



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA

RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université Larbi Ben M'Hidi Oum El Bouaghi

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences de la Nature et de la vie

THESE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de

DOCTORAT

Filière : Biotechnologie

OPTION : Biotechnologie Microbienne

Thème :

**Caractérisation de la résistance aux antibiotiques des
souches bactériennes isolées de plusieurs biotopes**

Présentée par : **RAHMANI AMINA**

Directrice de thèse : Pr. Meradi Laarem Université. Larbi ben M'Hidi, Oum El Bouaghi

Président : ARHAB R. Pr. Univ. Larbi Ben M'Hidi, Oum EL Bouaghi

Examinatrice : BENSLAMA O. MCA. Univ. Larbi Ben M'Hidi, Oum EL Bouaghi

Examinatrice : ZERIZER H. MCA. Univ. Les Frères Mentouri-Constantine 1

Examinatrice : BENSERRADJ. O MCA. Univ. Abdelhafid Boussouf, Mila

Année universitaire : 2022-2023

Remerciements

*Tout d'abord, je remercie le Dieu tout puissant de m'avoir
donné le courage et la patience de terminer ce travail.*

Je tiens à remercier vivement ma chère promotrice Madame

MERADI LAAREM pour ses écoutes, aides, ses

Conseils précieux et encore pour sa patience. Merci infiniment

*Je tiens à remercier également les membres du jury dont Pr Arhab Rabah, Dr
Benslama Ouided, Dr Zerizer Habiba, Benserradj Ouafa pour avoir*

accepté d'évaluer mon travail.

*Je remercie tous les membres du Centre National de Recherche (CNR) sur la
Résistance des Entérobactéries de Clermont-Ferrand (France) et surtout mes
oncles Djamel Rahmani et Amar Rahmani, pour leur précieuse aide dans
l'étude moléculaire ; ainsi que dr. Khennouchi Nour Chems El Houda.... Et à
tous mes chers professeurs et chercheurs que j'ai pu rencontrer pendant mon
parcours de recherche et qui m'ont donné leur soutien*

*Enfin, je remercie ma famille, mes proches, mes amis et tous ceux qui m'ont
aidé de près ou de loin*

à la réalisation de cette Thèse

Dédicaces

A mes chers parents

A mon adorable grand frère

A mon très cher Amir et A ma sœur Majdouline et

Aux autres membres de ma famille et mes Amies

Je dédie ce mémoire

Table des matières

Introduction.....	1
Revue bibliographique	4

Chapitre I : Les Antibiotiques

I Définition.....	4
II Caractéristiques et classification	4
1. Par l'origine de leur production.....	4
2. Par leur nature chimique	4
3. D'après l'importance de leur utilisation en thérapeutique	4
4. Suivant leur effet sur les bactéries	4
5. Suivant leur mécanisme d'action.....	5
6. Selon leur famille.....	5
6.1 Les antibiotiques à large spectre	5
6.2 La famille des β -Lactamines	5
6.3 Les antibiotiques à spectre sélectif.....	6
III Principales familles d'antibiotiques et leurs cibles	7
1. Famille des β -lactamines	9
1.1 Les pénicillines.....	9
1.2 Céphalosporines	9
1.3 Carbapénèmes	9
1.4 Monobactames.....	10
IV Types de résistance aux antibiotiques	11
1. La résistance naturelle.....	11
2. La résistance acquise.....	12
2.1 Mutations chromosomiques	12
2.2 Hypermutation.....	13
2.3 Le transfert horizontal d'un matériel génétique exogène	13
2.3.1 La transduction	14

Table des matières

2.3.2 La conjugaison.....	14
2.3.3 La transformation et compétence naturelle	14
2.4 Par des éléments génétiques mobiles.....	14
2.4.1 Les plasmides	14
2.4.2 Les éléments transposables	15
2.4.3 Les transposons	15
2.4.4 Les intégrons	15
3. Résistance croisée	17
4. Multirésistance et autres types de résistance	17
V Mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	17
1. Réduction de la perméabilité membranaire	18
2. Modification du site cible.....	19
3. Efflux ou transport de l'antibiotique	20
4. L'inactivation des antibiotiques.....	21
Chapitre II : Généralités et résistance aux antibiotiques chez les bactéries	
1 La résistance aux antibiotiques chez les Gram positives	28
1.1. Staphylococoques	28
A. Généralités	28
B. Pouvoir pathogène et virulence.....	28
C. Gènes de résistance aux antibiotiques chez <i>S. aureus</i>	30
C.1 Résistance aux β -lactamines	33
C.2 Résistance à la vancomycine.....	33
C.3 Résistance aux macrolides	33
C.4 Résistance à la tétracycline	33
1.1.2 <i>Staphylococcus</i> à Coagulase Négative (SCoN).....	33
A. Résistance à la méthicilline et aux quinolones	34
B. Résistance aux quinolones.....	34

Table des matières

C. Résistance aux aminoglycosides	34
D. Résistance aux macrolides, lincosamides et streptogramin (MLS)	35
2. La résistance aux antibiotiques chez les Gram négatives	35
I.2.1 La résistance aux β -lactamines	37
I.2.1.1 Les β -lactamases	37
I.2.1.2 β -lactamases AmpC.....	38
I.2.1.3 Carbapénémase.....	38
I.2.2 Résistance aux quinolones/fluoroquinolones.....	39
I.2.3 Résistance aux aminoglycosides	39
I.2.4 Résistance aux polymixines	40
I.2.5 Résistance aux tétracyclines	40
I.2.6 La résistance aux macrolides, lincosamides, streptogramines (MLS)	41

Chapitre III : La transmission de la résistance aux antibiotiques

I. De l'animal à l'homme	46
II. De l'environnement à l'homme	47
III. Les facteurs influençant la résistance bactérienne.....	50

Matériel et méthodes

Partie I : caractérisation phénotypique du profil d'antibiorésistance des souches <i>Escherichia coli</i> isolées à partir de différentes origines	51
I. Technique de prélèvement.....	51
I.1 Alimentaire	51
I.2 Clinique	51
II. Isolement et purification des souches	52
III. Identification des souches	52
IV. Conservation des souches	53
V. Test de sensibilité aux antibiotiques	53
IV.1. Détection phénotypique de la production de BLSE.....	54

Table des matières

V. Analyse statistique	55
Partie II : caractérisation phénotypique de la résistance aux antibiotiques des souches de <i>Staphylococcus spp</i> d'origine clinique.....	56
I. Sources des échantillons cliniques	56
II. Isolement des souches de staphylocoques.....	56
III. Identification des souches	56
IV. Tests de sensibilité aux antibiotiques	56
V. Analyse statistique	57
Partie III : caractérisation moléculaire du génome entier des souches cliniques multirésistantes de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	58
I. Sélection des souches	58
II. Identification des souches	58
II.1. Principe de la spectrométrie de masse (MALDI-TOF MS)	58
II.2. Technique de la spectrométrie de masse	58
III. Séquençage de l'ADN	59
III.1. Extraction d'ADN	59
III.2 Technique de séquençage Nextera XT, illumina	59
III.2.1 Préparation de la librairie	60
III.2.2. Génération de clusters	60
III.2.3. Séquençage.....	60
III.2.4. Analyse des données	60
IV.3 Technique centrifuge.....	62
IV.3.1 Compression de séquences de bases de données	62
IV.3.2 Classification basée sur l'index FM	63
IV.3.3 Analyse d'abondance	63
V. Annotation des gènes	63
IV.1 Technique Multi Locus Sequence Type (Charpentier, 2016)	64

Résultats et discussion

Table des matières

Partie I: caractérisation phénotypique du profil d'antibiorésistance des souches <i>Escherichia coli</i> isolées à partir de différentes origines	66
I. Fréquence d'isolement des souches	66
II. Test de sensibilité aux antibiotiques	66
III. Production de BLSE	70
IV. Analyse statistique.....	71
Partie II : caractérisation phénotypique de la résistance aux antibiotiques des souches de <i>Staphylococcus spp</i> d'origine clinique	73
I. Fréquence d'isolement des staphylocoques.....	73
I.1 Selon le sexe des patients	74
I.2 Selon l'âge des patients.....	74
II. Test de sensibilité aux antibiotiques	75
Partie III : caractérisation moléculaire du génome entier des souches cliniques multirésistantes de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	81
II. Gènes codants pour la résistance aux antibiotiques.....	82

Conclusion et perspectives

Références bibliographiques

Résumés

Annexes

Publications scientifiques

Liste des abréviations

- Aac-(6')-Ib-cr** : Aminoside *N*acétyltransférase
- ADN** : Acide Désoxyribonucléique
- AmpC** : Bêta-lactamase chromosomique.
- API 20 E** : Analytical profile index 20E (E= Entérobactéries).
- BLSE** : Bêta -lactamase à spectre étendu
- CA-SFM** : Comité d'antibiogramme- société française de microbiologie.
- CTX-M** : Résistance au céfotaxime, first isolated at Munich
- ddNTP** : Didésoxyribonucléotide
- ddNTP** : Didésoxyribonucléotide
- IMI** : Imipenem-hydrolyzing bêta-lactamase.
- IMP** : Résistance acquise à l'imipénème.
- IS** : Séquences d'insertion
- MALDI-TOF-MS** : Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionisation- Time-Of-Flight- Mass Spectrometry.
- MLST** : Multilocus sequence typing.
- NaCl** : Chlorure de sodium.
- NDM** : New Delhi metallo bêta-lactamase.
- Omp** : Outer Membrane Protein.
- OXA** : Oxacillinases.
- parC** : Topoisomérase IV.
- Pb** : Paire de bases.
- PLP** : Protéines liant la pénicilline.
- PMQR** : Plasmid mediated quinolone resistance.
- pyrG** : Pyrimidine biosynthesis.
- qnr** : Quinolone resistance gene.
- QRDR** : Quinolone Resistance Determining Region
- SARM** : *Staphylococcus aureus* résistante à la méthicilline
- SHV** : Sulfi-Hydroxile Variable Sulfhydryl reagent variable.
- Spp** : Espèces.
- ST** : Séquence type.
- TEM** : Nom du malade (Temoniera).
- VIM** : Verona integron-encoded metallo-bêta-lactamase
- VP**: Test de Voges-Proskauer.

Liste des figures

Figure N°	Titre	Page
01	Cibles des principales familles d'antibiotiques	10
02	Mode d'action des différents antibiotiques	11
03	Les principaux phénomènes du transfert horizontal de gènes	14
04	Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques dans une bactérie GRAM négative,	41
05	Cycle de la transmission de la résistance aux antibiotiques	49
06	Schéma récapitulatif des différentes étapes d'un ECBU	52
07	Illustrant les quatre étapes de vNext-Generation sequencing (NGS) d'Illumina	61
08	Production de BLSE chez les souches d' <i>E. coli</i> d'origine clinique	70
09	Arbre phylogénétique par multilocus sequence typing (MLST) des souches cliniques de <i>K. pneumoniae</i> multirésistantes	81
10	Interprétation des résultats de la galerie biochimique API 20E	150
11	Culture d' <i>E. coli</i> sur milieu Hektoen (a)	151
12	Observation microscopique d' <i>E. coli</i> lors de la détermination du Gram (X100).	151
13	Identification biochimiques des souches <i>E. coli</i> par galerie API 20E	151
14	Culture de <i>Staphylococcus</i> à coagulase négative sur milieu Chapman (A)	152
15	Culture de <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive sur milieu Chapman (B)	152

