize the urgent need for antibiotic optimization programs and enhanced surveillance to curb the dissemination of high-risk clones that pose an increasing public health threat

in Algeria. A simplified method based on virulence traits for *E. coli* and *K. pneumoniae* is proposed here for antimicrobial resistance (AMR) monitoring.

Keywords: urinary tract infection (UTI); *Escherichia coli*; *Klebsiella pneumoniae*; ST131; ST1193; ESBL; carbapenemases; Algeria

1. Introduction

Urinary tract infections (UTIs) are the second most common infectious disease in humans, after respiratory tract infections, in healthcare-associated centers and the community worldwide [1]. UTIs affect millions of individuals annually, are associated with decreased quality of life, and pose a significant clinical and economic burden [2]. Women are particularly susceptible, with approximately 50% to 60% of women experiencing at least one UTI during their lifetime [3,4]. Data from 1990 to 2021 revealed that UTIs showed an upward trend, with a particularly pronounced disease burden among women, older men, and low–middle sociodemographic index regions [5]. Furthermore, the impact estimation of UTIs in 2021 was 287,200 deaths associated with bacterial antimicrobial resistance (AMR), including 67,467 deaths directly attributable to bacterial AMR, being the fourth leading cause of death associated with AMR worldwide [5,6]. Tropical Latin America and low–middle sociodemographic index regions exhibited the highest impact in terms of prevalence, death rate, and disability-adjusted life-years (DALYs) [5].

A wide range of virulence factors and multidrug-resistant (MDR) pathogenic strains are described in the pathogenicity and resistance of the uropathogenic agents, making it more difficult to manage these complicated infections. Among them, *Escherichia coli* is the predominant causative agent of UTIs, and *Klebsiella pneumoniae* is recognized as the second contributor to UTIs. Both *E. coli* and *K. pneumoniae* exhibit a variety of virulence factors that enable them to adhere to, invade, and persist in the urinary tract, often resulting in acute or chronic infections [4]. These pathogens also exhibit increasing resistance, especially to cephalosporins, fluoroquinolones, and carbapenems, leading to longer hospital stays, increased healthcare costs, and treatment failures [6]. Globally, 0.26 million deaths (95% uncertainty interval [UI]: 0.18–0.36) were associated with bacterial AMR in UTIs in 2019 [7].

Among *E. coli* strains, infections of MDR high-risk clones such as ST38, ST131, ST167, ST405, ST410, ST648, and ST1193 are commonly reported [8–10]. ST131 is considered the most prominent, while ST1193 appears to be emerging as a significant clone following a trajectory similar to that of the globally dominant ST131 lineage. It exhibits strong virulence potential, efficient human-to-human transmission, and adaptability to both community and hospital environments. Its rise is particularly concerning due to its co-resistance to multiple antibiotic classes and its frequent carriage of key resistance determinants such as *bla*_{CTX-M} and mutations in *gyrA*/*parC*, conferring fluoroquinolone resistance (FQR) [11]. MDR clones are often linked to resistance to FQR, with many also producing cefotaximases (CTX-M), a family of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) enzymes which confer resistance to extended-spectrum cephalosporins (ESC), thereby limiting the effectiveness of this last resort class of antibiotics and significantly reducing available treatment options in clinical settings [9–12].

On the other hand, ESBL and carbapenemase-encoding *K. pneumoniae* are globally disseminated and cause infections that are often difficult to treat. According to the 2024 WHO Medically Important Antimicrobials (MIA) List, ESBL-producing and carbapenemase-producing *E. coli* and *K. pneumoniae* are highlighted as critical threats due to their resistance

to critically important antimicrobials (CIAs), underscoring the need for strengthened antimicrobial stewardship across human, animal, and environmental health sectors [13].

In Algeria and other low- and middle-income countries (LMICs), the prevalence of MDR uropathogens is notably high, exacerbated by the lack of robust antibiotic stewardship programs. The study “Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis”, published in *The Lancet* [6], reported that the Middle East and North Africa (MENA) region experienced a significant impact from AMR in 2019. Specifically, there were approximately 7687 deaths (95% uncertainty interval: 6663–8969) associated with UTIs in the MENA region during that year.

Recent studies have underscored the growing public health threat posed by MDR uropathogens in Algeria, particularly *E. coli* and *K. pneumoniae*. In a study conducted in the Tizi-Ouzou region between 2017 and 2019, *E. coli* isolates recovered from UTI patients exhibited high levels of resistance to frequently used antibiotics, including ampicillin, trimethoprim-sulfamethoxazole, and fluoroquinolones [14]. In parallel, several investigations have reported the emergence and dissemination of MDR *K. pneumoniae* in Algeria. Notably, carbapenemase-producing strains such as KPC-2 and OXA-48 have been detected in clinical settings, with clonal dissemination of high-risk lineages like ST258, ST101, and ST512 [15,16]. For instance, KPC-2-producing *K. pneumoniae* ST512 was isolated from cerebrospinal fluid in 2014 [15], while a 2016–2017 study in Annaba Hospital documented the first cases of KPC-2-producing *K. pneumoniae* ST258, alongside an outbreak involving ST101 strains harbouring the *bla*_{OXA-48} gene in a urology department, suggesting nosocomial transmission [16]. Moreover, isolates collected in 2018 from a military hospital in Oran showed carriage of ESBL-encoding genes such as *bla*_{CTX-M} and *bla*_{TEM}, often associated with biofilm formation, which can further complicate treatment and infection control [17]. These data collectively highlight the alarming spread of MDR Enterobacteriaceae and the importance of coordinated national strategies to curb resistance in both community and hospital settings. In Tebessa province, another study demonstrated the correlation between inappropriate antibiotic use and the increasing prevalence of ESBL-producing bacteria [18]. Similar patterns have been observed in other regions, where antibiotics are frequently dispensed without prescriptions or proper medical oversight [19,20]. These challenges are compounded by the limited availability of coordinated national surveillance data, with most reports stemming from academic studies rather than systematic public health monitoring [21].

This study aims to contribute to this growing body of evidence by characterizing the virulence and antibiotic resistance profiles of *E. coli* and *K. pneumoniae* isolates causing UTIs in the Tebessa region of Algeria. By exploring a simplified laboratory workflow for AMR monitoring, this work seeks to support the development of cost-effective surveillance approaches. A clearer understanding of local epidemiological trends is essential to guide therapeutic choices, inform infection control measures, and strengthen national AMR surveillance capacity.

2. Results

The present study comprised 57 non-duplicate isolates, 40 *E. coli* and 17 *K. pneumoniae*, recovered from urine samples at three healthcare facilities in northeast Algeria from July 2022 to January 2024 (Tables S1 and S2).

2.1. *Escherichia coli* Collection

A total of 40 non-duplicate *E. coli* isolates were recovered from patients in three healthcare facilities in the Tebessa region, Algeria, including 9 isolates from male and 31 from female patients. All isolates tested positive for the *uidA* target-specific species

gene [22]. Phenotypic characterization on MacConkey Lactose agar revealed that four isolates (10%) were non-lactose fermenters (NLF) (Table S1).

2.1.1. Antimicrobial Susceptibility Testing (AST) and Genotypic Characterization of *bla* Genes

Antimicrobial susceptibility testing (AST) revealed that all *E. coli* isolates were resistant to ampicillin, cefuroxime, cefotaxime, and ceftazidime. As shown in Figure 1, most of the isolates ($\geq 50\%$) exhibited resistance to aztreonam, amoxicillin-clavulanic acid, nalidixic acid, sulfamethoxazole, ciprofloxacin, doxycycline, and tobramycin. Notably, four isolates (10%) were resistant to ertapenem. All isolates were classified as MDR, exhibiting resistance to at least one drug in three or more antimicrobial categories [23], and 62.5% demonstrated FQR (Figure 1).

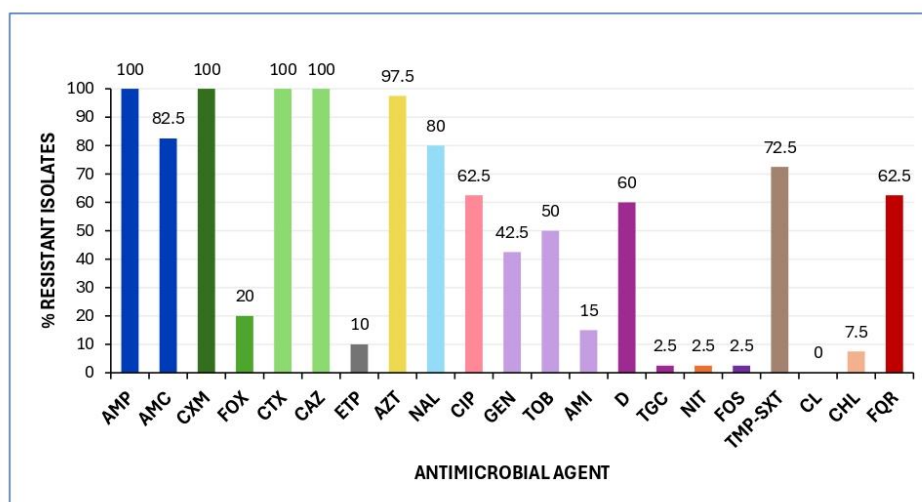


Figure 1. Prevalence of antimicrobial resistance among the 40 *E. coli* isolates analysed in this study. Minimum inhibitory concentrations (MICs) were interpreted according to EUCAST 2025 and CLSI 2024 clinical breakpoints. Abbreviations: AMP, ampicillin; AMC, amoxicillin/clavulanic acid; CXM, cefuroxime; FOX, cefoxitin; CTX, cefotaxime; CAZ, ceftazidime; ETP, ertapenem; AZT, aztreonam; NAL, nalidixic acid; CIP, ciprofloxacin; GEN, gentamicin; TOB, tobramycin; AMI, amikacin; D, doxycycline; TGC, tigecycline; NIT, nitrofurantoin; FOS, fosfomicin; TMP-SXT, trimethoprim-sulfamethoxazole; CL, colistin; CHL, chloramphenicol; FQR, fluoroquinolone resistance.

The isolates were subsequently analysed by PCR to detect the presence of *bla*_{ESBL} (SHV, CTX-M), *bla*_{CMY}, and *bla*_{CARBA} (VIM, IMP, OXA, NDM, KPC) genes, followed by Sanger sequencing. The collection exhibited different ESC enzymes, including CTX-M-15 (87.5%), CTX-M-27 (5%), as well as CTX-M-1, CMY-59, and CMY-166 (2.5% each). The *bla*_{OXA-48} gene was detected in three *E. coli* isolates resistant to ertapenem, which also harboured CTX-M-27 (two isolates) and CMY-59 (one isolate). None of the isolates tested positive for *mcr* (1 to 5) genes or showed polymyxin resistance (Table S1).

2.1.2. Virulence Traits

The screening of virulence factors associated with enhanced urinary tract colonization indicated that 18 out of the 40 isolates (45%) met the criteria for UPEC status, defined by the presence of at least three of the specific virulence genes (*chuA*, *fyuA*, *vat*, and *yfcV*) [24].

Individually, *chuA*, *fyuA*, *vat*, and *yfcV* were detected in 77.5%, 80%, 5%, and 52.5% of the isolates, respectively.

Furthermore, 72.5% of the isolates were classified as ExPEC based on the presence of at least two of the five key virulence markers: *papAH*, *sfa/focDE*, *afa/draBC*, *kpsMII*, and *iutA* [25]. The individual prevalence of these genes among the isolates was 40%, 0%, 30%, 57.5%, and 77.5%, respectively (Table S1).

2.1.3. Clonal Groups

Using the PCR method described by Clermont et al. [26,27], five *E. coli* phylogroups were identified among the 40 isolates. Phylogroups B2 and D were the most prevalent, accounting for 52.5% and 22.5% of the isolates, respectively. The remaining isolates belonged to phylogroups B1 (12.5%), A (7.5%), and F (5%) (Table 1).

Presumptive identification of the pandemic clonal complex (CC)131 was performed via PCR screening for the *rfbO25b* and *fliC_{H4}* gene markers [28,29] with 17 out of 40 isolates (42.5%) testing positive for both. Additionally, the *fliC_{H5}* gene, typically associated with clones such as ST1193 or CC131 of clade A [9,30] was determined in one NLF isolate (2.5%) (Table S1).

Clonotyping identified 14 distinct *fimC-fimH* combinations. Notably, 42.5% of the isolates exhibited clonotype CH40-30, which is typically associated with CC131 [9,31,32]. The second most prevalent clonotype, CH26-5, was detected in 15% of the isolates. Notably, UPEC status was associated with phylogroup B2 isolates, whereas ExPEC status was linked to both B2 and D isolates (Table 1).

Table 1. Clonotypes determined among the 40 *E. coli* isolates.

Phylogroup	Clonotype (CH) ^a	No Isolates	UPEC Status ^b	ExPEC Status ^c	FQR
B2	CH40-30	17	15	16	17
	CH14-64	1	1	1	1
	CH108-Neg	2	2	2	1
	CH1012-Neg	1	0	0	1
D	CH26-5	6	0	6	1
	CH26-Neg	3	0	3	0
B1	CH65-27	2	0	0	0
	CH27-54	1	0	0	0
	CH65-32	1	0	0	0
	CH7-604	1	0	0	0
A	CH11-54	1	0	1	1
	CH11-Neg	1	0	0	1
	CH7-94	1	0	0	0
F	CH88-Neg	2	0	0	2

^a Eight distinct *fimH* alleles were determined within the 40 *E. coli*. (Neg): Nine isolates showed no amplification of the 489-bp internal sequence of the *fimH* gene targeted for clonotyping [31] despite all 40 *E. coli* isolates testing positive for *fimH* using primers and conditions described by Johnson and Stell [33]. ^b UPEC status. + positive for ≥3 of the following genes: *chuA*, *fyuA*, *vat*, and *yfcV* [24]. ^c ExPEC status. + positive for ≥2 of these five markers: *papAH*, *sfa/focDE*, *afa/draBC*, *kpsMII*, and *iutA* [25]. FQR, fluoroquinolone resistance.

Characterization of Clonal Complex (CC) 131 Isolates

The most prevalent clonal group O25b:H4-B2 (CH40-30) CC131, identified in 17 isolates, exhibited FQR (100%), carriage of *bla_{CTX-M-15}* (100%), and virulence profiles accom-

plishing ExPEC (16 of 17, 94.1%) and UPEC (15 of 17, 88.2%) status (Table 1). Remarkably, one CC131 isolate displayed non-susceptibility to ertapenem, though the underlying genetic mechanism could not be determined. High levels of resistance were observed against tobramycin (16 isolates, 94.1%), amoxicillin/clavulanic acid (15 isolates, 88.2%), sulfamethoxazole (13 isolates, 76.5%), gentamycin (13 isolates, 76.5%), and doxycycline (10 isolates, 58.8%).

Using the virotyping scheme proposed by Dahbi et al. [30], virotype F was identified in seven isolates (41.2%), while virotype E was detected in three isolates (17.6%). Among the extraintestinal virulence markers included in this scheme, the specific pilus tip adhesin molecule type II associated with pyelonephritis (*papGII*) was present in all isolates, the secreted autotransporter toxin (*sat*) was detected in 14 isolates (82.3%), and the K5 group II capsule (*kpsMII-K5*) was found in 10 isolates (58.8%). Notably, the co-occurrence of *papGII*, *cnf1* (cytotoxic necrotizing factor 1), and *hlyA* (α -hemolysin) was observed in three isolates of virotype E (17.6%) (Table 2).