Liste des tableaux

Tableau N°	Titre	Page
01	Principales familles d'antibiotiques et leurs cibles	08
02	Le mode d'action des agents antimicrobiens les plus utilisés	10
03	Caractéristiques des différents éléments génétiques impliqués dans la dispersion des gènes de résistance	17
04	La classification des β -lactamases	25
05	Les fonctions des sept gènes de ménages utilisés en MLST	65
06	Profil de sensibilité aux antibiotiques des <i>E. coli</i> d'origine clinique et alimentaire par la méthode de diffusion des disques.	67
07	Distribution des <i>E. coli</i> productrice de BLSE selon deux origines (viande de bœuf crue et infection urinaire)	70
08	Comparaison des <i>E. coli</i> d'origine alimentaire et clinique en fonction de leur profil de résistance aux antibiotiques par le test du chi-carré	72
09	Prévalence de <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>S. epidermidis</i> selon les types d'échantillons	73
10	Distribution de <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Staphylococcus epidermidis</i> selon le sexe	74
11	Distribution de <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Staphylococcus epidermidis</i> selon les groupes d'âge	74
12	Comparaison des profils de sensibilité aux antibiotiques de <i>Staphylococcus aureus</i> et de <i>Staphylococcus epidermidis</i> à l'aide du test du Chi-carré.	76
13	Phénotype des souches de <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Staphylococcus epidermidis</i> multirésistantes (MR)	78
14	Souches multirésistantes à plusieurs familles d'antibiotiques	79
15	Résistance à la méthicilline et profil de multirésistance de <i>S. aureus</i> et <i>S. epidermidis</i> selon les types d'échantillons.	80
16	Gènes codant à la résistance aux antibiotiques identifiés chez les souches cliniques de <i>K. pneumoniae</i> .	83

Introduction

Introduction

De 1945 à 1955, le développement de la pénicilline, produite par un champignon *Penicillium notatum* a inauguré le 1^{er} antibiotique, ensuite plusieurs familles d'antibiotiques ont été découvertes et ont joué un rôle crucial dans la lutte contre de nombreuses maladies infectieuses (Jon et *al.*, 2009). Lorsque les micro-organismes sont exposés aux médicaments antimicrobiens (tels que les antibiotiques, les antifongiques et les antiviraux), ils réagissent et développent une résistance (Giedraitiene et *al.*, 2011 ; Perry et *al.*, 2016), qui est désormais reconnue comme l'une des dix principales menaces pour la santé mondiale (Bryce et *al.*, 2016 ; Bhoomika et *al.*, 2016) en médecine humaine et vétérinaire (Jacoby, 2009). L'émergence de la résistance aux antibiotiques a entraîné une augmentation de la mortalité, des coûts de traitement et des pertes de production chez les animaux (Walker et Fowler, 2011).

Les responsables mondiaux de la santé ont décrit les micro-organismes résistants aux antibiotiques comme des "bactéries cauchemardesques" qui constituent une menace catastrophique pour les populations de tous les pays du monde, cette émergence de bactéries résistantes aux antibiotiques les plus couramment utilisés, a nécessité l'utilisation d'antibiotiques et de médicaments plus puissants et d'une thérapie plus coûteuse (Wang et *al.*, 2012).

L'identification des bactéries responsables d'infections et de leurs profils de sensibilité aux antimicrobiens est essentielle pour établir le traitement adéquat (Bertino et *al.*, 2009 ; Arama, 2020). Ainsi, la prévalence des bactéries Gram négatives et Gram positives multirésistantes (BMR), en particulier celles qui sont résistantes aux β -lactamines et aux fluoroquinolones, est en augmentation dans le monde entier car ces antibiotiques sont des choix thérapeutiques importants pour traiter les infections causées surtout par les membres de la famille des entérobactéries et des staphylocoques chez l'homme et les animaux (Bush, 2010).

Escherichia coli et *Klebsiella pneumoniae* font parties des principales espèces Gram négatives qui sont fréquemment isolées en milieu clinique et présentant de multiples phénotypes de résistance aux antibiotiques (Sáenz et *al.*, 2004). Plusieurs études suggèrent qu'*E. coli* responsable d'infections urinaires communautaires est capable de se transmettre à partir d'un aliment (ex : la viande crue) à l'homme (Johnson et *al.*, 2017 ; Hawthorn et *al.*, 2018). Comme ces bactéries sont également des habitants normaux du tractus intestinal de l'Homme et des animaux (Ben Said et *al.*, 2015a), ils sont considérés comme un indicateur

Introduction

représentatif de la résistance aux antimicrobiens des bactéries Gram négatives (Gregova et Kmet, 2020 ; Verraes et *al.*, 2013). Les isolats d'*E. coli* productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) et de bêta-lactamases à médiation plasmidique (pAmpC) sont passées de l'hôpital à l'environnement et à la communauté (Barguigua et *al.*, 2013), ces bactéries sont identifiées à partir de : la ferme, des animaux domestiques et sauvages, des aliments, des légumes et des eaux usées (Verraes et *al.*, 2013). Plusieurs études ont souligné leur distribution mondiale dans la production de poulets de chair (Carattoli, 2008 ; Smet et *al.*, 2008). Ainsi, la consommation de viande contaminée pose un risque potentiel pour la santé du consommateur (Vincent et *al.*, 2010 ; Leverstein-van Hall et *al.*, 2011), car le transfert de la résistance aux antibiotiques dans le tractus gastro-intestinal est possible, et il pourrait être une source importante de résistance dans la flore fécale (Johnson et *al.*, 2007).

En plus, *Klebsiella pneumoniae* fait partie des bactéries Gram négatives provoquant des infections graves, notamment des abcès hépatiques, des pneumonies et des septicémies, par la production d'enzymes telles que les BLSE ou pAmpC, qui sont des enzymes couramment isolées des entérobactéries (Coque et *al.*, 2008). Les entérobactéries produisant ces enzymes sont fréquemment d'origine nosocomiale et communautaire (Padmini et *al.*, 2017). Les BLSE, pAmpC et les carbapénémases sont largement produites par des entérobactéries multirésistantes telles que les isolats de *Klebsiella spp.* Les gènes correspondants sont situés sur des plasmides et autres éléments génétiques mobiles (Carattoli, 2013). C'est alarmant car ces plasmides hébergent souvent des gènes codant pour la résistance à d'autres classes d'antibiotiques comme les aminoglycosides, le triméthoprime-sulfaméthoxazole, les fluoroquinolones, et peuvent se déplacer horizontalement entre les bactéries (McInnes et *al.*, 2020). En particulier chez *Klebsiella spp* qui est l'une des six bactéries résistantes aux antibiotiques qui a besoin d'urgence de nouveaux composés thérapeutiques (Ranjbar et *al.*, 2017).

Tandis que chez les bactéries Gram positives, les staphylocoques à coagulase négative (CoNS) étaient considérés comme des bactéries commensales cutanées inoffensives avant les années 1970 (Contreras et *al.*, 2003), mais les CoNS ont été reconnus comme des pathogènes opportunistes importants, notamment : *Staphylococcus epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. haemolyticus* et *S. bugdunensis* (Becker et *al.*, 2014). Alors que traditionnellement, les CoNS sont considérés comme moins pathogènes que les Staphylocoques à coagulase-positives (CoPS) (Fišarová et *al.*, 2019). Près de 30 % de la population humaine est colonisée de manière asymptomatique par *S. aureus* (Saleem et *al.*, 2018), ce germe constitue un grave

Introduction

problème de santé publique en raison de sa forte capacité de colonisation et pour son pouvoir de causer une grande variété d'infections suppuratives chez les humains (Bassetti et *al.*, 2017). Les maladies causées par *S. aureus* dépendent de l'immunité de l'hôte, de son âge, de sa flore normale et de sa consommation d'antibiotiques (Kandi, 2018). La prévalence de *S. aureus* résistant aux antimicrobiens est toujours croissante et a reçu beaucoup d'attention, au cours des dernières décennies (Castro et *al.*, 2016), La dissémination de la multirésistance chez *Staphylococcus spp* (Viridis et *al.*, 2010) et *S. aureus* résistant à la méthicilline (SARM) est un grave problème de santé (Castro et *al.*, 2016). *Staphylococcus aureus* a acquis une résistance à plusieurs familles d'antibiotiques, souvent détectée dans les hôpitaux et les communautés (John et *al.*, 2019). L'évaluation de la sensibilité aux antimicrobiens des isolats de *Staphylococcus spp* détermine quels antibiotiques doivent être administrés pour surveiller la propagation des souches résistantes dans la communauté (Morency-Potvin et *al.*, 2017).

L'objectif de cette étude est de réaliser une caractérisation phénotypique de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries et des staphylocoques isolées à partir de plusieurs origines (clinique et alimentaire); car en Algérie, la résistance aux antimicrobiens, en particulier chez *Escherichia coli*, staphylocoques *spp* et *Klebsiella pneumoniae* représente l'une des plus importantes menaces pour la santé humaine et animale ; et ainsi d'établir une caractérisation moléculaire du génome entier des souches multirésistantes.

*Revue
bibliographique*

Chapitre I : Les Antibiotiques

I. Définition

Les antibiotiques sont des substances produites par le métabolisme de certains microorganismes d'origine microbienne et sont capables d'inhiber spécifiquement la croissance d'autres microorganismes en jouant sur les mécanismes vitaux du germe empêchant ainsi la cellule de se diviser (bactériostatique) ou en tuant totalement le germe (bactéricide) (Guardabasse et Courvalin, 2006) et sont actuellement synthétisées chimiquement, en modifiant les antibiotiques naturels, dans le but de les rendre moins sensibles à l'inactivation par les micro-organismes (Avril et *al.*, 2000).

Ils sont utilisés pour traiter ou prévenir les maladies chez les humains et les animaux (Spellberg, 2011). Pour qu'il soit actif, un antibiotique doit pénétrer dans la bactérie, sans être détruit ni modifié, se fixer sur une cible et perturber la physiologie bactérienne (Ogawara, 1981).

II. Caractéristiques et classification

Les antibiotiques sont caractérisés par leur spectre d'activité, une toxicité sélective, activité en milieu organique, une bonne absorption et diffusion dans l'organisme. Azèle. (1983) a élaboré une classification détaillée des antibiotiques et a classé ces derniers de différentes manières :

1. Par l'origine de leur production et leur nature chimique

- Synthèse chimique totale.
- Production à partir d'un organisme vivant, extraction, purification, puis synthèse chimique sur un noyau servant de base.
- Production à partir d'un organisme vivant : bactéries (ex : les actinomycètes), levures, moisissures, champignons supérieurs.

2. D'après l'importance de leur utilisation en thérapeutique

Il y'a des antibiotiques très couramment utilisés (pénicillines, streptomycines, tétracyclines, sulfamides) et d'autres dont l'usage est plus limité.

3. Suivant leur effet sur les bactéries

Inhibition de la croissance ou destruction par lyse.

4. Suivant leur mécanisme d'action

Les différentes classes d'antibiotiques possédant des modes d'action spécifiques par lesquels ils inhibent la croissance ou tuent les bactéries. La figure 1 illustrée ci-dessous démontre les cibles des principales familles d'antibiotiques.

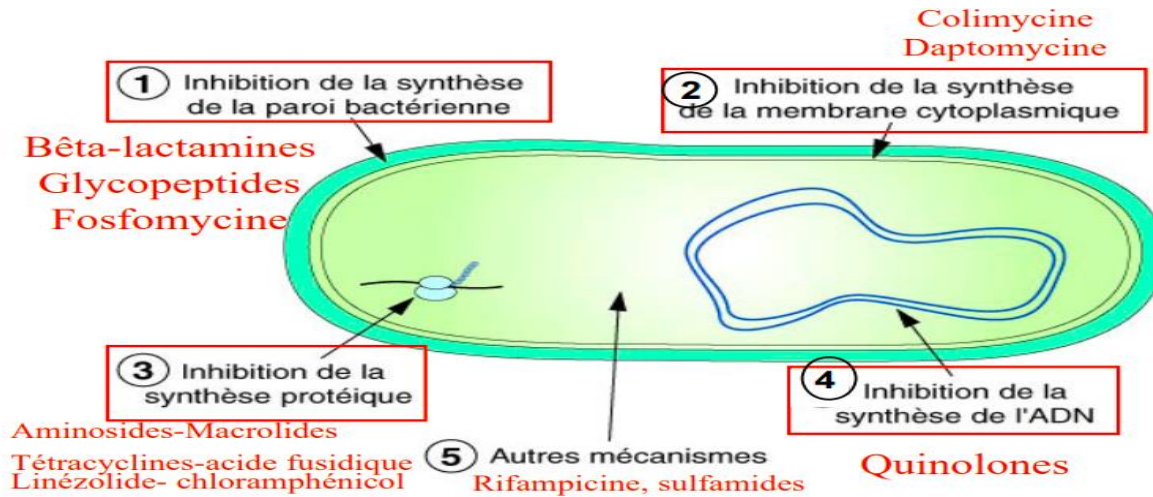


Figure 1. Cibles des principales familles d'antibiotiques (Mingeot-Leclercq, 1999).

5. Selon leur famille

5.1 Les antibiotiques à large spectre

Qui agissent sur un très grand nombre d'espèces bactériennes, les aminosides ou oligosaccharides (streptomycine, kanamycine, gentamycine, néomycine, framycétine, paromycine), les tétracyclines (tétracycline, oxytétracycline, chlortétracycline, déméthylchlorotétracycline, doxycycline, etc), chloramphénicol et ses dérivés (thiamphénicol), les sulfamides, les nitrofuranes, les dérivés modernes de la quinoléine.

5.2 La famille des β -Lactamines

C'est une famille très importante et elle comprend :

a- La pénicilline de Flemming ou pénicilline G ou Benzyl-pénicilline, ainsi que toutes les molécules s'en rapprochant. Ces composés n'agissent que sur les bactéries Gram positives. De plus, ils sont détruits par des enzymes produites par des bactéries (telles que les staphylocoques) : les pénicillinases.

b- Le groupe Méthicilline-oxacilline et ses dérivés, substances proches des précédentes mais insensibles à la pénicillinase.

c- Le groupe des pénicillines à large spectre (ampicilline) qui agissent aussi sur des bactéries Gram négatives, mais qui sont sensibles à la pénicillinase.

d- Les céphalosporines qui ont en commun avec les trois groupes précédents, le noyau beta-lactame, mais qui ont un spectre comparable au groupe c, et ne sont pas très sensibles à la pénicillinase.

5.3 Les antibiotiques à spectre sélectif

a- Les dérivés de l'acide isonicotinique : isoniazide, éthionamide. Ils ont une faible activité antibactérienne, mais agissent puissamment sur les mycobactéries dont le bacille tuberculeux.

b- Famille des macrolides. Ce sont des substances qui agissent sur les bactéries Gram positives et sur certaines parvobactéries Gram négatives : érythromycine, oléandomycine, spiramycine, kitasamycine, lincomycine.

c- Famille des synergistines (spectre voisin de celui de la famille précédente). Ce sont des antibiotiques composés d'un mélange de plusieurs substances voisines, dans des proportions assez précises qui augmentent l'action antibactérienne du produit complexe : pristinamycine, virginiamycine.

d- Famille des polymyxines (nature polypeptides cycliques). N'agissent que sur les bacilles Gram négatifs : colistine, polymyxine B.

e- Des antibiotiques divers n'ayant pas de parenté chimique entre eux mais dont le spectre se limite à peu près aux bactéries Gram positives : bacitracine, novobiocine, aide fusidique (structure stérolique), vancomycine, rifamycine

f- Des antibiotiques actifs uniquement sur les bactéries Gram négatives : acide nalidixique. Cependant d'autres classifications récentes se font selon quatre critères, dont premièrement selon l'origine de l'antibiotique qui peut être soit naturel (produit par le microorganisme) ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique). Deuxième critère c'est selon le mode d'action de l'antibiotique car il pourra agir sur la membrane cytoplasmique, paroi, synthèse des protéines ou des acides nucléiques. Troisième critère implique leur spectre d'activité (étroit ou large) et en dernier lieu leur nature chimique qui est très variable et basée souvent sur une structure de base (ex : cycle β lactame) elle nous permet aussi de classer les antibiotiques en familles (Yala et *al.*, 2001).

III. Principales familles d'antibiotiques et leurs cibles

Le tableau 1 illustre les principaux antibiotiques et leurs cibles (β -lactamines, aminoglycosides, tétracyclines, macrolides, quinolones, chloramphénicol, sulfamides et triméthoprimine) (Willey et *al.*, 2013).

Chapitre I : Les antibiotiques

Tableau 1 : principales familles d'antibiotiques et leurs cibles.

Familles d'antibiotiques	Définition
β-lactamines (Contiennent un cycle β -lactame)	Ces antibiotiques incluent les pénicillines, carbapénèmes, céphalosporines et monobactames, grâce à leur large spectre d'activité et leur faible toxicité, Ils sont les plus couramment utilisés mondialement pour traiter les infections bactériennes et sont actifs sur des bactéries en phase de croissance et agissent en inhibant la synthèse de la paroi bactérienne (synthèse du peptidoglycane) par inactivation des principales enzymes impliquées dans cette construction : les PLP (Protéines Liant les Pénicillines).
Aminoglycosides (Contiennent un cycle cyclohexane + sucres aminés)	Les premiers aminoglycosides découverts ont été des molécules naturelles produites par des souches de <i>Streptomyces</i> (streptomycine, néomycine, kanamycine, tobramycine) ou d' <i>Actinomyces</i> (gentamicine, sisomicine). Ces antibiotiques sont bactéricides et tendent à être plus actifs contre les bactéries pathogènes Gram négatives.
Tétracyclines	Ils ont une structure à quatre cycles sur lesquels sont fixées diverses chaînes latérales. Le genre <i>Streptomyces</i> produit naturellement l'oxytétracycline et la chlortétracycline. Ce sont des antibiotiques à large spectre, actifs contre les bactéries Gram négatives, Gram positives, rickettsies, chlamydias et les mycoplasmes.
Macrolides	Ils contiennent un cycle lactone de 14-16 porteur d'un ou de plusieurs sucres, ces antibiotiques ont un large spectre, efficaces contre les bactéries Gram positives, mycoplasmes et quelques bactéries Gram négatives, mais sont habituellement bactériostatiques.
Quinolones	Ce sont des antibiotiques synthétiques possédant un cycle 4-quinolone à large spectre actifs contre les bactéries entériques, ce sont des agents antimicrobiens importants, dont la première quinolone est l'acide nalidixique, depuis 1962 d'autres générations de fluoroquinolones sont apparues comme la ciprofloxacine, norfloxacine et l'ofloxacine.
Chloramphénicol	Il est initialement produit à partir de cultures de <i>Streptomyces venezuelae</i> , et maintenant produit par synthèse chimique, cet antibiotique a un très large spectre d'activité, mais malheureusement il est assez toxique.
Sulfamides	Ils ont une structure proche de la sulfanilamide, un analogue de l'acide <i>p</i> -aminobenzoïque (PABA), le PABA participe à la synthèse de l'acide folique, un cofacteur. Lorsque la sulfanilamide ou un autre sulfamide pénètre dans une cellule bactérienne, il entre en compétition avec le PABA pour le site actif d'une enzyme impliquée dans la synthèse de l'acide folique et la concentration en acide folique décroît, cette diminution est nuisible à la bactérie car il est essentiel à la synthèse des purines et pyrimidines.
Triméthoprime	C'est un antibiotique synthétique à large spectre qui interfère également avec la production de l'acide folique. Il se fixe à la dihydrofolate réductase (DHFR), l'enzyme responsable de la conversion de l'acide dihydrofolique en acide tétrahydrofolique, entre en compétition avec le substrat, l'acide dihydrofolique.

1. Famille des β -lactamines

Leur structure moléculaire contient un noyau β -lactame associé à un cycle thiazolidine (commun aux pénicillines) ou dihydrothiazine (commun aux céphalosporines). Cette famille d'antibiotiques comprend un très grand nombre de molécules utilisées comme traitements de première ligne en médecine et possédant un spectre d'activité plus ou moins large. Ces molécules inhibent la synthèse de la paroi bactérienne par fixation aux protéines liant les pénicillines (PLP), enzymes impliquées dans la synthèse du peptidoglycane (PG) (Nordmann et *al.*, 2012). La famille des β -lactamines est répartie en quatre principaux groupes : les pénicillines, les céphalosporines, les monobactames et les carbapénèmes et les inhibiteurs de β -lactamases (IBL) (Bryskier, 1999).

1.1 Les pénicillines

Dont font partie la pénicilline G (noyau pénème), la méticilline et les isoxazolylpénicillines (oxacilline et cloxacilline), les amino-benzylpénicillines (ampicilline et amoxicilline), les uréido-pénicillines (pipéracilline), les carboxy-pénicillines (ticarcilline) et les amidino-pénicillines (mécillinam) (Lagha, 2015).

1.2 Céphalosporines

Les céphalosporines (noyau céphème) ont été classés en fonction des différentes générations (1ère, 2ème, 3ème, 4ème, 5^{ème}) ces molécules de spectres différents ont une capacité d'hydrolyse plus marquée vis-à-vis des β -lactamases (Ex : céphalosporines de 3ème génération actives sur des souches produisant des pénicillinases à haut niveau ; céphalosporines de 4ème génération actives sur des souches produisant des céphalosporinases à haut niveau) voire encore actives malgré la présence de PLP anormales (Ex : céphalosporines de 5ème génération actives sur des souches de staphylocoques résistants à la méticilline) (Nordmann et *al.*, 2010).

1.3 Carbapénèmes

Comme l'imipénème et méropénème...etc, (noyau pénème) qui sont des molécules résistantes à la plupart des β -lactamases à large spectre ex : BLSE. Ils sont très actifs sur un grand nombre d'espèces bactériennes Gram positives et Gram négatives, aérobies et anaérobies. Peu de souches d'entérobactéries sont capables de dégrader ces molécules (Cavallo et *al.*, 2004 ; Cattoir et *al.*, 2009). Mais sont en revanche toutes inefficaces sur *Stenotrophomonas maltophilia* (Nordmann et *al.*, 2010).

1.4 Monobactames (Le Noc, 1999)

Ces molécules (noyau azétidine) sont initialement obtenues à partir de bactéries, puis produites par synthèse chimique, dont le spectre est étroit, inactives sur les anaérobies et les bactéries Gram positives, limité à certains bacilles Gram négatifs (entérobactéries, *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa*...) et certaines bactéries cocci et Gram négatives.

Le mode d'action des principaux antibiotiques les plus utilisés sont illustrés dans le tableau 2 ci-dessous, et la figure 1 ci-dessous démontre aussi que chaque famille d'antibiotique interagit spécifiquement avec une cible particulière dans la bactérie.

Tableau 2. Le mode d'action des agents antimicrobiens les plus utilisés
(Dugassa et Shukuri, 2017).

Agents antimicrobiens	Groupes	Mode d'action
Ampicilline, amoxicilline-acide clavulanique, amoxicilline	Pénicillines	Inhibiteurs de la synthèse des parois cellulaires
Céftriaxone	Céphalosporines	
Chloramphénicol	Chloramphénicol	Inhibiteurs de la synthèse des protéines
Erythromycine, azithromycine	Macrolides	
Gentamycine, streptomycine	Aminoglycosides	
Oxytétracycline	Tétracyclines	
Acide nalidixique, ciprofloxacine	Quinolones	Inhibiteurs de la synthèse de l'ADN
Sulfaméthazine, triméthopime	Sulfonamides	Inhibiteurs compétitifs de la synthèse de l'acide folique

L'un des mécanismes d'action les plus courants consiste à cibler la paroi cellulaire, qui est présente dans les bactéries (cellules procaryotes) mais absente chez les humains (cellules eucaryotes), les antibiotiques affectant en grande partie la paroi (peptidoglycane) chez les bactéries sont ceux appartenant à la famille des β -lactamines, glycopeptides et fosfomycines. Ainsi, les agents antimicrobiens agissent sélectivement sur les fonctions microbiennes vitales avec des effets minimes ou sans affecter les fonctions de l'hôte (Young, 2011). Cependant la plupart des antibiotiques de la famille des polymixines affectent la membrane cytoplasmique, perturbent la bicouche de phospholipides et favorisent la formation de pores qui entraînent la lyse de la bactérie. L'inhibition de la synthèse protéique est assurée par les antibiotiques de la famille des aminoglycosides, macrolides, tétracyclines, acide fusidique, linézolide et chloramphénicol en se fixant à la sous-unité 30S du ribosome pour inhiber directement la synthèse protéique et provoquer des erreurs de lecture de l'ARNm, tandis que les quinolones et les fluoroquinolones inhibent la synthèse des acides nucléiques par l'inhibition de l'ADN

gyrase et la topo-isomérase IV, de ce fait interfèrent avec la réplication de l'ADN et la transcription (Willey et *al.*, 2013).

IV. Types de résistance aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques est la capacité d'une bactérie ou d'autres micro-organismes à survivre et à se reproduire en présence de doses d'antibiotiques qui étaient auparavant considérées comme efficaces contre eux (WHO, 2011). C'est l'une des plus grandes menaces pour la santé humaine et aussi des études ont indiqué que les antibiotiques non seulement sélectionnent des souches résistantes aux antibiotiques, mais aussi ils peuvent agir plus ou moins comme des promoteurs indirects de la résistance aux antibiotiques (Mao et *al.*, 1997 ; Li et Webster, 2018).