Table 2. Phenotypic resistance and virulence profile of the 17 CC131 *E. coli* isolates.

Isolate	UPEC Status ^a	ExPEC Status ^b	Virotype ^c	Phenotypic Resistance ^d	Virulence Genes Profile	<i>bla</i> Genes
Ec4	+	+	NT	AMP, CXM, CTX, CAZ, AZT, NAL, CIP, TOB, AMI, TMP-SXT	<i>fyuA</i> , <i>yfcV</i> , <i>chuA</i> , <i>papAH</i> , <i>iutA</i> , <i>kpsMII-K5</i> , <i>papGII</i>	CTX-M-15
Ec5	+	+	NT	AMP, AMC, CXM, CTX, CAZ, AZT, NAL, CIP, TOB, AMI, D, TMP-SXT	<i>fyuA</i> , <i>yfcV</i> , <i>chuA</i> , <i>papAH</i> , <i>iutA</i> , <i>kpsMII-K5</i> , <i>papGII</i>	CTX-M-15
Ec8	+	+	F	AMP, AMC, CXM, CTX, CAZ, AZT, NAL, CIP, GEN, TOB, AMI, TMP-SXT	<i>fyuA</i> , <i>yfcV</i> , <i>chuA</i> , <i>papAH</i> , <i>iutA</i> , <i>kpsMII-K5</i> , <i>sat</i> , <i>papGII</i>	CTX-M-15
Ec10	+	+	F	AMP, AMC, CXM, CTX, CAZ, AZT, NAL, CIP, GEN, TOB	<i>fyuA</i> , <i>yfcV</i> , <i>chuA</i> , <i>papAH</i> , <i>iutA</i> , <i>kpsMII-K5</i> , <i>sat</i> , <i>papGII</i>	CTX-M-15
Ec19 a	+	+	F	AMP, AMC, CXM, CTX, CAZ, AZT, NAL, CIP, GEN, TOB	<i>fyuA</i> , <i>yfcV</i> , <i>chuA</i> , <i>papAH</i> , <i>iutA</i> , <i>kpsMII-K5</i> , <i>sat</i> , <i>papGII</i>	CTX-M-15
Ec20 a	+	+	E	AMP, AMC, CXM, CTX, CAZ, AZT, NAL, CIP, GEN, TOB	<i>fyuA</i> , <i>yfcV</i> , <i>chuA</i> , <i>papAH</i> , <i>iutA</i> , <i>kpsMII-K5</i> , <i>sat</i> , <i>papGII</i> , <i>cnf1</i> , <i>hlyA</i>	CTX-M-15
Ec22	+	+	F	AMP, CXM, CTX, CAZ, AZT, NAL, CIP, GEN, TOB, TMP-SXT	<i>fyuA</i> , <i>yfcV</i> , <i>chuA</i> , <i>papAH</i> , <i>iutA</i> , <i>kpsMII-K5</i> , <i>sat</i> , <i>papGII</i>	CTX-M-15
Ec23	+	—	NT	AMP, AMC, CXM, CTX, CAZ, AZT, NAL, CIP, TOB, AMI, D, NIT, TMP-SXT	<i>fyuA</i> , <i>yfcV</i> , <i>chuA</i> , <i>papAH</i> , <i>papGII</i>	CTX-M-15
Ec28	+	+	NT	AMP, AMC, CXM, CTX, CAZ, AZT, NAL, CIP, GEN, TOB, TMP-SXT	<i>fyuA</i> , <i>yfcV</i> , <i>chuA</i> , <i>papAH</i> , <i>iutA</i> , <i>sat</i> , <i>papGII</i>	CTX-M-15

Table 2. Cont.

Isolate	UPEC Status ^a	ExPEC Status ^b	Virotype ^c	Phenotypic Resistance ^d	Virulence Genes Profile	bla Genes
Ec30	+	+	NT	AMP, AMC, CXM, CTX, FOX, CAZ, ETP, AZT, NAL, CIP, TMP-SXT	<i>fyuA</i> , <i>yfcV</i> , <i>chuA</i> , <i>papAH</i> , <i>iutA</i> , <i>sat</i> , <i>papGII</i>	CTX-M-15
Ec31	+	+	NT	AMP, AMC, CXM, CTX, FOX, CAZ, AZT, NAL, CIP, GEN, TOB, D, TMP-SXT	<i>fyuA</i> , <i>yfcV</i> , <i>chuA</i> , <i>papAH</i> , <i>iutA</i> , <i>sat</i> , <i>papGII</i>	CTX-M-15
Ec41	—	+	F	AMP, AMC, CXM, CTX, CAZ, AZT, NAL, CIP, GEN, TOB, D, TMP-SXT	<i>chuA</i> , <i>iutA</i> , <i>kpsMII-K5</i> , <i>sat</i> , <i>papGII</i>	CTX-M-15
Ec43	+	+	F	AMP, AMC, CXM, CTX, CAZ, AZT, NAL, CIP, GEN, TOB, D TMP-SXT	<i>fyuA</i> , <i>yfcV</i> , <i>chuA</i> , <i>papAH</i> , <i>iutA</i> , <i>kpsMII-K5</i> , <i>sat</i> , <i>papGII</i>	CTX-M-15
Ec45	+	+	NT	AMP, AMC, CXM, CTX, CAZ, AZT, NAL, CIP, GEN, TOB, AMI, D, TMP-SXT	<i>fyuA</i> , <i>yfcV</i> , <i>chuA</i> , <i>papAH</i> , <i>iutA</i> , <i>sat</i> , <i>papGII</i>	CTX-M-15
Ec52	+	+	F	AMP, AMC, CXM, CTX, CAZ, AZT, NAL, CIP, GEN, TOB, D TMP-SXT	<i>fyuA</i> , <i>yfcV</i> , <i>chuA</i> , <i>papAH</i> , <i>iutA</i> , <i>kpsMII-K5</i> , <i>sat</i> , <i>papGII</i>	CTX-M-15
Ec55 a	+	+	E	AMP, AMC, CXM, CTX, CAZ, AZT, NAL, CIP, GEN, TOB	<i>fyuA</i> , <i>yfcV</i> , <i>chuA</i> , <i>papAH</i> , <i>iutA</i> , <i>kpsMII-K5</i> , <i>sat</i> , <i>papGII</i> , <i>cnfI</i> , <i>hlyA</i>	CTX-M-15
Ec57	—	+	E	AMP, AMC, CXM, CTX, FOX, CAZ, AZT, NAL, CIP, GEN, TOB, D, TGC, FOS, TMP-SXT, CHL	<i>yfcV</i> , <i>chuA</i> , <i>papAH</i> , <i>iutA</i> , <i>kpsMII-K5</i> , <i>sat</i> , <i>papGII</i> , <i>cnfI</i> , <i>hlyA</i>	CTX-M-15

^a UPEC status. + positive for ≥ 3 of the following genes: *chuA*, *fyuA*, *vat*, and *yfcV* [24]; otherwise, negative. ^b ExPEC status. + positive for ≥ 2 of these five markers: *papAH*, *sfa/focDE*, *afa/draBC*, *kpsMII*, and *iutA* [25]; otherwise, negative. ^c Virotypes following the protocol established by Dahbi et al. [30], based on the presence or absence of specific extraintestinal virulence factors (*afa/draBC*, *afa* operon FM955459, *iroN*, *sat*, *ibcA*, *papGII*, *papGIII*, *cnfI*, *hlyA*, *cdtB*, *kpsMII-K1*, -K2 and -K5); NT, not typable. ^d Abbreviations: AMP, ampicillin; AMC, amoxicillin/clavulanic acid; CXM, cefuroxime; FOX, cefoxitin; CTX, cefotaxime; CAZ, ceftazidime; ETP, ertapenem; AZT, aztreonam; NAL, nalidixic acid; CIP, ciprofloxacin; GEN, gentamicin; TOB, tobramycin; AMI, amikacin; D, doxycycline; TGC, tigecycline; NIT, nitrofurantoin; FOS, fosfomicin; TMP-SXT, trimethoprim-sulfamethoxazole; CL, colistin; CHL, chloramphenicol.

In Silico Characterization of ST1193 Isolate

The NLF isolate B2-CH14-64 underwent WGS and in silico analysis using bioinformatics tools from the Center for Genomic Epidemiology. Table 3 summarizes its genomic characteristics.

Serotyping analysis using SerotypeFinder identified the O75:H5 serotype while CHTyper confirmed its clonotype as CH14-64. Multilocus sequence typing (MLST) based on the seven-gene of the Atchman scheme assigned the sequence type (ST)1193, while the alternative MLST scheme using eight genes (*dinB*, *icdA*, *pabB*, *polB*, *putP*, *trpA*, *trpB*, and *uidA*) [34] predicted ST53. Core genome MLST (cgMLST) analysis, based on 2513 loci, assigned the isolate to cgST140226.

Table 3. In silico characterization and phenotypic resistance of the ST1193 genome.

ID Code for Isolate/Genome ^a	Ec1a/LREC-468
O:H antigens ^b	O75:H5
ST#1/ST#2 ^c	1193/53
cgMLST ^d	140226
Acquired resistance and point mutations [in brackets] ^e	<i>aac(3)-IIa</i> , <i>aac(6')-Ib-cr</i> , <i>bla_{CTX-M-15}</i> , <i>bla_{OXA-1}</i> , <i>catB3</i> [<i>gyrA</i> p.S83L, <i>gyrA</i> p.D87N, <i>parC</i> p.S80I, <i>parE</i> p.L416F]
Plasmid content: Inc. group [pMLST] ^f	IncF [F:-A1:B10], IncI1-I [ST Unknown], ColBS512-like
Virulence genes ^g	<i>aslA</i> , <i>chuA</i> , <i>cia</i> , <i>csgA</i> , <i>fdeC</i> , <i>fimH</i> , <i>fyuA</i> , <i>gad</i> , <i>iha</i> , <i>irp2</i> , <i>iucC</i> , <i>iutA</i> , <i>kpsE</i> , <i>kpsMII_K1</i> , <i>neuC</i> , <i>nlpI</i> , <i>ompT</i> , <i>papA_F43</i> , <i>sat</i> , <i>shiA</i> , <i>sitA</i> , <i>terC</i> , <i>tia</i> , <i>usp</i> , <i>vat</i> , <i>yehA</i> , <i>yehB</i> , <i>yehC</i> , <i>yehD</i> , <i>yfcV</i>
Phenotypic resistance ^h	AMP, AMC, CXM, CAZ, CTX, ATM, NAL, CIP, GEN

^a Isolate and genome (LREC) identification. ^b O and H antigen prediction with SerotypeFinder 2.0.1. ^c Sequence types (ST#1 and ST#2) based on two different MLST schemes *E. coli* #1 and *E. coli* #2, respectively, and retrieved with MLST 2.0.9. ^d Core genome ST obtained with cgMLSTFinder 1.2 run against the Enterobase database. ^e Acquired antimicrobial resistance genes retrieved using ResFinder 4.6: Acquired resistance genes: beta-lactam: *bla_{OXA-1}*, *bla_{CTX-M-15}*; aminoglycosides: *aac(3)-IIa*; phenicols: *catB3*; fluoroquinolones: *aac(6')-Ib-cr*. Point mutations: quinolones and fluoroquinolones: *gyrA* S83L: TCG-TTG, *gyrA* D87N: GAC-AAC, *parC* S80I: AGC-ATC, *parE* L416F: CTT-TTT. ^f Plasmid content retrieved using PlasmidFinder 2.1. ^g Virulence determinants via VirulenceFinder 2.0: *aslA*: putative sulfatase; *chuA*: outer membrane hemin receptor; *cia*: colicin ia; *csgA*: curlin major subunit CsgA; *fdeC*: intimin-like adhesin FdeC; *fimH*: type 1 fimbriae; *fyuA*: siderophore receptor; *gad*: glutamate decarboxylase; *iha*: adherence protein; *irp2*: high molecular weight protein 2 non-ribosomal peptide synthetase; *iucC*: aerobactin synthetase; *iutA*: ferric aerobactin receptor; *kpsE*: capsule polysaccharide export inner-membrane protein; *kpsMII_K1*: polysialic acid transport protein group 2 capsule; *neuC*: polysialic acid capsule biosynthesis protein; *nlpI*: lipoprotein NlpI precursor; *ompT*: outer membrane protease (protein protease 7); *papA_F43*: major pilin subunit F43; *sat*: secreted autotransporter toxin; *shiA*: homologs of the *Shigella flexneri* SHI-2 pathogenicity island gene *shiA*; *sitA*: iron transport protein; *terC*: tellurium ion resistance protein; *usp*: uropathogenic specific protein; *vat*: vacuolating autotransporter toxin; *yehA*: outer membrane lipoprotein, YHD fimbrial cluster; *yehB*: usher, YHD fimbrial cluster; *yehC*: chaperone, YHD fimbrial cluster; *yehD*: major pilin subunit, YHD fimbrial cluster; *yfcV*: fimbrial protein. ^h Abbreviations: AMP, ampicillin; AMC, amoxicillin/clavulanic acid; CXM, cefuroxime; CTX, cefotaxime; CAZ, ceftazidime; AZT, aztreonam; NAL, nalidixic acid; CIP, ciprofloxacin; GEN, gentamicin.

Resistance gene profiling using ResFinder confirmed the presence of *bla_{CTX-M-15}*, along with chromosomal mutations associated with FQR (*gyrA* p.S83L, *gyrA* p.D87N, *parC* p.S80I, and *parE* p.L416F), consistent with the observed phenotypic resistance. Additionally, acquired resistance genes, such as *aac(3)-IIa*, *aac(6')-Ib-cr*, *bla_{OXA-1}*, and *catB3* were predicted.

Virulence profiling using VirulenceFinder identified different virulence factors, including *vat*, *fyuA*, *yfcV*, *chuA*, *iutA*, and *kpsMII*, confirming its UPEC and ExPEC status. Plasmid analysis revealed the presence of IncI1-I(Alpha) and IncF [F:-A1:B10] plasmids, along with small Col-like plasmids.

To investigate the genomic relationship between the Algerian ST1193 isolate and five ST1193 isolates recently recovered from a hospital in Northwest Spain, we performed a single-nucleotide polymorphism (SNP) comparison of their core genomes, which represented 95.65% of the reference genome LREC-269 (5.4 Mb). The phylogenetic analysis was conducted using CSI Phylogeny 1.4 (Figure 2A; Table S3). The Algerian ST1193 isolate (LREC-468) exhibited a minimum pairwise distance of 78 SNPs from LREC-269 and a maximum distance of 128 SNPs from LREC-270.