On peut alors conclure que les antibiotiques ne sélectionnent pas seulement la résistance à eux-mêmes mais en augmentant la proportion de mutants, ils peuvent aussi indirectement sélectionner la capacité accrue d'acquisition de la résistance à d'autres antibiotiques (Oliver et *al.*, 2000).

Grâce à leur flexibilité et leur plasticité génétique, les bactéries pathogènes sont capables de mettre en place un programme de résistance spécifique contre un antibiotique particulier. En effet, certaines souches arrivent à rétablir une multirésistance vis-à-vis de plusieurs antibiotiques à la fois donnant lieu à ce qu'on appelle les bactéries multirésistantes aux antibiotiques ou BMR (Chaudhary, 2016).

La résistance bactérienne aux antibiotiques aurait deux origines essentielles : naturelle et acquise (Julian et Dorothy, 2010).

1. La résistance naturelle

C'est une résistance intrinsèque, commune à une population, due essentiellement à la présence de gènes spécifiques (Allen et *al.*, 2010). La résistance intrinsèque d'une espèce de bactérie à un antibiotique particulier est la capacité de résister à l'action de cet antibiotique en raison de caractéristiques structurelles ou fonctionnelles inhérentes. Comme les micro-organismes ne possédant pas naturellement de sites cibles pour les antibiotiques, par conséquent, l'antibiotique ne les affecte pas (par ex. les espèces de mycoplasmes résistantes aux pénicillines) ou ils ont naturellement une faible perméabilité à ces agents (Fluit et *al.*, 2001).

2. La résistance acquise

Les bactéries ou microorganismes naturellement sensibles peuvent également acquérir par plusieurs moyens une résistance aux antibiotiques, cette résistance acquise peut être due à des modifications dans le profil d'expression génique par le biais de mutations des gènes chromosomiques soit par transfert horizontal d'un matériel génétique chromosomique supplémentaire ou de gènes entre les bactéries, cette résistance confère aux bactéries un très grand pouvoir d'adaptation à leur habitat et à d'autres milieux environnementaux (Courvalin, 2005 ; Springman et *al.*, 2009).

Les gènes de résistance sont exprimés soit d'une manière constitutive ou bien induite en répondant à un signal enzymatique établi par la mise en œuvre d'un processus d'échappement vis-à-vis de l'antibiotique (Doyle, 2006). Le cas de la résistance aux quinolones est un exemple d'une résistance acquise principalement par des mutations chromosomiques (de la Cruz et Davies, 2000).

Il y'a deux phénomènes globaux qui sont à l'origine de la diversité génétique dont les mutations chromosomiques ou parfois des hypermutations et le transfert horizontal de gènes exogènes entre les espèces de nature différente par des éléments génétiques mobiles tels que les plasmides (conjugatifs ou non-conjugatifs), les éléments transposables (séquences d'insertion IS), transposons (composites, non composites et conjugatifs), les intégrons (mobiles et superintégrons) (White et *al.*, 2005 ; Sadikalay, 2018). Le phénomène de transfert horizontal de gènes a donné naissance à la résistance aux céphalosporines, fluoroquinolones et aminoglycosides (Nordmann et Poirel, 2002), puisque ce transfert de gènes peut se passer entre les bactéries phylogénétiquement différentes et éloignées (entre bactéries Gram positives et Gram négatives) (Courvalin, 1994).

2.1 Mutations chromosomiques

Ces mutations se produisent de manière spontanée lors de la réplication de l'ADN (en absence d'un vrai système de réparation). Ce qui donne naissance à des protéines biochimiquement modifiées. La mutation du gène *gyrA* chez *Escherichia coli* lui confère une forte résistance (Hooper, 1999) et une mutation dans le gène *mexR* Chez *Pseudomonas aeruginosa*, cause la répression de l'opéron *mexAB-oprM* et lui confère une multirésistance (Adewoye et *al.*, 2002).

2.2 Hypermutation

Est un phénomène génétique permettant l'acquisition de la résistance aux antibiotiques et qui désigne un état transitoire durant lequel une souche bactérienne subit un taux de mutation très élevé. Cet état a été montré chez certaines souches pathogènes telles que : *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Helicobacter pylori* (Dzidi et al., 2008).

2.3 Le transfert horizontal d'un matériel génétique exogène

Le transfert horizontal d'un matériel génétique exogène est un échange d'éléments génétiques de manière perpétuelle entre les espèces microbiennes partageant des éléments génétiques grâce à trois phénomènes qui sont : la transduction, conjugaison et transformation (Sommer et al., 2009), ces trois phénomènes sont résumés dans la figure 2 ci-dessous.

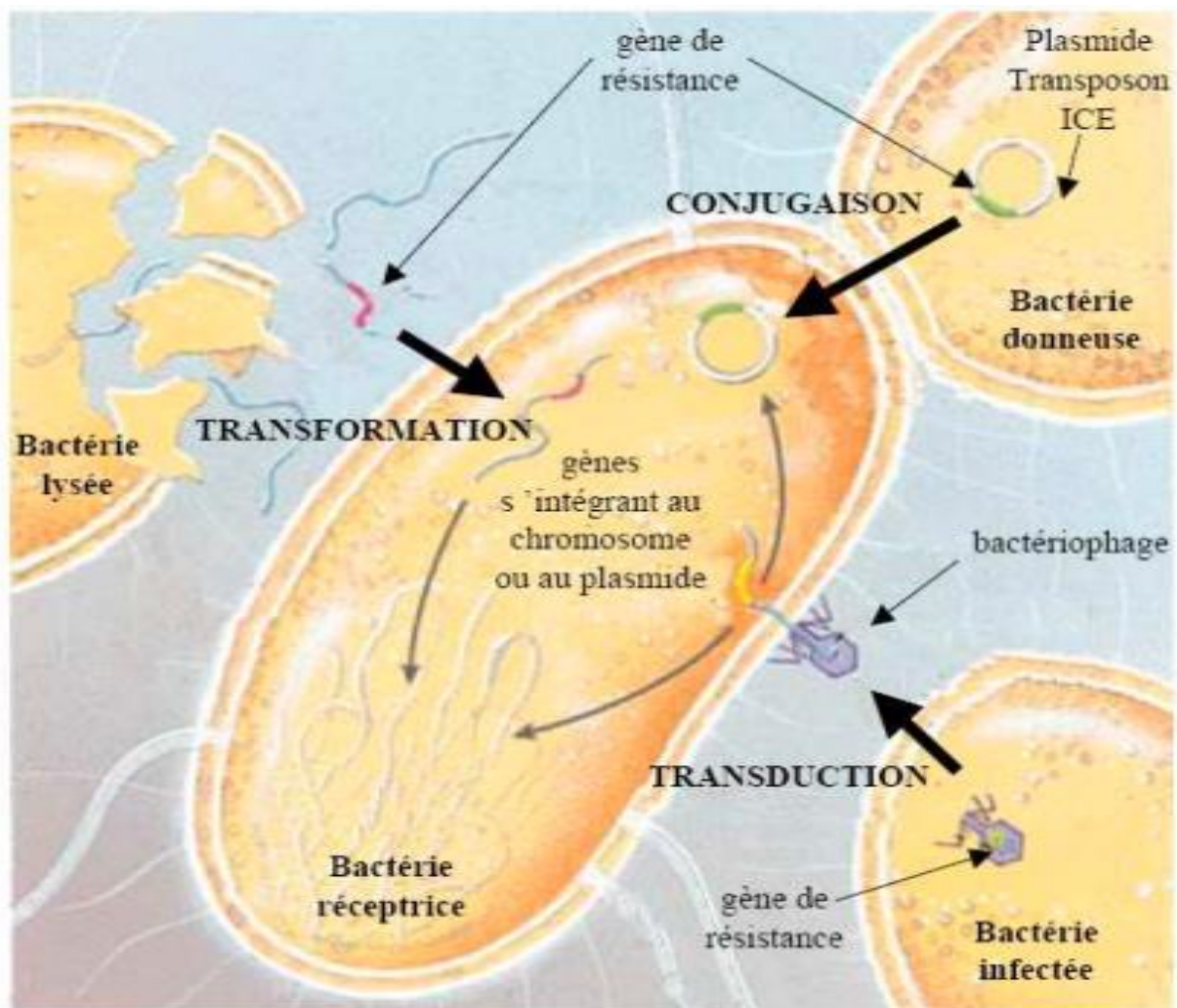


Figure 2 : les principaux phénomènes du transfert horizontal de gènes (Davison, 1999).

2.3.1 La transduction

Consiste à un transfert de gènes par le biais des bactériophages, la transduction est dite généralisée lorsque le bactériophage est capable d'encapsider les fragments d'ADN générés lors de la lyse bactérienne. Tandis que certains bactériophages présentent une transduction spécialisée lors ce que les gènes proches du site d'intégration du prophage peuvent seuls être encapsidés et transférés à une autre bactérie (Davison, 1999).

2.3.2 La conjugaison

C'est le transfert des fragments d'ADN par contact direct via des plasmides conjugatifs.

2.3.3 La transformation et compétence naturelle

La transformation et compétence naturelle est découverte par Fred Griffith en 1928, c'est l'absorption par la cellule d'une molécule ou d'un fragment d'ADN nu, présent dans le milieu et qui va s'incorporer par la suite dans le chromosome receveur pour devenir héréditairement stable.

2.4 Par des éléments génétiques mobiles

2.4.1 Les plasmides

Les plasmides sont des molécules circulaires composées d'ADN bicaténaire (double brins) extra chromosomique qui ne sont pas indispensables à la survie de la bactérie représentant un atout majeur pour pouvoir s'adapter dans des conditions environnementales particulières et hostiles, pouvant se répliquer de façon indépendante dans les bactéries hôtes, et se transmettre de façon stable à la descendance. Ils sont de taille variable : de quelques kilobases (kb) à 500 kb. Ils se caractérisent, en général, par leur type et origine de répllication (OriV), leur nombre de copies, leur compatibilité entre plasmides, leur mobilisation, leur spécificité d'hôte, et leur origine de transfert (OriT). La spécificité de l'hôte des plasmides est très importante dans le transfert de gènes entre espèces bactériennes. Il est impossible, pour des plasmides possédant le même système de répllication, de coexister dans la même cellule. Il s'agit du phénomène d'incompatibilité des plasmides. Un plasmide conjugatif étudié en profondeur est le facteur F qui joue un rôle majeur dans la conjugaison chez *E. coli* et fut le premier plasmide conjugatif à avoir été décrit (Sadikalay, 2018).

2.4.2 Les éléments transposables

Les éléments transposables les plus simples sont les séquences d'insertion ou éléments IS. Un élément IS est une courte séquence d'ADN (de 750 à 1600 paires de bases) qui contiennent uniquement les gènes des enzymes requises pour sa transposition. Cette séquence est flanquée à chaque extrémité de séquences nucléotidiques identiques ou très similaires, en orientation inverse (ce qu'on appelle des séquences répétées inverses). Ces séquences répétées inverses sont habituellement longues de 15 à 25 paires de bases et varient d'un élément IS à l'autre, ainsi chaque type d'IS a ses propres séquences répétées inverses caractéristiques. Entre les séquences répétées inverses, on trouve un gène Z qui code pour une enzyme appelée 'transposase', cette dernière est nécessaire à la transposition car elle reconnaît avec précision les extrémités des IS (Willey et *al.*, 2013 ; Sadikalay, 2018).

2.4.3 Les transposons

Sont parmi les éléments génétiques mobiles qui contiennent des gènes autres que ceux de la transposition (comme les gènes de résistance aux antibiotiques ou des gènes de toxines), les transposons consistent souvent en une région centrale qui contient les gènes supplémentaires, flanqués de part et d'autre d'éléments IS dont les séquences sont identiques ou très similaires. D'autres ont une organisation plus simple et sont flanqués de courtes séquences répétées inverses, tandis que la région codante contient les gènes de transposition et les gènes supplémentaires. On pense que des transposons se forment lorsque deux éléments IS s'associent avec un segment central contenant un ou plusieurs gènes. Certains transposons sont conjugatifs lorsqu'ils portent des gènes de transfert et peuvent passer d'une bactérie à une autre par le processus de conjugaison (Willey et *al.*, 2013).