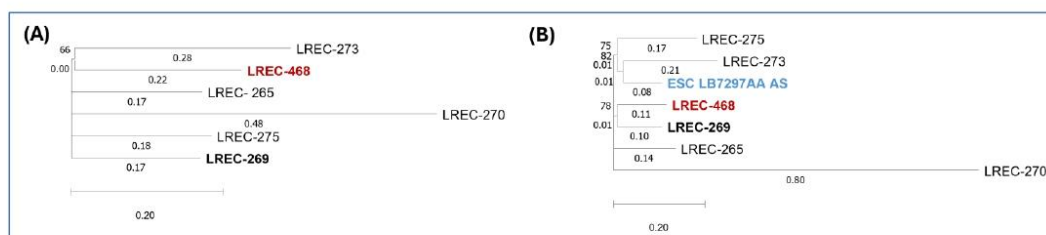


Figure 2. Phylogenetic dendrogram based on whole-genome SNP analysis. **(A)** Phylogenetic dendrogram based on SNP counts per substitution within the core genome of the Algerian and Spanish ST1193 isolates. The WGS comparison resulted in a core genome covering 95.65% of the reference genome LREC-269 (5.4 Mb). **(B)** Phylogenetic dendrogram incorporating the Algerian, Spanish, and ESC_RA5887AA ST1193 isolates, showing SNP counts per substitution. The WGS comparison resulted in a core genome covering 82.6% of the reference genome LREC-269 (5.4 Mb).

Additionally, we accessed Enterobase (<https://enterobase.warwick.ac.uk/>; accessed on 20 December 2024) to search for ST1193 genomes assigned to cgST140226. We identified and retrieved one publicly available genome, ESC_RA5887AA, from BioProject PRJEB21277 registered in 2020 by the University of Oxford. A subsequent SNP comparison (Figure 2B, Table S4), which included the Algerian (LREC-468), five Spanish ST1193 genomes, and ESC_RA5887AA, showed that 82.6% of nucleotide positions in the reference genome (LREC-269) were conserved across all analysed genomes. The Algerian LREC-468 genome differed by 55 SNPs from ESC_RA5887AA.

2.2. *Klebsiella pneumoniae* Collection

Seventeen *K. pneumoniae* isolates were recovered from patients across three healthcare facilities in the Tébessa region of Algeria, comprising five isolates from males and 12 from female patients. Sixteen isolates tested positive for the *kp50233* species-specific gene. The single negative isolate was confirmed as *K. pneumoniae* using the matrix-assisted laser desorption/ionization-time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF).

2.2.1. AST and Genotypic Characterization of *bla* Genes

All isolates exhibited resistance to ampicillin, cefuroxime, cefotaxime, and aztreonam. Additionally, the majority ($\geq 60\%$) were resistant to ceftazidime, ciprofloxacin, fosfomycin, sulfamethoxazole, and amoxicillin-clavulanic acid. Notably, two isolates (11.8%) demonstrated resistance to ertapenem (Figure 3). All isolates were classified as MDR, exhibiting resistance to at least one drug in three or more antimicrobial categories [23], and 94.1% exhibited FQR.

PCR analysis was conducted to detect the presence of *bla*_{ESBL} (SHV, CTX-M), *bla*_{CMY}, and *bla*_{CARBA} (VIM, IMP, OXA, NDM, KPC) genes, followed by Sanger sequencing. The CTX-M-15 gene was identified in 94.1% of the isolates, with one isolate harbouring the CTX-M-194 variant. Notably, the *bla*_{NDM} gene was identified in the two *K. pneumoniae* isolates that exhibited ertapenem resistance, which also carried the CTX-M-15 gene. Additionally, two isolates possessed both the CTX-M-15 and SHV-148 genes. None of the isolates tested positive for *mcr* (1 to 5) genes or showed polymyxin resistance (Table S2).

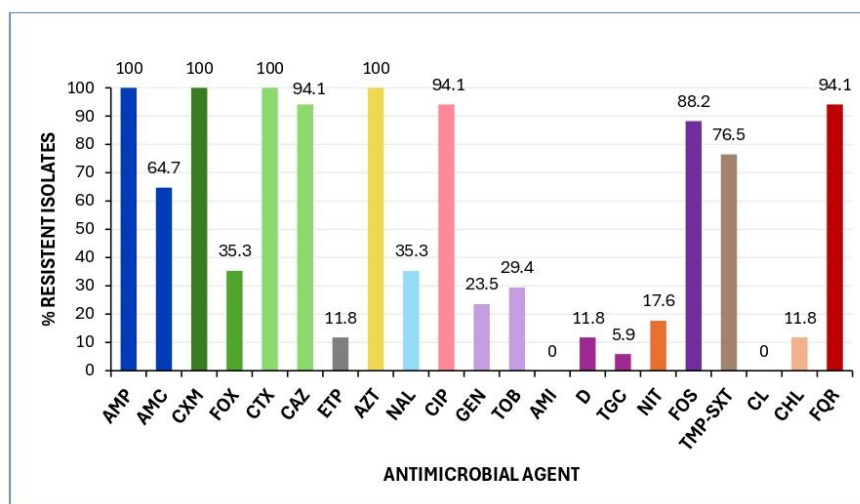


Figure 3. Prevalence of antimicrobial resistance among the 17 *K. pneumoniae* analysed in this study. MICs were interpreted according to EUCAST 2025 and CLSI 2024 clinical breakpoints. Abbreviations: AMP, ampicillin; AMC, amoxicillin/clavulanic acid; CXM, cefuroxime; FOX, cefoxitin; CTX, cefotaxime; CAZ, ceftazidime; ETP, ertapenem; AZT, aztreonam; NAL, nalidixic acid; CIP, ciprofloxacin; GEN, gentamicin; TOB, tobramycin; AMI, amikacin; D, doxycycline; TGC, tigecycline; NIT, nitrofurantoin; FOS, fosfomycin; TMP-SXT, trimethoprim-sulfamethoxazole; CL, colistin; CHL, chloramphenicol; FQR, fluoroquinolone resistance.

2.2.2. Virulence Traits

The hypermucoviscous (HMV) phenotyping of the 17 *K. pneumoniae* isolates, using the string test described by Shon et al. [35] with modifications, showed that four were classified as HMV-positive in at least two of the tested culture conditions (Tables 4 and S2). Notably, two isolates exhibited the HMV-positive phenotype across all culture conditions.

Table 4. Hypervirulent and AMR traits of the four phenotypic HMV *K. pneumoniae* isolates.

Hypermucoviscous Phenotype (HMV) ^a					Phenotypic Resistance ^b	Virulence Genes ^c	<i>bla</i> Genes
Isolate	ML	MH	TSA	CA			
KP6b	+	–	+	–	AMP, CXM, CTX, CAZ, AZT, CIP, FOS	<i>terB</i>	CTX-M-15
KP10c	+	+	+	+	AMP, AMC, CXM, FOX, CTX, CAZ, ETP, AZT, NAL, CIP, GEN, TOB, NIT, FOS	<i>iucA</i> , <i>peg-344</i> , <i>rmpA</i>	NDM, CTX-M-15
KP16	+	+	+	+	AMP, AMC, CXM, FOX, CTX, CAZ, ETP, AZT, NAL, CIP, GEN, TOB, TGC, NIT, FOS, TMP-SXT, CHL	<i>iucA</i> , <i>peg-344</i> , <i>rmpA</i>	NDM, CTX-M-15
KP20a	+	+	+	–	AMP, CXM, CTX, CAZ, AZT, CIP, FOS, TMP-SXT	<i>terB</i>	CTX-M-15

^a The HMV phenotype was evaluated using Mueller–Hinton (MH) agar, MacConkey (ML) agar, trypticase soy agar (TSA), and Columbia agar (5% sheep blood) (CA) medium culture. + and – indicates positive or negative result, respectively. ^b AMP, ampicillin; AMC, amoxicillin/clavulanic acid; CXM, cefuroxime; FOX, cefoxitin; CTX, cefotaxime; CAZ, ceftazidime; ETP, ertapenem; AZT, aztreonam; NAL, nalidixic acid; CIP, ciprofloxacin; GEN, gentamicin; TOB, tobramycin; TGC, tigecycline; NIT, nitrofurantoin; FOS, fosfomycin; TMP-SXT, trimethoprim-sulfamethoxazole; CHL, chloramphenicol. ^c *iucA*: aerobactin siderophore biosynthesis, *rmpA*: regulator of the mucoid phenotype via increased capsule production, *peg-344*: putative transporter, *terB*: tellurite resistance.

PCR screening was conducted to detect virulence genes commonly associated with hypervirulent *K. pneumoniae* (hvKp) [36]. All isolates tested negative for *iroB*, *peg-589*, *peg-1631*, and *rmpA2* genes. However, more than 50% were positive for *terB* and *rpmA*. Notably, the two *K. pneumoniae* isolates exhibiting the HMV phenotype across all culture conditions tested positive for *iucA*, *peg-344*, and *rmpA* genes, and co-harboured both *bla_{NDM}* and *bla_{CTX-M-15}* (Table 4).

3. Discussion

Urinary tract infections (UTIs) continue to represent a significant public health concern globally, with the pathogens *E. coli* and *K. pneumoniae* being the primary causative agents [1,4]. Particularly in Algeria, UTIs and pyelonephritis were reported as the fifth leading cause of death in 2021, accounting for 1,290 fatalities. *E. coli* and *K. pneumoniae* were the primary pathogens responsible for 40.5% of the total deaths (370 and 153, respectively). Among these, 84% of deaths were attributed to resistant *E. coli* and *K. pneumoniae* (321 and 117, respectively) [37]. Given the significant role of these bacteria in the aetiology of UTIs, their global contribution to the dissemination of MDR, and the limited data on their impact in Algeria, this study aimed to investigate the molecular characteristics of *E. coli* and *K. pneumoniae* exhibiting ESC resistance associated with UTIs in the province of Tebessa, where data on such infections remain scarce. Although our study was limited to three healthcare facilities in Tebessa, the selected sites are key referral centers that serve a diverse patient population across the province, making the sample reasonably representative of urban Algeria. The Laboratory of Medical Analysis receives a large and diverse influx of patients from across the province, due to its advanced equipment and strong reputation among local physicians who frequently refer their patients there. The Bouguerra Boulares Hospital and Khaldi Abdelaziz Maternity Hospital are central healthcare institutions in the province, receiving patients from various areas, particularly in complex or high-risk cases. Diagnostic approaches and antimicrobial prescribing practices in these facilities mirror those used in other regions of the country, where antibiotics remain widely accessible without prescription, contributing to similar AMR dynamics.

CTX-M-15 and OXA-48-like enzymes are the most prevalent and widely disseminated ESBLs and carbapenemases, respectively, posing a significant global public health threat [38,39]. In this study, *bla_{CTX-M-15}* was detected in 87.5% of *E. coli* isolates, a prevalence similar to that reported in other regions of Algeria for ESBL-producing *E. coli* in UTIs [19,20]. The *bla_{OXA-48}* carbapenemase gene, endemic in North Africa and highly reported in Algeria [21], was found here in three *E. coli* isolates.

Notably, we identified two *bla_{CTX-M-27}* *E. coli* isolates, which also harboured *bla_{OXA-48}*; this would represent the first report of the CTX-M-27 variant in Algeria, whose emergence and global spread have been reported in regions such as Japan and Europe [38,40]. The third OXA-48 *E. coli* isolate analysed here showed a co-carriage of CMY-59. Furthermore, we observed FQR in 62.5% of ESC-producing *E. coli*, which aligns with findings from Sétif [19] but is higher than the 30% resistance prevalence reported by Zenati et al. [20] in Tlemcen, Algeria.

The *E. coli* population is classified into distinct phylogenetic groups, namely A, B1, B2, C, D, F, and G, along with cryptic clades [26,27]. UPEC isolates predominantly belong to phylogroups B2 and D, which are typically associated with the carriage of a higher number of virulence genes in comparison with other phylogroups [41,42]. Accordingly, our ESC-producing *E. coli* isolates were classified into A, B1, B2, D, and F, with B2 being the most prevalent (52.5%), notably including high-risk clones such as CC131 and ST1193. Phylogroup D was the second, comprising 22.5% of the isolates. Of the 21 B2 isolates, 19 met

the criteria for UPEC status, and 20 for ExPEC status. Additionally, all nine phylogroup D isolates fulfilled the ExPEC status.

The CC131 and ST1193 are reported as the most prevalent among FQ and cephalosporin-resistant *E. coli* isolates globally, commonly linked to MDR UTIs [10,11,43,44]. The CC131 lineage of *E. coli* has diversified into three clades: A and B, which are susceptible, and C, which exhibits FQ/cephalosporin resistance. Clade C, particularly the *fimH30* variant (CH40-30 clonotype), is the most widely distributed. Within clade C, subclade C1 (H30R) includes FQR non-ESBL producers, whereas subclade C2 (H30Rx) is characterized by the presence of both FQR and the *bla*_{CTX-M-15} gene [45].

In this study, we used *rfbO25b*, *fliC_{H4}*, *fliC_{H5}*, and the B2 phylogroup as PCR screening markers for CC131, along with clonotyping, as previously described [10]. This approach allowed us to identify 17 O25b:H4-B2 *E. coli* (42.5%), all assigned to CC131 and exhibiting the CH40-30 clonotype. Moreover, all isolates displayed FQR and carried the *bla*_{CTX-M-15} gene, classifying them within subclade C2 [45].

CC131 has been reported in various sources in Algeria, including human clinical samples [46,47], uropathogenic *E. coli* from non-hospitalized patients [48], fish [49], food [50], and wildlife [51], indicating its widespread distribution across the country. However, detailed molecular characterization of CC131 in Algeria remains limited. Our study focuses on resistance and virulence gene profiles. Thus, we found that 88.2% and 94.1% of CC131 isolates exhibited UPEC and ExPEC status, respectively. Furthermore, analysis of extraintestinal virulence factors following the Dahbi et al. [30] scheme identified two distinct virotypes: F (*sat*, *papG II*, *kpsM II-K5*) in 41.2% of isolates and E (*sat*, *papG II*, *cnf1*, *hlyA*, *kpsM II-K5*) in 17.6%. Notably, the remaining seven FQR, CTX-M-15 O25b:H4-B2-CC131 (CH40-30) isolates could not be virotyped.

The ST1193 clone is considered an emerging pathogenic lineage of *E. coli* [52,53] typically associated with the O75 serotype, *fimH64* type 1 pili, and K1 or K5 capsular types. This clone is also characterized by FQR and lactose non-fermentation [11]. Although ST1193 has been reported in Europe [9,10,54,55], Asia [56–58], and the United States [59], its detection in Africa remains limited [60–62]. In this study, we identified one NLF ST1193 isolate, FQR, CTX-M-15-producer, with genomic key features consistent with globally disseminated ST1193 isolates [9–11]. Specifically, the Algerian isolate carried the K1 capsular type and harboured mutations in *gyrA* (D87N, S83L) and *parC* (S80I), along with *parE* (L416F). Plasmidome analysis identified the presence of IncF [F–:A1:B10], IncI1-I, and ColB512-like plasmids. A large-scale genomic study of ST1193 [52] classified the ST1193 clone into distinct clades based on capsule type (K1 or K5) and the presence of specific IncF plasmids: clade A (K5 capsule with F–:A1:B20 plasmids), subclade B1 (K1 capsule with F–:A1:B10 plasmids) and subclade B2 (K1 capsule with F–:A1:B1 plasmids) [11,52]. According to this classification, our ST1193 isolate belongs to subclade B2.

A core genome SNP comparison between our Algerian ST1193 isolate (LREC-468) and previously characterized ST1193 isolates from a Northwest Spanish hospital [9] revealed a minimum distance of 78 SNPs with LREC-269. We then queried Enterobase for genomes assigned to cgST140226 and found a single genome, ESC_RA5887AA, from BioProject PRJEB21277 (University of Oxford, 2020), which differed by only 55 SNPs.

This comparative approach was guided by the core genome sequence typing (cgST) framework proposed by Achtman et al. [63], which offers a robust method for identifying highly related strains based on shared allelic profiles. While hundreds of ST1193 genomes are available in public repositories, few are annotated with cgST identifiers, and fewer still meet the quality criteria and metadata completeness required for SNP-level comparisons. cgMLST, which analyzes 2,513 soft-core genes, offers significantly higher resolution than MLST, making it a powerful tool for tracing transmission dynamics within outbreaks

and defining population structures across different levels, including the genus level [63]. Interestingly, the detection of the same cgST in a genome presumably originating from Ireland (based on the metadata provided in the BioProject of this genome) underscores the transcontinental dissemination of this clone and raises public health concerns about the unnoticed spread of high-risk *E. coli* lineages in North Africa. Our findings, therefore, emphasize the urgent need for continued genomic surveillance of MDR uropathogens in the region, particularly as this is the first genomic report of ST1193 in clinical *E. coli* isolates from Algeria.

Phylogroup D was the second most prevalent in our *E. coli* collection, comprising 22.5% of the isolates, all classified as ExPEC. These isolates exhibited either the *fumC26 fimH5* or *fumC26 fimH*-negative clonotypes (no amplification of the 489-bp internal sequence of the clonotype scheme) [31]. According to EnteroBase, all genomes assigned to phylogroup D (Clermont scheme) with *fumC26 fimH5*/negative are associated with CC38, which includes ST38, a high-risk MDR clone linked to UTI and bloodstream infections, as well as the global spread of OXA-48 [39]. ST38 has also contributed to the emergence of nosocomial and community-acquired OXA-244-producing *E. coli* ST38 in Europe [64,65]. Additionally, putative inter-host and host-environment transmission events within ST38, where genomes differed by <35 SNPs, underscore its role in maintaining and disseminating AMR genes [66]. In this study, the two D-CH26-Neg isolates carried both OXA-48-like and CTX-M-27, while the one D-CH26-5 isolate harboured OXA-48-like and CMY-59. ST38 OXA-48-producing *E. coli* has previously been detected in Algeria in white stork (*Ciconia ciconia*) migratory birds [67], river water [68], human clinical samples [69], and broilers [70]. Our findings further highlight the role of CC38 in the spread of AMR in this region.

All *K. pneumoniae* isolates, except one, carried the *bla*_{CTX-M-15} gene. In addition, two ertapenem-resistant isolates tested positive for the *bla*_{NDM} gene. The co-occurrence of carbapenem and ESBL resistance in the same isolate significantly complicates treatment options and raises concerns about therapeutic failures. Specifically, *K. pneumoniae* harbouring *bla*_{CTX-M-15} and *bla*_{NDM} genes was previously reported at Annaba University Hospital (Algeria) in 2014 [71]. Further studies have reported the widespread presence of *bla*_{CTX-M-15} in Algeria, including the University Hospital Establishment of Oran, where nearly all ESBL-positive isolates carried *bla*_{CTX-M-15} [72]. *bla*_{CTX-M} *K. pneumoniae* isolates were also identified in the Regional Military University Hospital of Oran, with a prevalence of 37.5% ESBL producers [17]. Carbapenem-resistant *K. pneumoniae* strains carrying *bla*_{CTX-M-15} have also been documented in Ibn Roched hospital of Annaba, where OXA-48 and KPC-2 carbapenemase-producing isolates were identified in urology patients [16]. These findings underscore the ongoing emergence of multidrug-resistant *K. pneumoniae* in Algerian hospitals, necessitating enhanced surveillance and infection control measures.

In terms of virulence, *K. pneumoniae* is categorized into two distinct pathotypes: classical (cKp) and hypervirulent (hvKp). cKp is a common cause of hospital-acquired infections such as pneumonia and UTIs, particularly in elderly or immunocompromised people, and is known for its ability to acquire multiple AMR genes [73]. By contrast, hvKp is more virulent and capable of causing severe infections in healthy people, such as pyogenic liver abscesses, endophthalmitis, meningitis, septic arthritis, and other unusual infections, often leading to significant morbidity and mortality [74,75]. The definition of hvKp has evolved. Initially, the HMV phenotype with a positive string test (>5 mm) was used for identification [35,76], but this method lacks accuracy. Currently, murine infection models remain the gold standard [77]; however, their high cost and ethical constraints limit their practicality. Instead, recent evidence supports the presence of five virulence plasmid-associated genes (*peg-344*, *rmpA*, *rmpA2*, *iroB*, and *iucA*) as the most accurate molecular markers for hvKp identification, which offer a feasible diagnostic alternative for clinical and surveillance

applications [78,79]. In our *K. pneumoniae* collection, the HMV phenotype was observed in four isolates, though only two were consistently positive across all test conditions. PCR screening of the virulence markers revealed that these two isolates were the only ones carrying three of the five plasmid-associated genes (*peg-344*, *rmpA*, and *iucA*). Notably, both also harboured the *bla*_{NDM} and *bla*_{CTX-M-15} genes, further highlighting their clinical relevance.

Initially, hvKp isolates were susceptible to common antibiotics, including last generation cephalosporins and carbapenems. However, the emergence of MDR hvKp in recent years has raised significant concerns. Notably, the European Centre for Disease Prevention and Control reported the spread of hvKp ST23 strains carrying carbapenemase genes across multiple EU/EEA countries, highlighting the convergence of hypervirulence and antimicrobial resistance [80]. Although our two HMV *bla*_{NDM} and *bla*_{CTX-M-15}-producing *K. pneumoniae* possessed only three of the five key virulence plasmid-associated genes (*peg-344*, *rmpA*, and *iucA*), they exemplify the concerning trend of MDR *K. pneumoniae* strains enhancing their clinical virulence potential. This convergence of resistance and virulence factors poses significant challenges for treatment and infection control strategies.

In Algeria, the widespread and often unregulated use of antibiotics, especially beta-lactams, continues to drive the emergence and spread of ESBL-producing bacteria. In Tebessa province, a recent study confirmed the strong correlation between antibiotic misuse and the growing prevalence of resistant pathogens [18]. Similar findings from north-eastern [19] and northwestern Algeria [20] linked high resistance rates to inappropriate prescribing practices and over-the-counter antibiotic sales without medical oversight. These trends highlight the urgent need for robust antibiotic stewardship and strict regulation of antimicrobial use nationwide.

AMR data in Algeria remains limited and fragmented. As noted by Touati and Mairi [21], most available evidence stems from isolated academic efforts, often in collaboration with European labs, rather than from coordinated national surveillance. The Algerian Antimicrobial Resistance Network (AARN) [81] has also reported increasingly alarming resistance patterns in *E. coli* and *K. pneumoniae* from hospitals across the country, emphasizing challenges such as diagnostic variability and under-resourced microbiology services.

In this context, our study contributes valuable region-specific data by characterizing the virulence and antibiotic resistance profiles of *E. coli* and *K. pneumoniae* strains causing UTIs in Tebessa. By exploring a simplified laboratory workflow for AMR monitoring, this work supports the development of cost-effective surveillance tools. A clearer understanding of local epidemiological patterns is essential to guide empirical therapy, inform infection control strategies, and strengthen Algeria's national AMR response.

4. Materials and Methods

4.1. *E. coli* and *K. pneumoniae* Collections

This study analyzed 57 non-duplicate isolates, comprising 40 *E. coli* and 17 *K. pneumoniae*, recovered from urine samples of both male (9 *E. coli* and 5 *K. pneumoniae*) and female (31 *E. coli* and 12 *K. pneumoniae*) patients. The samples were obtained from both outpatients and inpatients at three healthcare facilities in the Tebessa region of northeast Algeria. These facilities were the Bouguerra Boularess-Bekaria Public Hospital Establishment (EPH) (252 beds, 8 wards), the Khaldi Abdelaziz-Tebessa Maternity Hospital (EPH) (166 beds, 4 wards), and the private laboratory Elite. Isolates were collected between July 2022 and January 2024.

Following incubation on MacConkey (ML) agar (Oxoid, Sin El Fil, Beirut, Lebanon) at 37 °C for 18–24 h, bacterial identification was performed using the API 20E system (bioMérieux, Dely Ibrahim, Alger, Algeria) and the Vitek 2 GN system (bioMérieux Inc., Hazelwood, MO, USA). Isolates were selected based on extended-spectrum cephalosporin

(ESC) resistance using the Vitek 2 AST system (bioMérieux, Dely Ibrahim, Alger, Algeria). Selected isolates were stored on slanted nutrient agar (Difco, Sin El Fil, Beirut, Lebanon) at room temperature until further molecular analysis at the Reference Laboratory for *E. coli* (LREC, University of Santiago de Compostela, Spain) (Tables S1 and S2).

Species confirmation was conducted by PCR amplification of the β -d-glucuronidase (*uidA*) gene for *E. coli* [22] and the putative acyltransferase (*kp50233*) gene for *K. pneumoniae* [82] (Table S5). When PCR results were inconclusive, bacterial identification was performed using matrix-assisted laser desorption/ionization–time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF) (Bruker Daltonik, Bremen, Germany). A species-level identification was considered reliable only if the obtained score exceeded 2.

Non-lactose fermenting (NLF) *E. coli* were identified phenotypically based on their inability to ferment lactose after overnight incubation on ML agar at 37 °C.

4.2. Antimicrobial Susceptibility Testing (AST)

At the LREC (University of Santiago de Compostela, Spain), antimicrobial susceptibility testing (AST) was performed using the disc diffusion method (Becton Dickinson, Sparks, MD, USA) on Mueller–Hinton (MH) agar (Oxoid, Madrid, Spain). A total of 20 antibiotics were tested: penicillin (ampicillin), penicillin + beta-lactamase inhibitors (amoxicillin-clavulanic acid), non-broad spectrum cephalosporins (cefuroxime); broad-spectrum cephalosporins (cefotaxime, ceftazidime), carbapenems (ertapenem), monobactams (aztreonam), fluoroquinolones (nalidixic acid, ciprofloxacin), aminoglycosides (amikacin, gentamicin, tobramycin), tetracyclines (doxycycline), glycyclines (tigecycline), phosphonic acids (fosfomicin), nitrofurans (nitrofurantoin), folate pathway inhibitors (trimethoprim-sulfamethoxazole), polymyxins (colistin), and amphenicols (chloramphenicol).

AST results were interpreted according to the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing [83] clinical breakpoints when available, or Clinical & Laboratory Standards Institute [84] as an alternative. Isolates were classified as MDR if they exhibited resistance to at least one drug in three or more antimicrobial categories [23].

4.3. Detection and Typing of Antimicrobial Resistance Genes

The isolates were screened by PCR for clinically relevant *bla*_{ESC} genes using primers specific for SHV, CMY, CTX-M, VIM, IMP, OXA-48, KPC, and NDM. Sanger sequencing was performed when appropriate, in order to confirm gene variants or subtyping, as described elsewhere [85–91] (Table S6). In addition, mobile colistin resistance genes *mcr-1* to *mcr-5* were screened by PCR [92,93] (Table S7).

4.4. Molecular Characterization of *E. coli*: Virulence Traits, Phylogroup, Clonotype, and Virotype Assignment

For the molecular characterization of the *E. coli* collection, we followed the workflow scheme proposed by García-Meniño et al. [10]. Briefly, specific virulence-associated genes statistically linked to increased efficiency in urinary tract colonization were tested by PCR. Isolates were classified as UPEC if they harbored ≥ 3 of the following genes: *chuA*, *fyuA*, *vat*, or *yfcV* [24] (Table S8). The designation of extraintestinal pathogenic *E. coli* (ExPEC) status was attributed to isolates positive for ≥ 2 of these five markers: *papAH*, *sfa/focDE*, *afa/draBC*, *kpsM II*, or *iutA* [25,33,94] (Table S8).

The clonal structure of the *E. coli* collection was investigated using the phylogroup assignment method of Clermont et al. [26,27,95] (Table S9), which differentiates eight *E. coli* phylogroups (A, B1, B2, C, D, E, F, and G). Clonotype (CH) determination was performed by Sanger sequencing a 469-nucleotide (nt) internal region of the *fumC* gene (allele derived

from MLST) and a 489-nt internal fragment of the *fimH* gene, encoding type 1 fimbrial adhesion [31] (Table S10).

To presumptively identify the pandemic CC131 lineage, we screened for phylogroup B2 along with *rfbO25*, *fliC_{H4}*, and *fliC_{H5}*. In addition, the *fliC_{H5}* flagellar-encoding gene is commonly associated with NFL *E. coli* ST1193 (Table S11) [96]. Isolates confirmed as O25b:H4-B2-CH40-30 were further characterized for their virotypes according to the protocol established by Dahbi et al. [30], based on the presence or absence of specific extraintestinal virulence factors (*afa/draBC*, *afa* operon FM955459, *iroN*, *sat*, *ibeA*, *papG II*, *papG III*, *cnf1*, *hlyA*, *cdtB*, *kpsM II*-K1, -K2, and -K5) (Tables S12 and S13) [97–102].

4.5. Phenotypic and Genotypic Detection of Hypervirulent *K. pneumoniae*

Hypervirulent *K. pneumoniae* (hvKp) isolates were initially screened based on the hypermucoviscous (HMV) phenotype using the string test, as described by Shon et al. [35]. String tests were performed on colonies grown on MH agar, ML agar, trypticase soy (TSA) agar (Oxoid, Madrid, Spain), and Columbia agar (5% sheep blood) (Oxoid, Madrid, Spain) incubated at 37 °C/24 h. A positive string test was defined as the formation of a viscous string ≥ 5 mm in length when a bacteriological inoculation loop was used to stretch bacterial colonies on an agar plate [35].

Additionally, the presence of molecular markers statistically associated with hvKp was assessed by PCR. Isolates were classified as hvKp if they carried all five hvKp virulence plasmid-associated genes: *peg-344* (putative transporter), *rmpA* and *rmpA2* (regulators of the mucoid phenotype via increased capsule production), *iroB* (salmochelin siderophore biosynthesis), and *iucA* (aerobactin siderophore biosynthesis) [36,78] (Table S14).

4.6. Whole Genome Sequencing (WGS) and Bioinformatics Analysis

The *E. coli* isolate classified as *fliC_{H5}*-B2 and CH14-64 was further analysed by WGS as described by García et al. [103]. Briefly, DNA was extracted with the DNeasey Blood and Tissue Kit (Qiagen, Hilden, Germany) according to the manufacturer's instructions. After extraction, the DNA was quantified by an Invitrogen Qubit fluorimeter (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) and evaluated for purity using a NanoDrop ND-1000 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). The DNA sequencing was performed using Illumina technology with a NovaSeq 6000 S4PE150 XP system to obtain 150 bp paired-end reads at Eurofins Genomics (Eurofins Genomics GmbH, Konstanz, Germany), following library preparation using the standard Illumina DNA Prep kit (Illumina Cambridge Ltd., Cambridge, UK). The quality of the paired-end Illumina reads was evaluated using FastQC v0.12.1.

The genome reconstruction and in silico analysis were performed as described elsewhere [104]. Briefly, the raw reads were assembled with the VelvetOptimiser.pl script implemented in the online version of the PLAsmid Constellation NETwork (PLACNETw). The assembled contigs, with genomic size 5.0 Mbp, were analyzed using the bioinformatics tools of the Center for Genomic Epidemiology (CGE) as specified, and applying the thresholds suggested by default when required (minimum identity of 95% and coverage of 60%) for the presence of acquired genes and or chromosomal mutations mediating antimicrobial resistance (ResFinder 4.6.) [105,106]; for identification of acquired virulence genes (VirulenceFinder 2.0) [107,108]; plasmid replicon types (PlasmidFinder 2.1/pMLST 2.0) [109]; identification of clonotypes (CHTyper 1.0) [110]; and serotypes (SeroTypeFinder 2.0.1) [111]. Two different MLST (2.0.9) schemes were applied for phylogenetic typing [34,112]. Additionally, cgMLSTFinder1.2 was called for the core genome multi-locus typing (cgMLST) [106,113].