2.4.4 Les intégrons

Sont parmi les autres éléments responsables du transfert des gènes entre les bactéries et transmettent des gènes de résistance aux antibiotiques dont ceux codant pour les β -lactamases de type métalloenzyme (Nordmann et Poirel, 2002), mais ces intégrons ne sont pas des éléments mobiles mais leurs associations avec d'autres facteurs de transfert et d'insertion les rendent mobiles (Holmes et *al.*, 2003). Ces intégrons sont des fragments d'ADN connus sous le nom de « cassettes des gènes », que les bactéries s'intègrent dans certaines régions d'ADN chromosomique via un mécanisme de recombinaison d'une manière spécifique (Liebert et *al.*, 1999). D'autres éléments génétiques impliqués dans la dispersion des gènes de résistance sont résumés dans le tableau 3 illustré ci-dessous.

Chapitre I : Les antibiotiques

Tableau 3 : caractéristiques des différents éléments génétiques impliqués dans la dispersion des gènes de résistance (Muylaret et Mainil, 2012)

Eléments génétiques	Caractéristiques	Rôles
Plasmide conjugatif	<ul style="list-style-type: none"> - Circulaire - Elément de réplication autonome - Présence des gènes nécessaires au transfert par conjugaison 	<ul style="list-style-type: none"> - Transfert de gènes de résistance - Mobilisation d'autres éléments portant des gènes de résistance
Plasmide mobilisable	<ul style="list-style-type: none"> - Circulaire - Elément de réplication autonome - Présence des gènes permettant d'utiliser l'appareil de conjugaison d'un plasmide conjugatif 	Transfert de gènes de résistance
Transposon et ISCR	Capacité de déplacement depuis un segment d'ADN vers un autre à l'intérieur d'une bactérie	Transport de gènes de résistance du chromosome vers un plasmide et vice versa
Transposon conjugatif	<ul style="list-style-type: none"> - Elément intégré pouvant s'exciser pour former un intermédiaire de transfert non réplicatif - Présence des gènes nécessaires au transfert par conjugaison 	<ul style="list-style-type: none"> - Transfert de gènes de résistance - Mobilisation d'autres éléments portant des gènes de résistance
Cassette de gène	<ul style="list-style-type: none"> - Circulaire - Segment d'ADN non réplicatif - Présence seulement d'une fenêtre de lecture ouverte - Intégration dans les intégrons 	Porte des gènes de résistance
Intégron	<ul style="list-style-type: none"> - Segment d'ADN intégré - Présence d'une intégrase, d'un promoteur, et d'un site d'intégration pour la cassette de gène 	Groupe de gènes de résistance dont l'expression est sous le contrôle du promoteur de l'intégron
Ilot génomique et EIC	<ul style="list-style-type: none"> - Segment d'ADN chromosomique - Présence des gènes nécessaires au déplacement et au transfert par conjugaison 	<ul style="list-style-type: none"> - Transfert de gènes de résistance - Mobilisation d'autres éléments portant des gènes de résistance
Bactériophage	<ul style="list-style-type: none"> - Virus de bactérie - Circulaire ou non - Elément de réplication autonome 	<ul style="list-style-type: none"> - Transfert de gènes de résistance - Mobilisation d'autres éléments portant des gènes de résistance
Fragment d'ADN isolé dans le milieu	Transféré par transformation d'une bactérie compétente	Porte des gènes de résistance

3. Résistance croisée

Il s'agit de la résistance à un antibiotique spécifique par des microorganismes spécifiques, et qui sont également résistants à d'autres antibiotiques (Etebu et Ariekpar, 2016). Ce phénomène est généralement observé lorsque les antibiotiques ont des structures communes : comme la résistance à l'érythromycine, à la néomycine, kanamycine, ou la résistance aux céphalosporines et aux pénicillines (Jahne et *al.*, 2015). Cependant, la résistance croisée peut parfois être observée dans un groupe d'antibiotiques complètement distinct, comme la résistance croisée entre l'érythromycine et la lincomycine.

4. Multirésistance et autres types de résistance

Si les souches bactériennes ne sont pas sensibles à trois familles différentes d'antibiotiques ou plus, elles sont dites « multirésistantes » (BMR). Si les espèces sont résistantes à tous les types d'antibiotiques sauf pour un ou deux classes d'antibiotiques, elles sont considérées comme « hautement résistantes » aux antibiotiques, si les espèces sont résistantes à tous les antibiotiques utilisables, on parle de bactéries « pan-résistantes » (Stanford et *al.*, 2020).

Les espèces multirésistantes sont généralement des agents pathogènes qui ont été résistantes à leurs antibiotiques, ce qui garantit que les bactéries ne pourront plus être éliminées ou régulées par un seul antibiotique (Alanis, 2005). L'utilisation inappropriée d'antibiotiques comme traitement a abouti à l'introduction de bactéries pathogènes multirésistantes (Dheda et *al.*, 2017). L'un ou l'autre de ces deux mécanismes peuvent induire une multirésistance chez les bactéries (Rello et *al.*, 2016)

Premièrement, ces bactéries vont acquérir plusieurs gènes, chacun codant pour une résistance spécifique aux antibiotiques. Cette forme de résistance existe généralement sur les plasmides R (Tóth et *al.*, 2020). Deuxièmement, la forme de multirésistance peut également se produire par l'expression accrue de gènes codants pour des pompes d'efflux, l'inactivation enzymatique des antibiotiques, la modification de la structure de la cible, et autres (Salloum et *al.*, 2020).

V. Mécanismes de résistance aux antibiotiques

Certaines études sur la résistance bactérienne ont montré qu'il existe une variété de mécanismes biochimiques et physiologiques qui sont responsables du développement de la

résistance aux antibiotiques. Les mécanismes de résistance chez les microorganismes peuvent être de manière génétiquement inhérente (innée) ou développée au fil du temps par l'exposition du micro-organisme aux antibiotiques. La plupart des résistances aux antibiotiques sont apparues à la suite d'une mutation dans les gènes de structure ou de régulation, ou de l'acquisition horizontale de gènes étrangers alternativement (transfert de matériel génétique) entre les microorganismes (Davies, 2010).

Aussi, il est possible que par le biais d'un seul mécanisme, un organisme devient résistant à de nombreuses classes d'antibiotiques surtout si leurs modes d'action sont similaires. Parfois, la résistance peut être partagée entre des bactéries individuelles par la production de "plasmides de résistance", des morceaux d'ADN capables d'être transférés d'une cellule à une autre (Clewell, 2014). Il existe de nombreuses preuves que les éléments génétiques mobiles sont capables de transférer les mécanismes de résistance entre les genres par exemple, les éléments génétiques mobiles (EMG) des entérocoques sont transférés à *Staphylococcus aureus* (Hegstad et al., 2010).

Les bactéries peuvent acquérir ou développer une résistance aux antibiotiques par l'intermédiaire de plusieurs mécanismes, qui se répartissent en trois groupes principaux: premièrement, ceux qui inactivent l'antibiotique par hydrolyse ou modification ; deuxièmement ceux qui minimisent les concentrations intracellulaires de l'antibiotique en raison d'une mauvaise pénétration dans la bactérie ou d'un efflux d'antibiotiques ; troisièmement ceux qui modifient la cible de l'antibiotique par mutation génétique ou modification post-traductionnelle de la cible. Ces mécanismes de résistance aux antibiotiques peuvent se résumer en :

1. Réduction de la perméabilité membranaire

Ce mécanisme permet de prévenir l'entrée de l'antibiotique dans la cellule. Les bactéries Gram négatives ont une membrane cellulaire extérieure, qui sont des canaux qui traversent la membrane extérieure et permettent l'entrée et la sortie de matières dans ou hors de la cellule. Pour entrer dans la cellule ou interagir avec la paroi cellulaire, certaines bactéries Gram négatives sont résistantes de manière innée aux antibiotiques de grande taille, comme la vancomycine qui est un antibiotique glycopeptide, qui est trop grand pour passer à travers les pores, même avant qu'une mutation ne se produise (Willey et al., 2013). Cet antibiotique (vancomycine) inhibe la réticulation du peptidoglycane en se liant aux peptides d-Ala-d-Ala ciblés mais n'est normalement efficace que chez les bactéries Gram positives, car

dans les organismes Gram négatives, cette molécule ne peut pas traverser la membrane et accéder à ces peptides dans le périplasme (Tsuchido et Takano, 1988).

Ces pores peuvent être modifiés par une mutation génétique qui entraîne un changement de leur structure physique ou leur charge électrique rendant l'entrée des antibiotiques dans la cellule difficile et dans ce cas l'antibiotique sera inactif vu qu'il ne parvient pas à atteindre son site cible, de cette manière un microorganisme peut développer une résistance à plusieurs classes d'antibiotiques en même temps (Galdiero et *al.*, 2012).

Les antibiotiques hydrophiles traversent la membrane externe en diffusant à travers les protéines porines de la membrane externe. Chez la plupart des Enterobacteriaceae les porines principales, telles que les protéines de la membrane externe OmpF et OmpC d'*E. coli*, sont supposées fonctionner comme des canaux non spécifiques (Tran et *al.*, 2013).

2. Modification du site cible

Plusieurs antibiotiques agissent en se liant à un composant moléculaire cible du microorganisme. Un micro-organisme peut diminuer l'efficacité d'un antibiotique si la molécule cible modifie légèrement sa structure, de sorte que l'antibiotique ne peut plus se lier à la molécule cible. Comme pour les tétracyclines qui bloquent le site d'accès de l'ARN de transfert en s'y liant, ces légères modifications du site d'accès peuvent entraîner une résistance microbienne aux tétracyclines (Denyer et *al.*, 2011).

Comme pour certaines souches pathogènes telles que *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis* et *Shigella dysenteriae* modifient l'affinité des protéines de liaison à la pénicilline (penicillin-binding proteins, PBP), ce qui leur permet de résister à des antibiotiques de la famille des β -lactamines (Poole, 2004).

Un exemple de changement de cible est l'acquisition d'un gène homologue à la cible initiale, comme dans le cas de la souche *Staphylococcus aureus* résistante à la méthicilline (SARM), chez qui la résistance à la méthicilline est conférée par l'acquisition de l'élément *mec* du chromosome cassette staphylococcique (SCC*mec*). Cet élément porte le gène *mec A*, qui code pour la protéine β -lactamine sensible PBP2a (penicillin binding protein 2a) ; qui diminue l'affinité de l'oxacilline et autres antibiotiques de pénicilline chez *S. aureus* et ainsi cette protéine permet à la biosynthèse de la paroi cellulaire d'avoir lieu malgré la présence de la protéine β -lactamine (Katayama et *al.*, 2000 ; Tenover, 2006). De nombreux éléments

SCCmec ont été identifiés chez différentes espèces de *Staphylococcus*, et il est prouvé que l'allèle mec A a été mobilisé plusieurs fois (Shore et *al.*, 2011).

L'un des mécanismes de résistance aux aminoglycosides est la modification du ribosome cible par méthylation, ces dernières années, la protection des cibles s'est avérée être un mécanisme de résistance cliniquement pertinent pour plusieurs antibiotiques importants, par exemple, les gènes de la famille de l'érythromycine ribosome méthylase (*erm*) méthylent l'ARNr 16S et modifient la liaison à l'antibiotique empêchant ainsi la liaison des macrolides, des lincosamines et des streptogramines (Kumar et *al.*, 2014). Les gènes *erm* et *cfr* sont souvent portés par des plasmides, qui servent de vecteurs à leur large diffusion (Leclercq, 2002 ; Zhang et *al.*, 2014).

3. Efflux ou transport de l'antibiotique

Une pompe d'efflux est une pompe biologique qui peut forcer l'antibiotique à sortir de la cellule, de sorte qu'il ne peut pas atteindre ou rester en contact avec sa cible. Ce mécanisme induit une multirésistance chez les microorganismes surtout pour les antibiotiques inhibant la biosynthèse des protéines et de l'ADN et exerçant leur activité à l'intérieur de la cellule (ex : les tétracyclines, fluoroquinolones et les macrolides) (Livermore, 2004 ; Willey et *al.*, 2013).