To investigate the phylogenetic relationship of the ST1193 isolate sequenced in this study, a comparative analysis was performed using CSI Phylogeny 1.4 with five previously described ST1193 isolates from a hospital in northwest Spain [9].

The pipeline was run, using the genome of LREC-269 as the reference for single-nucleotide polymorphism (SNP) calling, with the following parameters: min. depth at SNP positions $\times 10$; min. relative depth at SNP positions: $\times 10$; min. distance between SNPs (prune): 10bp; min. SNP quality: 30; min. read mapping quality: 25, a min. Z-score of 1.96 and by ignoring heterozygous SNPs). Branch values represent substitutions per site. Bootstrap support for the consensus phylogenetic tree was calculated using 1000 replicates [114]. The resulting SNP matrix is shown in Table S3.

Finally, Enterobase (<https://Enterobase.warwick.ac.uk/>; accessed on 20 December 2024) was queried for ST1193 genomes based on the Achtman 7-gene MLST scheme. Specific core genome MLST (cgMLST) sequences were retrieved, and their raw reads were used for comparative genomic analysis (Table S4).

5. Conclusions

This study provides important insights into the epidemiology of MDR *E. coli* and *K. pneumoniae* in Algeria, highlighting the presence and diversity of *E. coli* CC131 CH40-30 and reporting, for the first time, *E. coli* ST1193 carrying CTX-M-15 in this region. The detection of virulent *K. pneumoniae* co-harboring carbapenemase and ESBL resistance genes is particularly concerning, as it raises the potential for increased pathogenicity and treatment failure in clinical settings.

The co-occurrence of AMR and virulence factors underscores the need for enhanced surveillance and infection control measures. A simplified surveillance method based on virulence traits in *E. coli* and *K. pneumoniae* is proposed for early detection and outbreak monitoring. In addition, monitoring high-risk clones such as CC38 and OXA-48 is crucial for preventing further public health threats. A practical lab workflow for identifying high-risk *E. coli* clones associated with UTIs is outlined, emphasizing non-lactose fermenting isolates, antimicrobial susceptibility testing, and phylogroup/clonotyping.

This study had certain limitations, as the isolates were collected from only three health-care facilities within a single province (Tebessa), which may limit the broader geographical representation of the findings. The sample size, while sufficient for exploratory analysis, may not fully capture the genetic and phenotypic diversity of *E. coli* and *K. pneumoniae* circulating in other regions of Algeria. Nevertheless, our findings are consistent with previous reports from northern and western Algeria, suggesting that the AMR patterns observed in uropathogens may reflect broader national trends. Furthermore, future studies involving in-depth genomic characterization, such as plasmid profiling and mobility analyses, are needed to understand the dynamics of resistance gene dissemination.

Given the significant resistance profiles observed here, targeted antibiotic optimization programs should focus on rational antibiotic use, improved prescription practices, and enhanced surveillance, especially in LMICs where MDR infections pose a major public health burden.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at <https://www.mdpi.com/article/10.3390/antibiotics14050485/s1>, Table S1. Metadata and main traits of the 40 UTI *E. coli* isolates analysed in this study; Table S2. Metadata and main traits of the 17 UTI *K. pneumoniae* isolates analysed in this study; Table S3. Pairwise distance matrix calculated from SNP in the Algerian and Spanish ST1193 genomes; Table S4. Pairwise distance matrix calculated from SNP in the Algerian, Spanish and ESC_RA5887AA ST1193 genomes; Table S5. Targets and primers used for *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* identification; Table S6. Primers used for the detection and/or sequencing of *bla* genes; Table S7. Primers used for the detection of *mcr* genes; Table S8. Targets and

primers used to determine the UPEC and ExPEC status; Table S9. Targets and primers used for the phylogroup determination in *E. coli*; Table S10. Targets and primers to determine clonotypes (CH); Table S11. Primers used for the *rfbO*25b, H4 (*fliC_{H4}*), and H5 (*fliC_{H5}*) screening; Table S12. Targets and primers used in the virotype scheme of CC131 isolates; Table S13. Virotype designation scheme for CC131 *E. coli*; Table S14. Targets and primers used for virulence genes of *Klebsiella pneumoniae*.

Author Contributions: Conceptualization, V.G. and A.M.; methodology, H.Z., V.G. and A.M.; formal analysis, H.Z. and L.C.; investigation, H.Z., L.C., F.C., A.C., V.G. and A.M.; resources, A.M.; writing—original draft preparation, H.Z. and V.G.; writing—review and editing, V.G. and A.M.; supervision, V.G. and A.M.; funding acquisition, A.M. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was supported by grants PID2022-143041OB-I00 funded by MICIU / AEI / 10.13039/501100011033 and FEDER, UE, and ED431C 2021/11 from the Consellería de Cultura, Educación e Ordenación Universitaria (Xunta de Galicia) and FEDER.

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: The nucleotide sequence of the ST1193 *E. coli* isolate was deposited in the European Nucleotide Archive (ENA) with the following accession ERS22141751 and BioSample SAMEA117078805 codes, as part of BioProject ID PRJEB82513.

Acknowledgments: Hajer Ziadi's research at the Laboratorio de Referencia de *Escherichia coli* (LREC) in Lugo, Spain, under the supervision of Azucena Mora, was supported by an ERASMUS+ KA171 Doctoral Studies grant, in collaboration with the University of Mostaganem (Algeria) and the University of Santiago de Compostela (USC, Spain). The authors appreciate the support of the EPH Bouguerra Boularaas laboratory and GUESOUM Amina from ELITE private laboratory, for assistance in isolating. Special thanks to Javier Fernández (Hospital Universitario Central de Asturias, HUCA, Oviedo, Spain) for his help with *Klebsiella pneumoniae* identification when PCR results were inconclusive.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

References

1. Yang, X.; Chen, H.; Zheng, Y.; Qu, S.; Wang, H.; Yi, F. Disease burden and long-term trends of urinary tract infections: A worldwide report. *Front. Public. Health* **2022**, *10*, 888205. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
2. Öztürk, R.; Murt, A. Epidemiology of urological infections: A global burden. *World J. Urol.* **2020**, *38*, 2669–2679. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
3. Foxman, B. Urinary tract infection syndromes: Occurrence, recurrence, bacteriology, risk factors, and disease burden. *Infect. Dis. Clin. N. Am.* **2014**, *28*, 1–13. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
4. Flores-Mireles, A.L.; Walker, J.N.; Caparon, M.; Hultgren, S.J. Urinary tract infections: Epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nat. Rev. Microbiol.* **2015**, *13*, 269–284. [\[CrossRef\]](#)
5. He, Y.; Zhao, J.; Wang, L.; Han, C.; Yan, R.; Zhu, P.; Qian, T.; Yu, S.; Zhu, X.; He, W.H. Epidemiological trends and predictions of urinary tract infections in the global burden of disease study 2021. *Sci. Rep.* **2025**, *15*, 4702. [\[CrossRef\]](#)
6. Murray, C.J.; Ikuta, K.S.; Sharara, F.; Swetschinski, L.; Robles Aguilar, G.; Gray, A.; Han, C.; Bisignano, C.; Rao, P.; Wool, E.; et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: A systematic analysis. *Lancet* **2022**, *399*, 629–655. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
7. Li, X.; Fan, H.; Zi, H.; Hu, H.; Li, B.; Huang, J.; Luo, P.; Zeng, X. Global and Regional Burden of Bacterial Antimicrobial Resistance in Urinary Tract Infections in 2019. *J. Clin. Med.* **2022**, *11*, 2817. [\[CrossRef\]](#)
8. Manges, A.R.; Geum, H.M.; Guo, A.; Edens, T.J.; Fibke, C.D.; Pitout, J.D.D. Global Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC) Lineages. *Clin. Microbiol. Rev.* **2019**, *32*, e00135–18. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
9. García-Meniño, I.; Lumbreras, P.; Lestón, L.; Álvarez-Álvarez, M.; García, V.; Hammerl, J.A.; Fernández, J.; Mora, A. Occurrence and Genomic Characterization of Clone ST1193 Clonotype 14-64 in Uncomplicated Urinary Tract Infections Caused by *Escherichia coli* in Spain. *Microbiol. Spectr.* **2022**, *10*, e0004122. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
10. García-Meniño, I.; García, V.; Lumbreras-Iglesias, P.; Fernández, J.; Mora, A. Fluoroquinolone resistance in complicated urinary tract infections: Association with the increased occurrence and diversity of clonal complex 131, together with ST1193. *Front. Cell Infect. Microbiol.* **2024**, *14*, 1351618. [\[CrossRef\]](#)

11. Pitout, J.D.D.; Peirano, G.; Chen, L.; DeVinney, R.; Matsumura, Y. *Escherichia coli* ST1193: Following in the Footsteps of *E. coli* ST131. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2022**, *66*, e0051122. [\[CrossRef\]](#)
12. Cummins, E.A.; Snaith, A.E.; McNally, A.; Hall, R.J. The role of potentiating mutations in the evolution of pandemic *Escherichia coli* clones. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **2021**, *40*, 1–10. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
13. WHO's List of Medically Important Antimicrobials: A Risk Management Tool for Mitigating Antimicrobial Resistance Due to Non-Human Use; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2024.
14. Ait-Mimoune, N.; Hassaine, H.; Boulanoir, M. Bacteriological profile of urinary tract infections and antibiotic susceptibility of *Escherichia coli* in Algeria. *Iran. J. Microbiol.* **2022**, *14*, 156–160. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
15. Bakour, S.; Sahli, F.; Touati, A.; Rolain, J.M. Emergence of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* ST512 isolated from cerebrospinal fluid of a child in Algeria. *New Microbes New Infect.* **2015**, *3*, 34–36. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
16. Brahmi, S.; Lalaoui, R.; Nedjai, S.; Djahmi, N.; Chettibi, S.; Rolain, J.M.; Bakour, S. First Clinical Cases of KPC-2-Producing *Klebsiella pneumoniae* ST258 in Algeria and Outbreak of *Klebsiella pneumoniae* ST101 Harboring blaOXA-48 Gene in the Urology Department of Annaba Hospital. *Microb. Drug Resist.* **2021**, *27*, 652–659. [\[CrossRef\]](#)
17. Benbrahim, C.; Barka, M.S.; Benmahdi, L.; Zatout, A.; Khadir, A. *Klebsiella pneumoniae* producing extended spectrum β -lactamase in Regional Military University Hospital of Oran, Algeria: Antibiotic resistance, biofilm formation, and detection of blaCTX-M and blaTEM genes. *Afr. J. Clin. Exper Microbiol.* **2021**, *22*, 28–37. [\[CrossRef\]](#)
18. Fares, R.; Debabza, M.; Mechai, A. Detection prevalence of extended spectrum β -lactamases production among Enterobacteriaceae isolated from urinary tract infections. *Biosyst. Divers.* **2023**, *31*, 163–169. [\[CrossRef\]](#)
19. Nabti, L.Z.; Sahli, F.; Radji, N.; Mezaghcha, W.; Semara, L.; Aberkane, S.; Lounnas, M.; Solassol, J.; Didelot, M.N.; Jean-Pierre, H.; et al. High Prevalence of Multidrug-Resistant *Escherichia coli* in Urine Samples from Inpatients and Outpatients at a Tertiary Care Hospital in Sétif, Algeria. *Microb. Drug Resist.* **2019**, *25*, 386–393. [\[CrossRef\]](#)
20. Zenati, F.; Barguigua, A.; Nayme, K.; Benbelaïd, F.; Khadir, A.; Bellahsene, C.; Bendahou, M.; Hafida, H.; Timinouni, M. Characterization of uropathogenic ESBL-producing *Escherichia coli* isolated from hospitalized patients in western Algeria. *J. Infect. Dev. Ctries.* **2019**, *13*, 291–302. [\[CrossRef\]](#)
21. Touati, A.; Mairi, A. Carbapenemase-Producing Enterobacterales in Algeria: A Systematic Review. *Microb. Drug Resist.* **2020**, *26*, 475–482. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
22. Gómez-Duarte, O.G.; Arzuza, O.; Urbina, D.; Bai, J.; Guerra, J.; Montes, O.; Puello, M.; Mendoza, K.; Castro, G.Y. Detection of *Escherichia coli* enteropathogens by multiplex polymerase chain reaction from children's diarrheal stools in two Caribbean-Colombian cities. *Foodborne Pathog. Dis.* **2010**, *7*, 199–206. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
23. Magiorakos, A.P.; Srinivasan, A.; Carey, R.B.; Carmeli, Y.; Falagas, M.E.; Giske, C.G.; Harbarth, S.; Hindler, J.F.; Kahlmeter, G.; Olsson-Liljequist, B.; et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: An international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin. Microbiol. Infect.* **2012**, *18*, 268–281. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
24. Spurbeck, R.R.; Dinh, P.C.; Walk, S.T.; Stapleton, A.E.; Hooton, T.M.; Nolan, L.K.; Kim, K.S.; Johnson, J.R.; Mobley, H.L.T. *Escherichia coli* isolates that carry vat, fyuA, chuA, and yfcV efficiently colonize the urinary tract. *Infect. Immun.* **2012**, *80*, 4115–4122. [\[CrossRef\]](#)
25. Johnson, J.R.; Murray, A.C.; Gajewski, A.; Sullivan, M.; Snippes, P.; Kuskowski, M.A.; Smith, K.E. Isolation and molecular characterization of nalidixic acid-resistant extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* from retail chicken products. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2003**, *47*, 2161–2168. [\[CrossRef\]](#)
26. Clermont, O.; Christenson, J.K.; Denamur, E.; Gordon, D.M. The Clermont *Escherichia coli* phylo-typing method revisited: Improvement of specificity and detection of new phylo-groups. *Environ. Microbiol. Rep.* **2013**, *5*, 58–65. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
27. Clermont, O.; Dixit, O.V.A.; Vangchhia, B.; Condamine, B.; Dion, S.; Bridier-Nahmias, A.; Denamur, E.; Gordon, D. Characterization and rapid identification of phylogroup G in *Escherichia coli*, a lineage with high virulence and antibiotic resistance potential. *Environ. Microbiol.* **2019**, *21*, 3107–3117. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
28. Blanco, M.; Alonso, M.P.; Nicolas-Chanoine, M.H.; Dahbi, G.; Mora, A.; Blanco, J.E.; López, C.; Cortés, P.; Llagostera, M.; Leflon-Guibout, V.; et al. Molecular epidemiology of *Escherichia coli* producing extended-spectrum (beta)-lactamases in Lugo (Spain): Dissemination of clone O25b:H4-ST131 producing CTX-M-15. *J. Antimicrob. Chemother.* **2009**, *63*, 1135–1141. [\[CrossRef\]](#)
29. Clermont, O.; Dhanji, H.; Upton, M.; Gibreel, T.; Fox, A.; Boyd, D.; Mulvey, M.R.; Nordmann, P.; Ruppé, E.; Sarthou, J.L.; et al. Rapid detection of the O25b-ST131 clone of *Escherichia coli* encompassing the CTX-M-15-producing strains. *J. Antimicrob. Chemother.* **2009**, *64*, 274–277. [\[CrossRef\]](#)
30. Dahbi, G.; Mora, A.; Mamani, R.; López, C.; Alonso, M.P.; Marzoa, J.; Blanco, M.; Herrera, A.; Viso, S.; García-Garrote, F.; et al. Molecular epidemiology and virulence of *Escherichia coli* O16:H5-ST131: Comparison with H30 and H30-Rx subclones of O25b:H4-ST131. *Int. J. Med. Microbiol.* **2014**, *304*, 1247–1257. [\[CrossRef\]](#)
31. Weissman, S.J.; Johnson, J.R.; Tchesnokova, V.; Billig, M.; Dykhuizen, D.; Riddell, K.; Peggy, R.; Qin, X.; Butler-Wu, S.; Cookson, B.T.; et al. High-resolution two-locus clonal typing of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.* **2012**, *78*, 1353–1360. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

32. Johnson, J.R.; Tchesnokova, V.; Johnston, B.; Clabots, C.; Roberts, P.L.; Billig, M.; Riddell, K.; Rogers, P.; Qin, X.; Butler-Wu, S.; et al. Abrupt emergence of a single dominant multidrug-resistant strain of *Escherichia coli*. *J. Infect. Dis.* **2013**, *207*, 919–928. [CrossRef] [PubMed]
33. Johnson, J.R.; Stell, A.L. Extended virulence genotypes of *Escherichia coli* strains from patients with urosepsis in relation to phylogeny and host compromise. *J. Infect. Dis.* **2000**, *181*, 261–272. [CrossRef]
34. Jauregui, F.; Landraud, L.; Passet, V.; Diancourt, L.; Frapy, E.; Guigon, G.; Carbonnelle, E.; Lortholary, O.; Clermont, O.; Denamur, E.; et al. Phylogenetic and genomic diversity of human bacteremic *Escherichia coli* strains. *BMC Genom.* **2008**, *9*, 560. [CrossRef] [PubMed]
35. Shon, A.S.; Bajwa, R.P.; Russo, T.A. Hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae*: A new and dangerous breed. *Virulence* **2013**, *4*, 107–118. [CrossRef] [PubMed]
36. Russo, T.A.; Olson, R.; Fang, C.T.; Stoesser, N.; Miller, M.; MacDonald, U.; Hutson, A.; Barker, J.H.; La Hoz, R.M.; Hohnson, J.R. Identification of Biomarkers for Differentiation of Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* from Classical *K. pneumoniae*. *J. Clin. Microbiol.* **2018**, *56*, e00776–18. [CrossRef]
37. Institute for Health Metrics and Evaluation (IHME), University of Oxford. MICROBE. Available online: <https://vizhub.healthdata.org/microbe> (accessed on 23 March 2025).
38. Peirano, G.; Pitout, J.D.D. Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae*: Update on Molecular Epidemiology and Treatment Options. *Drugs* **2019**, *79*, 1529–1541. [CrossRef] [PubMed]
39. Peirano, G.; Pitout, J.D.D. Rapidly spreading *Enterobacterales* with OXA-48-like carbapenemases. *J. Clin. Microbiol.* **2025**, *63*, e0151524. [CrossRef]
40. López-Cerero, L.; Salamanca, E.; Delgado-Valverde, M.; Rodríguez-Martínez, J.M.; Rodríguez-Baño, J.; Pascual, Á. Higher prevalence of CTX-M-27-producing *Escherichia coli* belonging to ST131 clade C1 among residents of two long-term care facilities in Southern Spain. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **2022**, *41*, 335–338. [CrossRef]
41. Spurbeck, R.R.; Mobley, H.L.T. Chapter 9—Uropathogenic *Escherichia coli*. In *Escherichia coli, Pathotypes and Principles of Pathogenesis*, 2nd ed.; Donnenberg, M., Ed.; Elsevier Inc.: Amsterdam, The Netherlands; Academic Press: Amsterdam, The Netherlands, 2013; pp. 275–304.
42. Wang, M.C.; Fan, Y.H.; Zhang, Y.Z.; Bregente, C.J.B.; Lin, W.H.; Chen, C.A.; Lin, T.L.; Kao, C.Y. Characterization of uropathogenic *Escherichia coli* phylogroups associated with antimicrobial resistance, virulence factor distribution, and virulence-related phenotypes. *Infect. Genet. Evol.* **2023**, *114*, 105493. [CrossRef] [PubMed]
43. Colpan, A.; Johnston, B.; Porter, S.; Clabots, C.; Anway, R.; Thao, L.; Kuskowski, M.A.; Tchesnokova, V.; Solurenko, E.V.; Johnson, J.R. *Escherichia coli* sequence type 131 (ST131) subclone H30 as an emergent multidrug-resistant pathogen among US veterans. *Clin. Infect. Dis.* **2013**, *57*, 1256–1265. [CrossRef]
44. Banerjee, R.; Johnson, J.R. A new clone sweeps clean: The enigmatic emergence of *Escherichia coli* sequence type 131. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2014**, *58*, 4997–5004. [CrossRef] [PubMed]
45. Pitout, J.D.; DeVinney, R. ST131: A multidrug-resistant clone primed for global domination. *F1000Research* **2017**, *6*, 195. [CrossRef] [PubMed]
46. Baba Ahmed-Kazi Tani, Z.; Decré, D.; Genel, N.; Boucherit-Otmani, Z.; Arlet, G.; Drissi, M. Molecular and epidemiological characterization of enterobacterial multidrug-resistant strains in Tlemcen Hospital (Algeria) (2008–2010). *Microb. Drug Resist.* **2013**, *19*, 185–190. [CrossRef]
47. Agabou, A.; Pantel, A.; Ouchenane, Z.; Lezzar, N.; Khemissi, S.; Satta, D.; Lavigne, J.P. First description of OXA-48-producing *Escherichia coli* and the pandemic clone ST131 from patients hospitalised at a military hospital in Algeria. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **2014**, *33*, 1641–1646. [CrossRef]
48. Yahiaoui, M.; Robin, F.; Bakour, R.; Hamidi, M.; Bonnet, R.; Messai, Y. Antibiotic Resistance, Virulence, and Genetic Background of Community-Acquired Uropathogenic *Escherichia coli* from Algeria. *Microb. Drug Resist.* **2015**, *21*, 516–526. [CrossRef] [PubMed]
49. Brahmi, S.; Dunyach-Rémy, C.; Touati, A.; Lavigne, J.P. CTX-M-15-producing *Escherichia coli* and the pandemic clone O25b-ST131 isolated from wild fish in Mediterranean Sea. *Clin. Microbiol. Infect.* **2015**, *21*, e18–e20. [CrossRef] [PubMed]
50. Chenouf, N.S.; Carvalho, I.; Messai, C.R.; Ruiz-Ripa, L.; Mama, O.M.; Titouche, Y.; Zitouni, A.; Hakem, A.; Torres, C. Extended Spectrum β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* from Brolier Liver in the Center of Algeria, with Detection of CTX-M-55 and B2/ST131-CTX-M-15 in *Escherichia coli*. *Microb. Drug Resist.* **2021**, *27*, 268–276. [CrossRef]
51. Bachiri, T.; Bakour, S.; Ladjouzi, R.; Thongpan, L.; Rolain, J.M.; Touati, A. High rates of CTX-M-15-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in wild boars and Barbary macaques in Algeria. *J. Glob. Antimicrob. Resist.* **2017**, *8*, 35–40. [CrossRef]
52. Johnson, T.J.; Elnekave, E.; Miller, E.A.; Munoz-Aguayo, J.; Flores Figueroa, C.; Johnston, B.; Nielson, D.W.; Logue, C.M.; Johnson, J.R. Phylogenomic Analysis of Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* Sequence Type 1193, an Emerging Multidrug-Resistant Clonal Group. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2019**, *63*, e01913–18. [CrossRef] [PubMed]
53. Wyrsh, E.R.; Bushell, R.N.; Marena, M.S.; Browning, G.F.; Djordjevic, S.P. Global Phylogeny and F Virulence Plasmid Carriage in Pandemic *Escherichia coli* ST1193. *Microbiol. Spectr.* **2022**, *10*, e0255422. [CrossRef]

54. Birgy, A.; Madhi, F.; Jung, C.; Levy, C.; Cointe, A.; Bidet, P.; Hobson, C.A.; Bechet, S.; Sobral, E.; Vuthien, H.; et al. Diversity and trends in population structure of ESBL-producing *Enterobacteriaceae* in febrile urinary tract infections in children in France from 2014 to 2017. *J. Antimicrob. Chemother.* **2020**, *75*, 96–105. [\[CrossRef\]](#)
55. Valenza, G.; Werner, M.; Eisenberger, D.; Nickel, S.; Lehner-Reindl, V.; Höller, C.; Lehner-Reindl, V.; Höller, C.; Bagdan, C. First report of the new emerging global clone ST1193 among clinical isolates of extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* from Germany. *J. Glob. Antimicrob. Resist.* **2019**, *17*, 305–308. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
56. Ding, Y.; Zhang, J.; Yao, K.; Gao, W.; Wang, Y. Molecular characteristics of the new emerging global clone ST1193 among clinical isolates of *Escherichia coli* from neonatal invasive infections in China. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **2021**, *40*, 833–840. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
57. Kim, Y.; Oh, T.; Nam, Y.S.; Cho, S.Y.; Lee, H.J. Prevalence of ST131 and ST1193 Among Bloodstream Isolates of *Escherichia coli* not Susceptible to Ciprofloxacin in a Tertiary Care University Hospital in Korea, 2013–2014. *Clin. Lab.* **2017**, *63*, 1541–1543. [\[CrossRef\]](#)
58. Nguyen, Q.; Nguyen, T.T.N.; Pham, P.; Chau, V.; Nguyen, L.P.H.; Nguyen, T.D.; Ha, T.T.; Le, N.T.Q.; Vu, D.T.; Baker, S.; et al. Genomic insights into the circulation of pandemic fluoroquinolone-resistant extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli* ST1193 in Vietnam. *Microb. Genom.* **2021**, *7*, 000733. [\[CrossRef\]](#)
59. Tchesnokova, V.L.; Rechkina, E.; Larson, L.; Ferrier, K.; Weaver, J.L.; Schroeder, D.W.; She, R.; Butler-Wu, S.M.; Aguero-Rosenfeld, M.E.; Zerr, D.; et al. Rapid and Extensive Expansion in the United States of a New Multidrug-resistant *Escherichia coli* Clonal Group, Sequence Type 1193. *Clin. Infect. Dis.* **2019**, *68*, 334–337. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
60. Yehouenou, C.L.; Bogaerts, B.; De Keersmaecker, S.C.J.; Roosens, N.H.C.; Marchal, K.; Tchiakpe, E.; Affolabi, D.; Simon, A.; Dossou, F.M.; Vanneste, K.; et al. Whole-Genome Sequencing-Based Antimicrobial Resistance Characterization and Phylogenomic Investigation of 19 Multidrug-Resistant and Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Positive *Escherichia coli* Strains Collected From Hospital Patients in Benin in 2019. *Front. Microbiol.* **2021**, *12*, 752883. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
61. Byarugaba, D.K.; Erima, B.; Wokorach, G.; Alafi, S.; Kibuuka, H.; Mworzi, E.; Musinguzi, A.K.; Kiyengo, J.; Najjuka, F.; Wabwire-Mangen, F. Resistome and virulome of high-risk pandemic clones of multidrug-resistant extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC) isolated from tertiary healthcare settings in Uganda. *PLoS ONE* **2023**, *18*, e0294424. [\[CrossRef\]](#)
62. Gomi, R.; Matsumura, Y.; Yamamoto, M.; Tanaka, M.; Komakech, A.J.; Matsuda, T.; Harada, H. Genomic surveillance of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* in fecal sludge and sewage in Uganda. *Water Res.* **2024**, *248*, 120830. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
63. Achtman, M.; Zhou, Z.; Charlesworth, J.; Baxter, L. Enterobase: Hierarchical clustering of 100 000s of bacterial genomes into species/subspecies and populations. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* **2022**, *377*, 20210240. [\[CrossRef\]](#)
64. Falgenhauer, L.; Nordmann, P.; Imirzalioglu, C.; Yao, Y.; Falgenhauer, J.; Hauri, A.M.; Heinmüller, P.; Chakraborty, T. Cross-border emergence of clonal lineages of ST38 *Escherichia coli* producing the OXA-48-like carbapenemase OXA-244 in Germany and Switzerland. *Int. J. Antimicrob. Agents* **2020**, *56*, 106157. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
65. Grevskott, D.H.; Radisic, V.; Salvà-Serra, F.; Moore, E.R.B.; Akervold, K.S.; Victor, M.P.; Marathe, N.P. Emergence and dissemination of epidemic-causing OXA-244 carbapenemase-producing *Escherichia coli* ST38 through hospital sewage in Norway, 2020–2022. *J. Hosp. Infect.* **2024**, *145*, 165–173. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
66. Roy Chowdhury, P.; Hastak, P.; DeMaere, M.; Wyrsh, E.; Li, D.; Elankumaran, P.; Dolejska, M.; Browning, G.F.; Marends, M.S.; Gottlieb, T.; et al. Phylogenomic analysis of a global collection of *Escherichia coli* ST38: Evidence of interspecies and environmental transmission? *mSystems* **2023**, *8*, e0123622. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
67. Bouaziz, A.; Loucif, L.; Ayachi, A.; Guehaz, K.; Bendjama, E.; Rolain, J.M. Migratory White Stork (*Ciconia ciconia*): A Potential Vector of the OXA-48-Producing *Escherichia coli* ST38 Clone in Algeria. *Microb. Drug Resist.* **2018**, *24*, 461–468. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
68. Tafoukt, R.; Touati, A.; Leangapichart, T.; Bakour, S.; Rolain, J.M. Characterization of OXA-48-like-producing Enterobacteriaceae isolated from river water in Algeria. *Water Res.* **2017**, *120*, 185–189. [\[CrossRef\]](#)
69. Yagoubat, M.; Ould El-Hadj-Khelil, A.; Malki, A.; Bakour, S.; Touati, A.; Rolain, J.M. Genetic characterisation of carbapenem-resistant Gram-negative bacteria isolated from the University Hospital Mohamed Boudiaf in Ouargla, southern Algeria. *J. Glob. Antimicrob. Resist.* **2017**, *8*, 55–59. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
70. Belmahdi, M.; Bakour, S.; Al Bayssari, C.; Touati, A.; Rolain, J.M. Molecular characterisation of extended-spectrum β -lactamase- and plasmid AmpC-producing *Escherichia coli* strains isolated from broilers in Béjaïa, Algeria. *J. Glob. Antimicrob. Resist.* **2016**, *6*, 108–112. [\[CrossRef\]](#)
71. Abderrahim, A.; Djahmi, N.; Pujol, C.; Nedjai, S.; Bentakouk, M.C.; Kirane-Gacemi, D.; Dekhil, M.; Sotto, A.; Lavigne, J.P.; Pantel, A. First Case of NDM-1-Producing *Klebsiella pneumoniae* in Annaba University Hospital, Algeria. *Microb. Drug Resist.* **2017**, *23*, 895–900. [\[CrossRef\]](#)
72. Zemmour, A.; Dali-Yahia, R.; Maatallah, M.; Saidi-Ouahrani, N.; Rahmani, B.; Benhamouche, N.; Al-Farsi, H.M.; Giske, C.G. High-risk clones of extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolated from the University Hospital Establishment of Oran, Algeria (2011–2012). *PLoS ONE* **2021**, *16*, e0254805. [\[CrossRef\]](#)