Les pompes d'efflux bactériennes transportent activement de nombreux antibiotiques hors de la cellule et contribuent largement à la résistance intrinsèque des bactéries Gram négatives à de nombreux antibiotiques utilisés pour traiter les infections bactériennes à Gram positives (Li et Nikaido, 2009). Lorsqu'elles sont surexprimées, les pompes d'efflux peuvent également conférer des niveaux élevés de résistance à des antibiotiques utilisés dans le domaine clinique. Certaines pompes d'efflux ont une spécificité de substrat étroite (par exemple : les pompes Tet), mais beaucoup transportent un large éventail de substrats structurellement dissemblables et sont connues sous le nom de pompes à efflux multirésistantes (Abouzeed et *al.*, 2008).

Par conséquent, le site de résistance intrinsèque de certaines bactéries Gram négatives à de nombreux composés est dû à l'incapacité de ces agents à traverser la membrane externe qui forme une barrière de perméabilité par rapport aux espèces à Gram positives (Vargiu et Nikaido, 2012 ; Kojima et Nikaido, 2013).

4. L'inactivation des antibiotiques

La modification des antibiotiques par voie enzymatique est un mécanisme majeur de résistance aux antibiotiques qui a été mis en évidence depuis la première utilisation des antibiotiques, avec la découverte de la pénicillinase (une β -lactamase) en 1940, des milliers d'enzymes ont été identifiées et peuvent dégrader et modifier des antibiotiques de différentes classes, notamment : les β -lactamines, les aminoglycosides, les phénicoles et les macrolides (Abraham et Chain, 1988 ; Jacoby et Munoz-Price, 2005). La modification des antibiotiques peut se faire de différentes façons selon les réactions chimiques catalysées (l'acétylation, la glycosylation, la nucléotidylation, la substitution, la ribosylation et/ou la phosphorylation).

Des études récentes ont conduit à l'identification de nombreux gènes qui sont responsables de la résistance intrinsèque aux antibiotiques de différentes classes, dont les β -lactamines, les fluoroquinolones et les aminoglycosides. Cette méthode de résistance peut être transférée d'une bactérie à une autre par la production de plasmides R. Elle est courante chez les souches de Staphylocoques résistants à la méthicilline (SARM) (Holcomb et *al.*, 2008). Dans ce cas, la bactérie peut acquérir une résistance aux antibiotiques en fabriquant une enzyme qui inactive ou diminue la fonctionnalité de l'antibiotique. Le meilleur exemple est celui des β -lactamases qui sont capables de briser les cycles β -lactames des antibiotiques β -lactame tels que la pénicilline. De cette façon, la rupture du cycle β -lactame empêche l'antibiotique de se fixer aux précurseurs du peptidoglycane (Sageman, 2015).

Il existe également des sous-classes d'enzymes qui peuvent dégrader différents antibiotiques au sein d'une même classe comme pour les antibiotiques de la famille des β -lactamines : pénicillines, clavames, céphalosporines, monobactames et carbapénèmes, qui sont hydrolysés par une gamme variée de β -lactamases (Woodford et *al.*, 2011).

Actuellement, le spectre d'activité de quelques enzymes hydrolytiques a été modifié comme pour les premières β -lactamases, qui étaient actives contre les β -lactamines de première génération, ont été suivies de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) qui ont une activité contre les oxyimino-céphalosporines (Johnson et Woodford, 2013). Le portage de diverses BLSE et carbapénémases, y compris l'imipenemase (IMP), Verona integron encoded metallo β -lactamase (VIM), la carbapénémase de *Klebsiella pneumoniae* (KPC), oxacillinase (OXA) et les enzymes New Delhi Métallo β -lactamase (NDM), chez les bactéries Gram négatives telles que : *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*, a favorisé l'émergence d'isolats qui sont résistants à tous les

antibiotiques β -lactamines ; ceci a de sérieuses implications pour le traitement des infections graves, en particulier chez les patients hospitalisés (Voulgari et *al.*, 2013 ; Lynch et *al.*, 2013).

Les antibiotiques aminoglycosides sont particulièrement susceptibles d'être modifiés, vu leur grand poids moléculaire, leurs molécules possèdent de nombreux groupes hydroxyles et amides exposés. D'autres enzymes telles que les acétyltransférases, les nucléotidyltransférases et les phosphotransférases sont connues par leurs capacités à modifier l'affinité des antibiotiques de la famille des aminoglycosides (Norris et Serpersu, 2013).

⇒ Exemple des β -lactamases spectre étendu

Certaines entérobactéries comme *Escherichia coli* utilisent un mécanisme d'inactivation des antibiotiques en sécrétant des enzymes hydrolysant l'antibiotique pour échapper à son action létale, et les β -lactamases représentent l'un des mécanismes principaux pour hydrolyser le cycle β -lactame (Cavallo et *al.*, 2004). Ces enzymes sont localisées au niveau de l'espace périplasmique chez les bactéries Gram négatives (Medeiros, 1984). Ce sont les enzymes d'inactivation les plus fréquemment rencontrées et constituent le principal mécanisme de résistance acquise aux β -lactamines et hydrolysent le cycle β -lactame en clivant le lien amine de l'antibiotique, elles agissent par l'intermédiaire d'un ester de sérine ou d'un mécanisme dépendant de l'ion zinc Zn^{2+} (Mueller, 2004).

Ils existent également des inhibiteurs compétitifs des β -lactamases et qui sont : les clavanes (acide clavulanique) et les pénicillines-sulfones (tazobactam et sulbactam). Ils sont dépourvus d'activité antibiotique car ils n'inhibent pas les PLPs, ils sont utilisés en association avec d'autres β -lactamines (amoxicilline, ticarcilline et pipéracilline).

Les β -lactamases sont classées selon Ambler qui a utilisé une classification moléculaire et structurale, tandis que Bush, Jacoby et Medeiros se basent sur une classification fonctionnelle de l'enzyme définies par son substrat préférentiel et son profil d'hydrolyse. Actuellement, la classification d'Ambler est la plus utilisée, car elle est basée sur l'homologie et la ressemblance de séquences d'acides aminés des β -lactamases. Elle sépare ces enzymes selon leur structure primaire en quatre groupes (A, B, C et D). Les enzymes de classe B regroupe les métallo- β -lactamases (type métallo-enzymes), qui ont besoin d'ions Zn^{2+} , tandis que les classes A, C et D sont dites à sérine active (type sérine) (Philippon et *al.*, 2005).

En Résumé, la classification des β -lactamases selon Ambler comprend la classe A dont les pénicillinases, la classe B inclut les métallo- β -lactamases, la classe C comprend les

Chapitre I : Les antibiotiques

céphalosporines et l'oxacillines pour la classe D. Le tableau 4 ci-dessous démontrent la relation entre la classification moléculaire d'Ambler et de celle de Bush.

Chapitre I : Les antibiotiques

Tableau 4 : la classification des β -lactamases (Bush et *al.*, 1995) in Chalal et al. (2018)

Classification de Bush et al, 1995	Classe moléculaire	Substrats préférés	Inhibition		Enzymes représentatives
			Clavulanate	EDTA	
1	C	Céphalosporines	-	-	Ampc chez les Gram négatives
2a	A	Pénicillines	+	-	Pénicillinase chez les Gram positives
2b	A	Pénicillines Céphalosporines	+	-	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	A	Pénicillines Céphalosporines	+	-	TEM-3, SHV-2 et BLSE dérivées
2br	A	Pénicillines	+ et -	-	TEM-30 et TRI dérivées
2C	A	Pénicillines carbapénicillines	+	-	PSE-1, PSE-3, PSE-4
2d	D	Pénicilline Oxacilline	+ et -	-	OXA-1 et dérivées
2 ^e	A	Céphalosporines	+	+	Céphalosporinas es inductible de <i>P. vulgaris</i>
2f	A	Pénicillines Céphalosporines carbapinèmes	+	-	NMC-A d' <i>E. cloacae</i> , Sme-1 de <i>S. marcescens</i>
3	B	Majorité des β -lactamines	-	+	Ccra de <i>bactéroïde fragilis</i>
4	ND	Pénicilline	-	?	Pénicillinase de <i>P. cepacia</i>

Les β -lactamases à spectre étendu (BLSE) sont de nouvelles β -lactamases produites par une variété de bacilles Gram négatifs. Ces enzymes se distinguent des β -lactamases à large spectre, telles que la TEM-1, TEM-2, SHV-1 et d'autres. Les BLSE ont des profils de substrat étendus qui permettent l'hydrolyse de l'aztréonam et des céphalosporines à spectre élargi telles que le céfotaxime, la ceftriaxone, le ceftazidime, la céfépime, et autres. Jusqu'à présent, les BLSE sont le plus souvent produites par les isolats de *Klebsiella pneumoniae* et, dans une moindre mesure, d'*Escherichia coli* (Thomson et al., 1996 ; De Champs et al., 2000 ; Paterson et al., 2001), mais les infections, la colonisation et la propagation nosocomiale impliquant d'autres organismes producteurs de BLSE (tels que *Morganella morganii*, *Serratia marcescens*, *Shigella dysenteriae*, plusieurs espèces d'*Enterobacter*, *Salmonella*, *Proteus*, et *Citrobacter* ; *Pseudomonas aeruginosa* ; *Burkholderia cepacia* ; et *Capnocytophaga ochracea*) ont été signalés (Thomson et Moland, 2000).

Un problème majeur avec les BLSE est leur capacité à provoquer des échecs thérapeutiques avec les céphalosporines et l'aztréonam alors que l'organisme hôte semble être sensible à ces agents dans les tests de laboratoire (Jarlier et al., 1988 ; Thomson et al., 1996 ; Paternon et al., 2001). En réponse à ce problème, le National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) recommande aux laboratoires de signaler les isolats d'*E. coli* ou de *Klebsiella spp* produisant des BLSE comme étant résistants à toutes les pénicillines, céphalosporines (y compris la céfépime et le céfpirome) et à l'aztréonam, quels que soient les résultats des tests in vitro (NCCLS, 2000), cette recommandation ne s'étend pas aux organismes producteurs de BLSE d'autres genres.

En effet, il a été suggéré qu'il existe une grande variabilité entre les BLSE dans leurs interactions avec la céfépime, les BLSE dérivées de SHV ayant d'avantage tendance à diminuer l'activité de la céfépime que les BLSE dérivées du TEM (Sanders, 1996).

Il existe des centaines de variantes des gènes CTX-M (qui codent pour des BLSE qui se distinguent par leur plus grande activité contre le céfotaxime que contre d'autres oxyimino- β -lactames). Ces gènes sont classés en différents sous-groupes, qui ont résulté de l'échappement de gènes du chromosome des espèces de *Kluyvera* trouvées dans le sol, cet échappement a été facilité par des séquences d'insertion, notamment ISEcp1, suivie d'un transfert sur des plasmides conjugatifs dans de nombreuses espèces bactériennes (Rossolini et al., 2008). CTX-M14 et CTX-M15 sont devenues les BLSE les plus isolées dans le monde (Poirel et al., 2012 ; Zhao et Hu, 2013) en particulier chez les isolats d'*E. coli* et de *K.*

pneumoniae résistants aux céphalosporines. Le gène blaCTX-M14 est souvent associé au plasmide pCT de l'IncK dans les pays où il est utilisé et se trouve dans les isolats humains, animaux et environnementaux d'Enterobacteriaceae (Cottell et *al.*, 2011 ; Dhanji et *al.*, 2012).

En raison de l'augmentation du nombre de bactéries porteurs de gènes BLSE, l'utilisation clinique des antibiotiques carbapénèmes a augmenté au cours de la dernière décennie. En retour, elle a été associée à un nombre croissant d'isolats cliniques porteurs de β -lactamases ayant une activité d'hydrolyse des carbapénèmes (appelées carbapénémases), ces carbapénémases comprennent principalement des membres de la classe A, B et D β -lactamases (Queenan et Bush, 2007 ; Tzouvelekis et *al.*, 2012). La caractéristique de ces enzymes est la capacité d'inactiver une large gamme de β -lactamines, y compris les carbapénèmes et les céphalosporines à spectre étendu. Bien que d'abord identifiées sur les chromosomes d'une seule espèce, de nombreuses carbapénémases sont maintenant médiées par des plasmides et ont été signalées chez les Enterobacteriaceae, *P. aeruginosa* et *A. baumannii* (Tzouvelekis et *al.*, 2012).