73. Liu, C.; Guo, J.; Lu, M.; Shen, N.; Du, P. Dissemination of the mobilised RND efflux pump gene cluster *tmxCD-toprJ* among *Klebsiella pneumoniae*. *Lancet Microbe* **2023**, *4*, e135. [CrossRef]
74. Russo, T.A.; Marr, C.M. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *Clin. Microbiol. Rev.* **2019**, *32*, e00001-19. [CrossRef] [PubMed]
75. Al Ismail, D.; Campos-Madueno, E.I.; Donà, V.; Endimiani, A. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* (hvKP): Overview, Epidemiology, and Laboratory Detection. *Pathog. Immun.* **2025**, *10*, 80–119. [CrossRef] [PubMed]
76. Li, W.; Sun, G.; Yu, Y.; Li, N.; Chen, M.; Jin, R.; Jiao, Y.; Wu, H. Increasing occurrence of antimicrobial-resistant hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae* isolates in China. *Clin. Infect. Dis.* **2014**, *58*, 225–232. [CrossRef]
77. Russo, T.A.; MacDonald, U. The *Galleria mellonella* Infection Model Does Not Accurately Differentiate between Hypervirulent and Classical *Klebsiella pneumoniae*. *mSphere* **2020**, *5*, e00850-19. [CrossRef]
78. Russo, T.A.; Alvarado, C.L.; Davies, C.J.; Drayer, Z.J.; Carlino-MacDonald, U.; Hutson, A.; Luo, T.L.; Martin, M.J.; Corey, B.W.; Moser, K.A.; et al. Differentiation of hypervirulent and classical *Klebsiella pneumoniae* with acquired drug resistance. *mBio* **2024**, *15*, e0286723. [CrossRef] [PubMed]
79. Tang, Y.; Du, P.; Du, C.; Yang, P.; Shen, N.; Russo, T.A.; Liu, C. Genomically defined hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* contributed to early-onset increased mortality. *Nat. Commun.* **2025**, *16*, 2096. [CrossRef]
80. European Centre for Disease Prevention and Control. *Emergence of Hypervirulent Klebsiella pneumoniae ST23 Carrying Carbapenemase Genes in EU/EEA Countries, First Update*; ECDC: Stockholm, Sweden, 2024; ISBN 978-92-9498-691-7. [CrossRef]
81. Institut Pasteur d'Algérie. *Surveillance de la Résistance des Bactéries Aux Antibiotiques; 23ème Rapport D'évaluation 2023*; Algerian Antimicrobial Resistance Network: Algiers, Algeria, 2023.
82. Bialek-Davenet, S.; Criscuolo, A.; Ailloud, F.; Passet, V.; Nicolas-Chanoine, M.H.; Decré, D.; Brisse, S. Development of a multiplex PCR assay for identification of *Klebsiella pneumoniae* hypervirulent clones of capsular serotype K2. *J. Med. Microbiol.* **2014**, *63 Pt 12*, 1608–1614. [CrossRef] [PubMed]
83. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Clinical Breakpoints. 2025. Available online: https://www.eucast.org/clinical_breakpoints (accessed on 10 January 2025).
84. CLSI Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*; CLSI Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA, USA, 2024.
85. García-Meniño, I.; García, V.; Alonso, M.P.; Blanco, J.E.; Blanco, J.; Mora, A. Clones of enterotoxigenic and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* implicated in swine enteric colibacillosis in Spain and rates of antibiotic resistance. *Vet. Microbiol.* **2021**, *252*, 108924. [CrossRef] [PubMed]
86. Poirel, L.; Walsh, T.R.; Cuvillier, V.; Nordmann, P. Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **2011**, *70*, 119–123. [CrossRef] [PubMed]
87. Mora, A.; Viso, S.; López, C.; Alonso, M.P.; García-Garrote, F.; Dabhi, G.; Mamani, R.; Herrera, A.; Marzoa, J.; Blanco, M.; et al. Poultry as reservoir for extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* O45:K1:H7-B2-ST95 in humans. *Vet Microbiol.* **2013**, *167*, 506–512. [CrossRef]
88. Saladin, M.; Cao, V.T.; Lambert, T.; Donay, J.L.; Herrmann, J.L.; Ould-Hocine, Z.; Verdet, C.; Delisle, F.; Philippon, A.; Arlet, G. Diversity of CTX-M beta-lactamases and their promoter regions from Enterobacteriaceae isolated in three Parisian hospitals. *FEMS Microbiol. Lett.* **2002**, *209*, 161–168. [CrossRef] [PubMed]
89. Simarro, E.; Navarro, F.; Ruiz, J.; Miró, E.; Gómez, J.; Mirelis, B. *Salmonella enterica* serovar *virchow* with CTX-M-like beta-lactamase in Spain. *J. Clin. Microbiol.* **2000**, *38*, 4676–4678. [CrossRef] [PubMed]
90. García-Meniño, I.; García, V.; Mora, A.; Díaz-Jiménez, D.; Flament-Simon, S.C.; Alonso, M.P.; Blanco, J.E.; Blanco, M.; Blanco, J. Swine enteric colibacillosis in Spain: Pathogenic potential of *mcr-1* ST10 and ST131 *E. coli* isolates. *Front. Microbiol.* **2018**, *9*, 2659. [CrossRef]
91. Pérez-Pérez, F.J.; Hanson, N.D. Detection of plasmid-mediated AmpC beta-lactamase genes in clinical isolates by using multiplex PCR. *J. Clin. Microbiol.* **2002**, *40*, 2153–2162. [CrossRef]
92. Rebelo, A.R.; Bortolaia, V.; Kjeldgaard, J.S.; Pedersen, S.K.; Leekitcharoenphon, P.; Hansen, I.M.; Guerra, B.; Malorny, B.; Borowiak, M.; Hammerl, J.A.; et al. Multiplex PCR for detection of plasmid-mediated colistin resistance determinants, *mcr-1*, *mcr-2*, *mcr-3*, *mcr-4* and *mcr-5* for surveillance purposes. *Euro Surveill.* **2018**, *23*, 17-00672. [CrossRef]
93. Borowiak, M.; Fischer, J.; Hammerl, J.A.; Hendriksen, R.S.; Szabo, I.; Malorny, B. Identification of a novel transposon-associated phosphoethanolamine transferase gene, *mcr-5*, conferring colistin resistance in d-tartrate fermenting *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Paratyphi B. *J. Antimicrob. Chemother.* **2017**, *72*, 3317–3324. [CrossRef] [PubMed]
94. Le Bouguenec, C.; Archambaud, M.; Labigne, A. Rapid and specific detection of the *pap*, *afa*, and *sfa* adhesin-encoding operons in uropathogenic *Escherichia coli* strains by polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.* **1992**, *30*, 1189–1193. [CrossRef]
95. Lescat, M.; Clermont, O.; Woerther, P.L.; Glodt, J.; Dion, S.; Skurnik, D.; Djossou, F.; Dupont, C.; Perroz, G.; Picard, B.; et al. Commensal *Escherichia coli* strains in Guiana reveal a high genetic diversity with host-dependant population structure. *Environ. Microbiol. Rep.* **2013**, *5*, 49–57. [CrossRef] [PubMed]

96. Mora, A.; Herrrera, A.; Lopez, C.; Dahbi, G.; Mamani, R.; Pita, J.M.; Alonso, M.P.; Llovo, J.; Bernardez, M.I.; Blanco, J.E.; et al. Characteristics of the Shiga-toxin-producing enteroaggregative *Escherichia coli* O104:H4 German outbreak strain and of STEC strains isolated in Spain. *Int. Microbiol.* **2011**, *4*, 121–141. [\[CrossRef\]](#)
97. Johnson, J.R.; Russo, T.A.; Tarr, P.I.; Carlino, U.; Bilge, S.S.; Vary, J.C.; Stell, A.L. Molecular epidemiological and phylogenetic associations of two novel putative virulence genes, *iha* and *iroN* (*E. coli*), among *Escherichia coli* isolates from patients with urosepsis. *Infect. Immun.* **2000**, *68*, 3040–3047. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
98. Johnson, J.R.; Gajewski, A.; Lesse, A.J.; Russo, T.A. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* as a cause of invasive non urinary infections. *J. Clin. Microbiol.* **2003**, *41*, 5798–5802. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
99. Yamamoto, S.; Terai, A.; Yuri, K.; Kurazono, H.; Takeda, Y.; Yoshida, O. Detection of urovirulence factors in *Escherichia coli* by multiplex polymerase chain reaction. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* **1995**, *12*, 85–90. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
100. Tóth, I.; Héraul, F.; Beutin, L.; Oswald, E. Production of cytolethal distending toxins by pathogenic *Escherichia coli* strains isolated from human and animal sources: Establishment of the existence of a new *cdt* variant (Type IV). *J. Clin. Microbiol.* **2003**, *41*, 4285–4291. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
101. Moulin-Schouleur, M.; Schouleur, C.; Tailliez, P.; Kao, M.-R.; Brée, A.; Germon, P.; Oswald, E.; Mainil, J.; Blanco, M.; Blanco, J. Common virulence factors and genetic relationships between O18:K1:H7 *Escherichia coli* isolates of human and avian origin. *J. Clin. Microbiol.* **2006**, *44*, 3484–3492. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
102. Johnson, J.R.; O'Bryan, T.T. Detection of the *Escherichia coli* group 2 polysaccharide capsule synthesis Gene *kpsM* by a rapid and specific PCR-based assay. *J. Clin. Microbiol.* **2004**, *42*, 1773–1776. [\[CrossRef\]](#)
103. García, V.; García-Meniño, I.; Gómez, V.; Jiménez-Orellana, M.; Méndez, A.; Aguarón, A.; Roca, E.; Mora, A. Mobile colistin resistance (MCR), extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) and multidrug resistance monitoring in *Escherichia coli* (commensal and pathogenic) in pig farming: Need of harmonized guidelines and clinical breakpoints. *Front. Microbiol.* **2022**, *13*, 1042612. [\[CrossRef\]](#)
104. García-Meniño, I.; Díaz-Jiménez, D.; García, V.; de Toro, M.; Flament-Simon, S.C.; Blanco, J.; Mora, A. Genomic Characterization of Prevalent *mcr-1*, *mcr-4*, and *mcr-5* *Escherichia coli* Within Swine Enteric Colibacillosis in Spain. *Front. Microbiol.* **2019**, *10*, 2469. [\[CrossRef\]](#)
105. Bortolaia, V.; Kaas, R.S.; Ruppe, E.; Roberts, M.C.; Schwarz, S.; Cattoir, V.; Philippon, A.; Allesoe, R.L.; Rebelo, A.R.; Florensa, A.F.; et al. ResFinder 4.0 for predictions of phenotypes from genotypes. *J. Antimicrob. Chemother.* **2020**, *75*, 3491–3500. [\[CrossRef\]](#)
106. Clausen, P.T.L.C.; Aarestrup, F.M.; Lund, O. Rapid and precise alignment of raw reads against redundant databases with KMA. *BMC Bioinform.* **2018**, *19*, 307. [\[CrossRef\]](#)
107. Joensen, K.G.; Scheutz, F.; Lund, O.; Hasman, H.; Kaas, R.S.; Nielsen, E.M.; Aarestrup, F.M. Real-time whole-genome sequencing for routine typing, surveillance, and outbreak detection of verotoxigenic *Escherichia coli*. *J. Clin. Microbiol.* **2014**, *52*, 1501–1510. [\[CrossRef\]](#)
108. Malberg Tetzschner, A.M.; Johnson, J.R.; Johnston, B.D.; Lund, O.; Scheutz, F. Genotyping of *Escherichia coli* Isolates for Extraintestinal Virulence Genes by Use of Whole-Genome Sequencing Data. *J. Clin. Microbiol.* **2020**, *58*, e01269–20. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
109. Carattoli, A.; Zankari, E.; Garcia-Fernandez, A.; Voldby Larsen, M.; Lund, O.; Villa, L.; Aarestrup, F.M.; Hasman, H. In silico detection and typing of plasmids using PlasmidFinder and plasmid multilocus sequence typing. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2014**, *58*, 3895–3903. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
110. Roer, L.; Johannesen, T.B.; Hansen, F.; Stegger, M.; Tchesnokova, V.; Sokurenko, E.; Garibay, N.; Allesoe, R.; Thomsen, M.C.F.; Lund, O.; et al. CHTyper, a Web Tool for Subtyping of Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* Based on the *fimC* and *fimH* alleles. *J. Clin. Microbiol.* **2018**, *56*, e00063–18. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
111. Joensen, K.G.; Tetzschner, A.M.; Iguchi, A.; Aarestrup, F.M.; Scheutz, F. Rapid and Easy In Silico Serotyping of *Escherichia coli* Isolates by Use of Whole-Genome Sequencing Data. *J. Clin. Microbiol.* **2015**, *53*, 2410–2426. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
112. Wirth, T.; Falush, D.; Lan, R.; Colles, F.; Mensa, P.; Wieler, L.H.; Karch, H.; Reeves, P.R.; Maiden, M.C.J.; Ochman, H.; et al. Sex and virulence in *Escherichia coli*: An evolutionary perspective. *Mol. Microbiol.* **2006**, *60*, 1136–1151. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
113. Zhou, Z.; Alikhan, N.F.; Mohamed, K.; Fan, Y.; Achtman, M. The Enterobase user's guide, with case studies on Salmonella transmissions, *Yersinia pestis* phylogeny, and *Escherichia* core genomic diversity. *Genome Res.* **2020**, *30*, 138–152. [\[CrossRef\]](#)
114. Kaas, R.S.; Leekitcharoenphon, P.; Aarestrup, F.M.; Lund, O. Solving the problem of comparing whole bacterial genomes across different sequencing platforms. *PLoS ONE* **2014**, *9*, e104984. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

Annexe 02: Profiles electrophorétiques

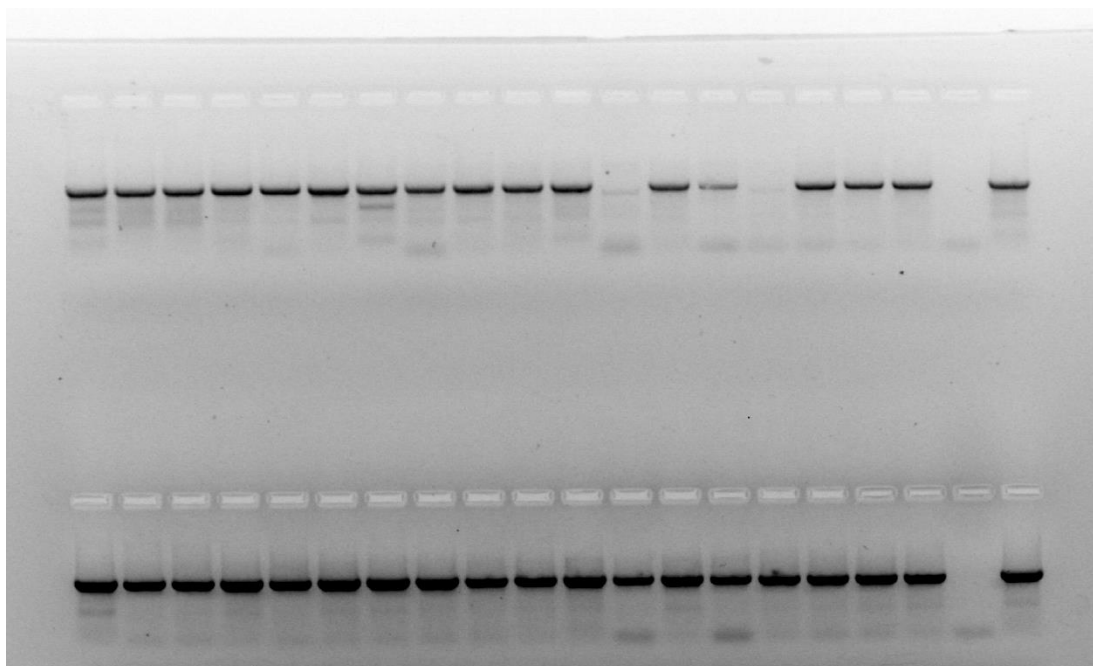


Figure 01: CTX-M groupe 01 (36 bandes positives)