Chapitre II :
Généralités et
résistance aux
antibiotiques
chez les
bactéries

I. La résistance aux antibiotiques chez les Gram positives

1. Staphylococoques

Les staphylocoques sont classés dans la famille des Staphylococcaceae. *Staphylococcus spp* sont des cocci à Gram positif ; de taille allant de 0,5 à 1,5 µm de diamètre (Akanbi et al., 2017). Ce sont des bactéries non mobiles, non sporulées, négatives à l'oxydase, hémolytiques, positives à la catalase et à la coagulase, et qui sont des anaérobies facultatives, avec une activité d'eau (aw) de 0,86, un pH optimal de 7-7,5 et une température optimale de 35-37°C, extrêmement sensibles à la chaleur et peuvent être facilement inactivées à une température supérieure à 46°C (Stewart, 2003).

A. Généralités

Staphylococcus aureus est l'espèce la plus fréquente et la plus importante de cette famille. C'est un agent pathogène polyvalent chez l'homme et l'animal, responsable d'un large éventail de maladies allant d'infections cutanées mineures à des maladies mortelles (Jangra et Singh, 2010), en raison de sa pathogénicité potentielle tant chez l'homme que chez les animaux. *S. aureus* se trouve sous forme de flore normale sur la peau, les narines antérieures, le nasopharynx et les muqueuses des humains ainsi que des animaux (Arbeit, 1988). Ce germe se trouve également dans des sites environnementaux tels que le sol, l'eau de mer, l'eau douce, l'air, la viande, le lait, le fromage, la terre, le sable, et la poussière (Eladli et al., 2018 ; Fetsch, 2018).

S. aureus est également connu comme l'un des plus importants agents d'intoxication alimentaire au niveau mondial (Genigeorgis, 1989), car ce germe a été isolé à partir de différents aliments d'origine animale (Hachemi et al., 2019), et qui sont avérés être contaminés par une ou plusieurs entérotoxines staphylococciques (SE) préformées produites par ce germe et qui peut provoquer des maladies humaines (Argudín et al., 2010).

B. Pouvoir pathogène et virulence

S. aureus est un agent pathogène opportuniste largement répandu dans le monde entier (Pollitt et al., 2018). Les humains sont des porteurs asymptomatiques courants de *S. aureus* entérotoxigène dans le nez, la gorge et la peau. Ainsi, les manipulateurs d'aliments peuvent être une source importante de contamination des aliments (Gutiérrez et al., 2012).

La consommation d'aliments contaminés par *S. aureus* ou l'ingestion de ses entérotoxines causent une intoxication alimentaire staphylococcique allant au syndrome du choc toxique (Doulgeraki et *al.*, 2016), et qui pourrait constituer une grave menace pour la santé du consommateur, surtout ceux vulnérables ou hospitalisés (Safarpour Dehkordi et *al.*, 2017) qui souffrent d'autres maladies, prise de traitement et système immunitaire affaibli (Chen et *al.*, 2015)

D'autres propriétés de pathogénicité comprennent la capacité de la bactérie à produire des hémolysines, des nucléases, des protéases, des exoprotéines et des protéines de résistance aux antimicrobiens, ainsi que leur capacité à former des biofilms, contribuant à leur permanence sur les surfaces abiotiques (Andrade et *al.*, 2011 ; Galinari et *al.*, 2014 ; Friedriczewki et *al.*, 2018).

Ainsi, pour envahir, coloniser et survivre pendant l'infection, les agents pathogènes bactériens répondent et s'adaptent aux conditions environnementales difficiles de l'hôte mammifère, malgré les réponses immunitaires de l'hôte et la thérapie antimicrobienne (Chakravarty et Massé, 2019) et cela grâce à :

Adhérence et colonisation : *S. aureus* peut réguler plusieurs facteurs de virulence, ce qui lui permet d'adhérer aux narines et de les coloniser, de liser la peau ou les surfaces de la zone infectée et de provoquer de graves infections du sang. L'acide teichoïque facilite ce processus (Weidenmaier et *al.*, 2004).

Invasion : se produit lorsque le système immunitaire est compromis ou lorsqu'il y'a une rupture du tégument physique en sécrétant des toxines exfoliantes, et/ou lorsqu'une inflammation localisée se produit (Otto, 2004).

Évasion : *S. aureus* empêche la phagocytose par les neutrophiles à l'aide de la protéine A, qui a des propriétés antiphagocytaires, ou en sécrétant des protéines anti-opsonis (protéine inhibitrice de la chimiotaxie), la PVL (Panton-Valentin/leucocidine), exprime des superantigènes (entérotoxine et TSST1) et lyse les leucocytes (Haas et *al.*, 2004).

Les biofilms : se développent en impliquant une fixation initiale et une phase de maturation ultérieure, qui sont physiologiquement différentes l'une de l'autre et nécessitent des facteurs spécifiques à chaque phase. Une phase finale de détachement (ou de dispersion) implique le détachement de cellules individuelles ou de groupes de cellules par divers mécanismes et est considérée comme cruciale pour la dissémination des bactéries (Otto, 2008).

Les protéines extracellulaires, telles que les enzymes attribuent à la bactérie sa virulence et les toxines contribuent à sa pathogénicité (Li et *al.*, 2019).

Parmi les **enzymes** produits par *S. aureus* (Quinn et *al.*, 2011) :

- La coagulase : coagule le plasma en convertissant le fibrinogène du plasma en fibrine et pourrait enrober la cellule bactérienne et probablement empêcher la phagocytose.
- L'hyaluronidase : décompose l'acide hyaluronique présent dans les tissus et favorise la propagation de *S. aureus* au sein de l'hôte.
- DNase (désoxyribonucléase) : décompose l'ADN
- La lipase : digère les lipides
- La staphylokinase : dissout la fibrine.
- β -lactamases pour la résistance aux antibiotiques
- Estérase, élastase et phospholipase : facilitent la colonisation et la pathogénicité.
- La leucocidine provoque la destruction cytotytique des phagocytes de certaines espèces animales
- Les toxines du syndrome de choc toxique (TSST) induisent une production excessive de lymphokines, entraînant des lésions tissulaires.

S. aureus est capable de sécréter plusieurs **toxines**, selon la souche, ces toxines peuvent être classées en trois groupes :

Groupe 01 : les superantigènes, **groupe 02** : les toxines exfoliantes et le **groupe 03** : toxines qui agissent sur les membranes cellulaires, notamment la toxine alpha. Il existe plusieurs types d'entérotoxines staphylococciques (SE) qui comprennent les entérotoxines A, D, E et H, et dans une moindre mesure les entérotoxines B, G et I. L'entérotoxine A est le plus souvent associée à une intoxication alimentaire staphylococcique chez l'homme. Les SE sont résistantes à la chaleur et aux conditions de faible pH qui détruisent facilement la bactérie *S. aureus*. Les SE sont également résistantes aux enzymes protéolytiques ; les SE ne sont donc pas affectées dans le tractus gastro-intestinal après l'ingestion (Rola et *al.*, 2016 ; Wu et *al.*, 2016).

C. Gènes de résistance aux antibiotiques chez *S. aureus*

S. aureus fait partie de ces bactéries qui ont acquis une résistance à presque toutes les classes d'antibiotiques grâce à ses facteurs de virulence et de pathogénicité (Chakravarty et Massé, 2019). Cette résistance aux antibiotiques a déclenché une grande détresse dans le

domaine de la médecine humaine et vétérinaire (Osman et *al.*, 2016), car des souches multirésistantes de *S. aureus* sont plus courantes dans les établissements hospitaliers et les exploitations agricoles, mais ont également été détectées dans les aliments pour animaux, la viande de volaille, le lait et les produits laitiers (Lee, 2003).

Il a été rapporté que peu après l'introduction de la pénicilline dans les années 1940, une résistance s'est développée chez *S. aureus*, suivie d'une résistance à la méthicilline (oxacilline) (SARM) et plus récemment aux glycopeptides, par exemple la vancomycine (Monroe et Polk, 2000 ; Bassetti et *al.*, 2017). Le gène (*mecA*) permet également une résistance croisée aux antibiotiques non β -lactamines tels que la clindamycine, la ciprofloxacine, le cotrimoxazole, l'érythromycine et la gentamycine en raison de la présence de sites d'insertion pour les plasmides et les transposons (Nworie et *al.*, 2013).

La résistance à la méthicilline est conférée par le gène *mecA* qui est considéré comme un marqueur moléculaire utile de la résistance à la méthicilline chez tous les staphylocoques (Feng et *al.*, 2008) et qui code pour une protéine de liaison à la pénicilline supplémentaire (PBP2A), une enzyme impliquée dans la synthèse du peptidoglycane de la paroi cellulaire. Le PBP2A a une faible affinité pour pratiquement tous les antibiotiques de la famille des β -lactamines, ce qui lui permet de continuer à catalyser la synthèse de la paroi cellulaire même en présence de β -lactames dans le milieu (Collignon et *al.*, 2006 ; Wielders et *al.*, 2002).

Le gène *mecA* réside sur un élément génétique mobile d'origine hétérologue, la cassette de chromosome staphylococcique *mec* (SCC*mec*). Ces éléments sont caractérisés par la présence de deux loci essentiels : le complexe du gène *mec*, comprenant le déterminant de la résistance à la méthicilline avec des copies intactes ou tronquées des gènes régulateurs *mec* (*mecI*, *mecR1* et *mecR2*) et le complexe du gène *ccr*, qui code pour les recombinaisons spécifiques au site et à l'orientation responsables de la mobilisation de SCC*mec* (Katayama et *al.*, 2000).

En 2011, un nouveau déterminant de la résistance à la méthicilline, le gène *mecC*, a été identifié chez les isolats de *S. aureus* récupérés sur des humains et des bovins laitiers et les lignées clonales de SARM à base de *mecC* sont répandues parmi les animaux de ferme, de compagnie et sauvages, et leur transmission à l'homme a été décrite (Shore et *al.*, 2011 ; García-Álvarez et *al.*, 2011). Le déterminant *mecC* était capable de produire une faible résistance aux antibiotiques β -lactamines tels que la céfoxitine et oxacilline (García-Álvarez et *al.*, 2011 ; Shore et *al.*, 2011).

Ainsi le gène *mecC* partage 70% d'identité nucléotidique avec *mecA* et est porté par un élément SCCmec de type XI. La présence du SARM *mecC* présente un problème potentiel pour le diagnostic car il n'est pas détecté par les tests PCR standards pour *mecA* ou par les tests d'agglutination pour PBP2a (Stegger et *al.*, 2012). Le phénotype de résistance aux antibiotiques du SARM *mecC* diffère aussi légèrement du SARM *mecA* : les isolats porteurs du *mecC* sont plus sensibles que les isolats *mecA* à l'oxacilline mais conservent une résistance à la céfoxitine (Kim et *al.*, 2013 ; Cartwright et *al.*, 2013 ; Skov et *al.*, 2014).

Les clones de SARM sont largement répandus dans les hôpitaux (HA-SARM) et dans la communauté (CA-SARM) (Verkade et *al.*, 2014), ces derniers types sont considérés comme plus virulents. Même si ces deux groupes présentent des caractéristiques microbiologiques similaires, ils diffèrent au niveau des facteurs de risque, de la structure génétique, des déterminants de la virulence et de la résistance aux antibiotiques. Les éléments génétiques mobiles (EGM) impliquent 15 à 20 % du génome de *S. aureus*, dont les bactériophages, éléments SCCmec, plasmides ou transposons (Lindsay, 2014). Les souches CA-SARM portent l'élément de type IV ou V *Staphylococcus* chromosomal cassette *mec* (SCCmec) et généralement possèdent la toxine de Panton-Valentin/leucocidine (PVL) et ne sont pas multirésistants aux antibiotiques. Les espèces HA-SARM sont porteuses du SCCmec de type I, II ou III, ne possèdent pas la PVL et présentent une multirésistance aux antibiotiques. La PVL est une toxine formant des pores codés sur les gènes des bactériophages et est transmise à *S. aureus*, qui est associé à une virulence accrue chez l'homme (Aung et *al.*, 2019).