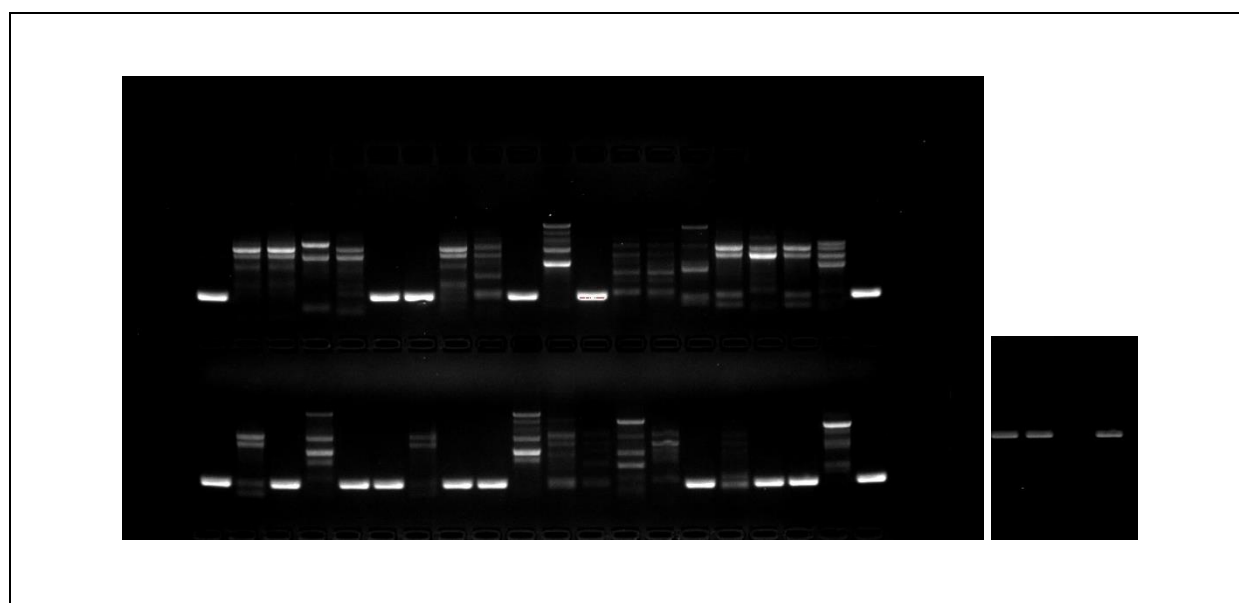


Figure 02: le gène de O25b

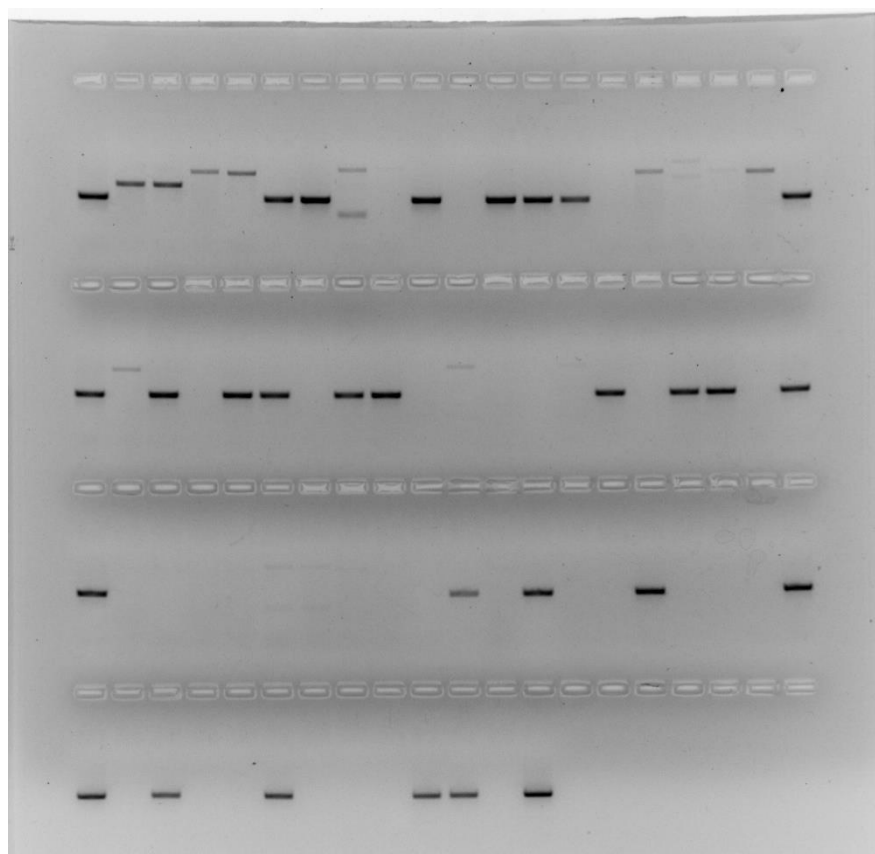


Figure 03: le gène de H4

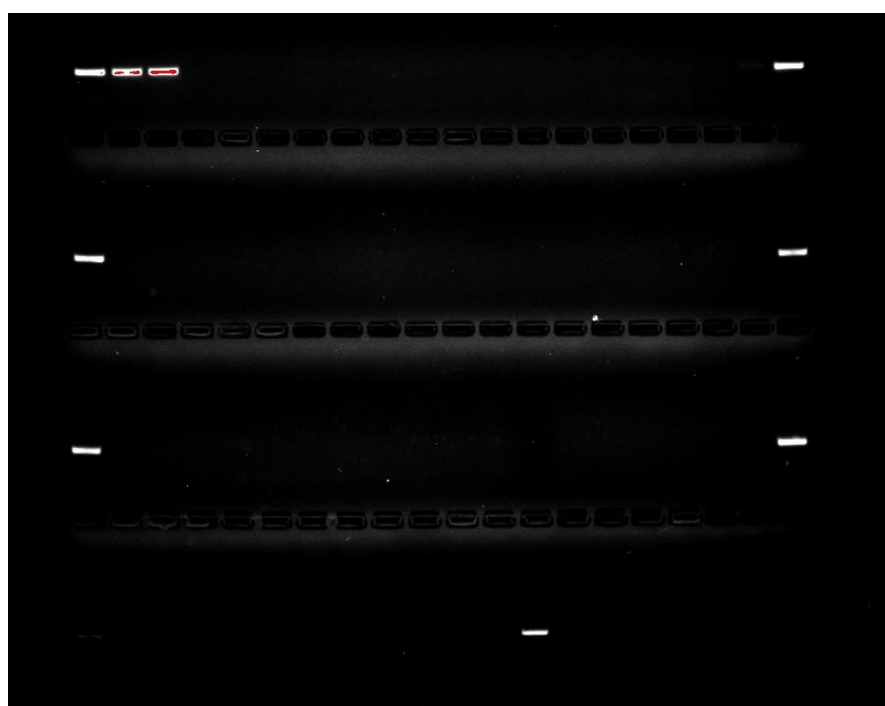


Figure 04: le gène de H5

Annexe 03: Analyse les données in silico

Virulence genes for <i>Escherichia coli</i>						
Virulence factor	Identity	Query / Template length	Contig	Position in contig	Protein function	Accession number
AslA	99.82	1656 / 1656	NODE_6_length_78427_cov_56.545666	40182..41837		CP022686
chuA	99.9	1983 / 1983	NODE_161_length_44881_cov_55.848000	219772..221754	Outer membrane hemin receptor	UGAO01000001
csgA	91.5	459 / 456	NODE_151_length_979146_cov_57.620941	247655..248113	curlin major subunit CsgA	CP069646
fdeC	91.06	4217 / 4254	NODE_57_length_157117_cov_58.632923	129932..134145	intimin-like adhesin FdeC	AP010953
fimH	100	489 / 489	NODE_87_length_376746_cov_58.413494	314152..314640	Type 1 fimbriae	NA
fimH	100	489 / 489	NODE_87_length_376746_cov_58.413494	314152..314640	Type 1 fimbriae	NA
fyuA	100	2022 / 2022	NODE_5_length_758437_cov_57.167538	652227..654248	Siderophore receptor	CAY233333
iha	100	2091 / 2091	NODE_135_length_8539_cov_57.106552	5334..7424	Adherence protein	CP003034
irp2	99.97	6123 / 6123	NODE_5_length_758437_cov_57.167538	667421..673542	High molecular weight protein 2 non-ribosomal peptide synthetase	NZ_MOYQ01000006
irp2	99.97	6123 / 6123	NODE_5_length_758437_cov_57.167538	667421..673542	High molecular weight protein 2 non-ribosomal peptide synthetase	NZ_NNYS01000020
iucC	100	1743 / 1743	NODE_72_length_23821_cov_57.934998	13025..14767	Aerobactin synthetase	CP003034

iutA	99.95	2202 / 2202	NODE_72_length_23821_cov_57.934998	16123..18324	Ferric aerobactin receptor	CP003034
kpsE	100	1149 / 1149	NODE_11_length_353879_cov_56.842865	350420..351568	Capsule polysaccharide export inner-membrane protein	CP003034
kpsMI_K1	100	777 / 777	NODE_11_length_353879_cov_56.842865	336626..337402	Polysialic acid transport protein; Group 2 capsule	UWVJ01000006_UWVJ01000000
neuC	100	1176 / 1176	NODE_11_length_353879_cov_56.842865	341021..342196	Polysialic acid capsule biosynthesis protein	ADUG01000366
nlpI	99.89	885 / 885	NODE_11_length_353879_cov_56.842865	112833..113717	lipoprotein NlpI precursor	CP000243
ompT	100	954 / 954	NODE_151_length_979146_cov_57.620941	766854..767807	Outer membrane protease (protein protease 7)	CP030111
papA_F43	99.08	543 / 564	NODE_72_length_23821_cov_57.934998	129..670	Major pilin subunit F43	JNMC01000043
sat	99.92	3889 / 3888	NODE_72_length_23821_cov_57.934998	19271..23159	serine protease autotransporters of Enterobacteriaceae (SPATE)	CP001671
shiA	99.33	1044 / 1044	NODE_161_length_448881_cov_55.848000	424816..425859	homologs of the Shigella flexneri SHI-2 pathogenicity island gene shiA	CP058222
sitA	99.78	915 / 915	NODE_151_length_979146_cov_57.620941	143340..144254	Iron transport protein	CYGJ01000009
terC	99.58	714 / 714	NODE_4_length_388106_cov_58.357498	261056..261769	Tellurium ion resistance protein	CP000468

terC	99.9	966 / 966	NODE_11_length_35387 9_cov_56.842865	185414.. 186379	Tellurium ion resistance protein	MG591698
tia	99.8 7	756 / 756	NODE_161_length_4488 81_cov_55.848000	427979.. 428734	Tia Invasion determina nt	DQ095216
usp	99.7 1	1041 / 1041	NODE_87_length_37674 6_cov_58.413494	103174.. 104214	Uropathog enic specific protein	AB056435
vat	99.69	4132 / 4131	NODE_57_length_157117_cov_58. 632923	106093..110 224	serine protease autotransporter s of Enterobacteria ceae (SPATE)	AE014075
vat	99.69	4132 / 4131	NODE_57_length_157117_cov_58. 632923	106093..110 224	serine protease autotransporter s of Enterobacteria ceae (SPATE)	X16664
yehA	97.68	1035 / 1035	NODE_5_length_758437_cov_57.1 67538	503091..504 125	Outer membrane lipoprotein, YHD fimbriael cluster	CP042934
yehB	96.57	2481 / 2481	NODE_5_length_758437_cov_57.1 67538	500595..503 075	Usher, YHD fimbriael cluster	CP042934
yehC	96.44	675 / 675	NODE_5_length_758437_cov_57.1 67538	499905..500 579	Chaperone, YHD fimbriael cluster	CP042934
yehD	95.21	543 / 543	NODE_5_length_758437_cov_57.1 67538	499282..499 824	Major pilin subunit, YHD fimbriael cluster	CP042934
yfcV	99.65	567 / 567	NODE_5_length_758437_cov_57.1 67538	245297..245 863	Fimbrial protein	UGFJ01000003

Tableau 02: Serotyper FinderDatabase(s): *H_type, O_type*

Database for H type genes						
Gene	Serotype	Identity	Template / HSP length	Contig	Position in contig	Accession number
fliC	H5	98.93	1311 / 1311	NODE_5_length_758437_cov_57.167538	755140..756450	AY249990

Database for O type genes						
Gene	Serotype	Identity	Template / HSP length	Contig	Position in contig	Accession number
wzy	O75	98.32	1074 / 1074	NODE_5_length_758437_cov_57.167538	580646..581719	GU299795

wz x	O75	97.98	1533 / 1533	NODE_5_length_758437_cov_ 57.167538	586605..588 137	<u>GU2997</u> <u>95</u>
---------	-----	-------	----------------	--	--------------------	----------------------------

Tableau 03: Resultats du MLST pour Sequence Type: 1193

Locus	Identity	Coverage	Alignment Length	Allele Length	Gaps	Allele
adk	100	100	536	536	0	adk_14
fumC	100	100	469	469	0	fumC_14
gyrB	100	100	460	460	0	gyrB_10
icd	100	100	518	518	0	icd_200
mdh	100	100	452	452	0	mdh_17
purA	100	100	478	478	0	purA_7
recA	100	100	510	510	0	recA_10

Tableau 04 : Détection de gènes de résistance aux antibiotiques par génomique fonctionnelle (ResFinderFG)

Gène (Hit name)	Identité (%)	Longueur alignement	Contig	Position	Antibiotique ciblé (Drug)	Accession
van_ligase	100.00	921/921	NODE_87	123761..124681	D-cycloserine	KF626928.1
beta_lactamase	100.00	1134/1134	NODE_7	124095..125228	Aztreonam	KJ910926.1
Cat	100.00	633/442	NODE_23	131..572	Chloramphénicol	KU544029.1
AAC (aminoglycoside acetyltransferase)	100.00	600/572	NODE_23	1671..2242	Amikacine	GQ342986.1
Dfr	98.82	591/591	NODE_87	176386..176976	Cotrimoxazole	KX126573.1
...	...	...	...	...	...	...