Ces organismes (SARM) sont également souvent résistants à la plupart des agents antimicrobiens couramment utilisés, notamment les aminoglycosides, les macrolides, le chloramphénicol, la tétracycline et les fluoroquinolones. En outre, les souches de SARM doivent être considérées comme résistantes à toutes les céphalosporines, céphèmes et autres β -lactames (comme l'ampicilline-sulbactam, l'amoxicilline-acide clavulanique, la ticarcilline-acide clavulanique, la pipéracilline-tazobactam et les carbapénèmes), quels que soient les résultats des tests *in vitro* obtenus avec ces agents (Mandell et *al.*, 1995 ; John, 2003)

Les gènes de résistance aux antibiotiques de *S. aureus* sont détectés par PCR et comprennent les gènes de résistance courants ERY (*ermA*, *ermB*, *ermC*) et les gènes de résistance TET (*tetL*, *tetK*, *tetM*, *tetO*) (Li, 2019), les macrolides par la production de

méthylases d'Erm (codé par les gènes *erm*) (Benito et *al.*, 2014), les lincosamides ou le triméthoprim et sulfaméthoxazole (Argudín et *al.*, 2011).

C.1 Résistance aux β -lactamines

S. aureus résiste aux β -lactamines en produisant une pénicillinase et des protéines de liaison à la pénicilline modifiées (PBP) appelée PBP2' ou PBP2a. La pénicillinase *blaZ* hydrolyse l'anneau β -lactam des β -lactamines et les rendent inactifs, en fonction de leur différence d'hydrolyse la pénicillinase peut être classée en quatre classes différentes : A, B, C et D (localisées sur des plasmides) (McCallum et *al.*, 2010).

C.2 Résistance à la vancomycine

Elle est associée à des gènes *van*, transportés sur des éléments génétiques mobiles, le gène *vanA* code pour une résistance de haut niveau à la vancomycine et à la teicoplanine ; le gène *vanB* code pour une résistance à la vancomycine uniquement ; les gènes *vanC1*, *vanC2* et *vanC3* codent pour une résistance de faible niveau à la vancomycine ; *vanD* est un nouveau gène, trouvé chez *Enterococcus (E) faecium*, qui code pour la résistance à la vancomycine ; *vanE* est un autre nouveau gène, trouvé chez *E. faecalis*, qui code pour une résistance de faible niveau à la vancomycine (Lina et *al.*, 1999 ; Mišić' et *al.*, 2017).

C.3 Résistance aux macrolides

Le gène *mphC* code pour une phosphotransférase C. la résistance aux macrolides est provoquée par la méthylation de l'ARNr 23s codé par le gène *ermA* (Lina et *al.*, 1999 ; Mišić' et *al.*, 2017).

C.4 Résistance à la tétracycline

Les mécanismes impliqués sont la protection ribosomique codée par les gènes *tetM* et *tetO* (portés sur le chromosome) par l'élongation des protéines et l'activation de la pompe d'efflux codée par les gènes *tetK* et *tetL* (situés sur les plasmides) (McCallum et *al.*, 2010).

I.1.1.2 *Staphylococcus* à Coagulase Négative (SCoN)

Bien que *S. aureus* soit positif à la coagulase et est considéré comme le principal agent pathogène, d'autres espèces, qui n'ont pas la capacité de synthétiser l'enzyme coagulase, ont longtemps été d'un intérêt médical mineur. La distinction phénotypique entre les coagulases négatives et positives a été jugée suffisante pour déterminer l'action clinique, car la pathogénicité de *Staphylococcus sp* semblait être liée à la production de coagulase. Toutefois,

avec l'importance croissante des *Staphylococcus* à coagulase négative (SCoN) et le nombre de nouvelles espèces décrites, cette différenciation est devenue de plus en plus contestable, ce qui nécessite une étude de la capacité toxigène de toutes les espèces de *Staphylococcus* (Piessens et *al.*, 2011 ; Costa et *al.*, 2012 ; Moura et *al.*, 2012).

En outre, les *Staphylococcus* à coagulase négative (SCoN), qui étaient considérés comme bactéries commensales cutanées inoffensives avant les années 1970, ont gagné en importance et sont classés comme causes importantes d'infections humaines résistantes aux antibiotiques (Osman et *al.*, 2016). *S. epidermidis* est l'espèce la plus répandue des staphylocoques à coagulase négative (Archer, 1995). En plus du SARM, les staphylocoques à coagulase négative résistants à la méthicilline (SCoN-RM) se sont également répandus dans le monde entier et constituent une cause importante d'infection nosocomiale (Jaffe et *al.*, 2000).

A. Résistance à la méthicilline et aux quinolones

La prévalence de la résistance a augmenté rapidement au cours des trois dernières décennies et a été attribuée à l'effet de sélection de l'utilisation croissante des antibiotiques β -lactamines. Moller, (1988) a démontré que l'augmentation de la prévalence des *S. epidermidis* résistants était médiée par les plasmides. Certains chercheurs (Fukuchi, 1994) ont attribué la résistance de *S. epidermidis* à l'action du gène *mecA*. Cependant, Mempel et ses collègues (Mempel et *al.*, 1994) ont démontré que des isolats de *S. epidermidis* pouvaient être résistants à la méthicilline et ne pas avoir de transcription *mecA*.

B. Résistance aux quinolones

Des souches de *S. epidermidis* résistantes aux quinolones, en particulier à la ciprofloxacine, sont apparues, comme pour le *S. aureus* résistant à la méthicilline (Kotilainen et *al.*, 1990). Cette résistance a été secondaire à la large utilisation des quinolones, tant dans la communauté qu'à l'hôpital.

C. Résistance aux aminoglycosides

Chez les Staphylocoques le mécanisme de résistance aux aminoglycosides le plus fréquemment rencontré se base sur la sécrétion d'enzyme bifonctionnelle AAC(69)/APH(20), codée par le gène *aac(69)-aph(20)*, et qui inactive une large gamme d'aminoglycosides cliniquement utiles par exemple : amikacine, gentamycine, netilmycine et tobramycine (Faber et *al.*, 1990 ; Martineau et *al.*, 2000)

D. Résistance aux macrolides, lincosamides et streptogramin (MLS)

Plusieurs gènes sont impliqués dans la résistance à l'érythromycine, notamment chez les staphylocoques et les streptocoques. La résistance à l'érythromycine chez les staphylocoques est généralement associée avec la résistance à d'autres macrolides, à lincosamides, et au streptogramin de type B (MLS). Cette résistance est médiée par une simple altération du ribosome, la diméthylation-N6 d'un résidu adénine dans l'ARNr23S. Cette diméthylation entraîne un changement de conformation du ribosome, rendant la souche résistante à la plupart des antibiotiques du groupe MLS.

Trois gènes (*ermA*, *ermB* et *ermC*) codants pour des méthylases ont été découverts chez les staphylocoques (Fidalgo *et al.*, 1990 ; Mempel *et al.*, 1994). Le gène inductible *ermA* se trouve sur le transposon Tn554 et possède un seul site spécifique d'insertion dans l'ARNr 23S dans le chromosome de *S. aureus* (Hiramatsu *et al.*, 1997). Le gène *ermB* se trouve sur le transposon Tn551 d'un plasmide de pénicillinase (Mempel *et al.*, 1994). Le gène *ermC* est responsable de la résistance constitutive ou inductible à l'érythromycine et est généralement situé sur des petits plasmides (Lachapelle *et al.*, 1994 ; Gahtan *et al.*, 1995).

Un autre mécanisme de résistance inductible à l'érythromycine est conféré par le gène *msrA*, qui code pour une pompe d'efflux dépendante de l'ATP (Khardori *et al.*, 1995). La résistance simultanée aux macrolides, aux lincosamides et aux streptogramines de type B (résistance MLS) dans les isolats cliniques est une forme de résistance acquise due à plusieurs variantes évolutives des gènes *erm* qui code pour une méthylase de l'ARNr 23S (Lachapelle *et al.*, 1994).

I.2. La résistance aux antibiotiques chez les Gram négatives

Les pathogènes Gram négatifs sont particulièrement inquiétants car beaucoup d'entre eux sont maintenant antibiotiquement résistants. Les plus graves des infections surviennent dans les établissements de soins de santé et sont causées par le groupe d'organismes Enterobacteriaceae, principalement : *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter*. Même les agents pathogènes Gram négatifs présents dans la communauté sont de plus en plus multirésistants, comme les *E. coli* producteurs de β -lactamases à spectre étendu (Rossolini *et al.*, 2014).

Les phénotypes de résistance chez les bactéries peuvent être dus à la présence de gènes uniques (par exemple, les carbapénémases) ou plus souvent, à une combinaison de différents

mécanismes de résistance. Par exemple, dans le cas de la résistance aux carbapénèmes, la régulation négative de la porine entraîne une résistance à l'imipénème, mais ce n'est qu'en combinaison avec une augmentation de l'efflux qu'elle entraîne une résistance à la fois au méropénème et au doripénème (Nicolau, 2008).

Il y'a différents mécanismes de résistance aux antibiotiques chez les bactéries à Gram négatives et qui sont illustrés dans la figure 4 ci-dessous. L'un des principaux mécanismes limitant l'efficacité des antibiotiques chez les bactéries Gram négatives est la présence d'une paroi cellulaire complexe, composée d'une membrane externe et d'une membrane cytoplasmique avec des propriétés physico-chimiques différentes qui sont séparés par une couche de peptidoglycane réticulé (Impey et *al.*, 2020)

Contrairement aux bactéries Gram positives, les bactéries Gram négatives possèdent une bicouche hydrophobe de la membrane externe, contenant des molécules de lipopolysaccharide (LPS), des phospholipides et des protéines de la membrane externe (OMP), dont des protéines formant des pores (Delcour, 2009). Ainsi, cette membrane externe dynamique agit comme une barrière à plusieurs antibiotiques qui sont généralement efficaces contre les bactéries Gram positives, comme la vancomycine (Blair et *al.*, 2015).

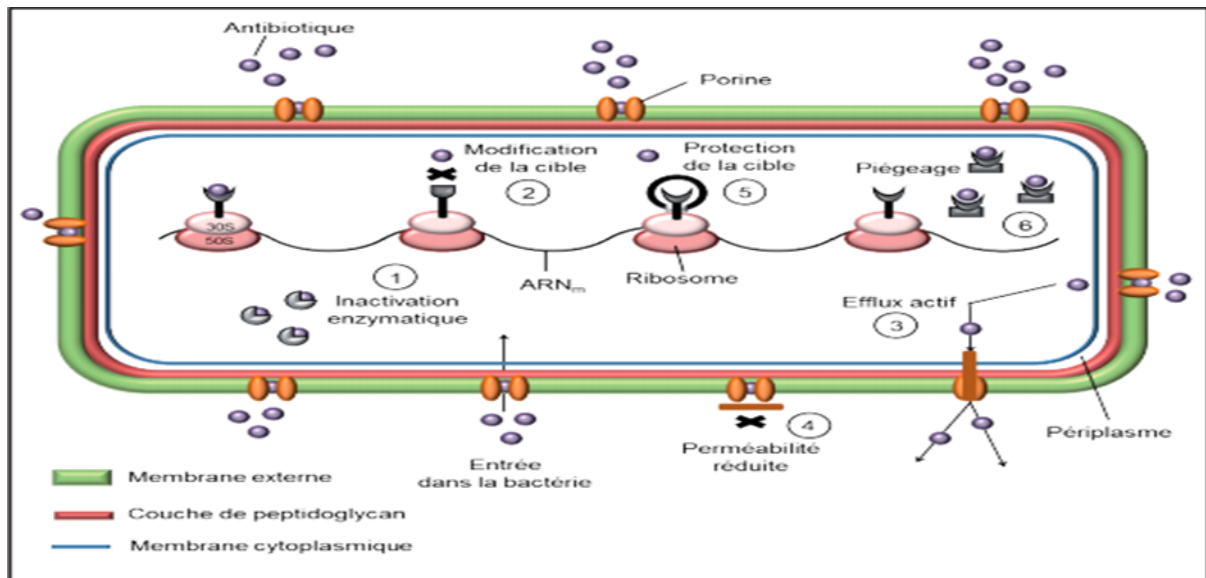
Les molécules ayant des cibles cytoplasmiques sont restreintes par le fait qu'elles ne peuvent pas pénétrer dans le périplasme et dans le cytoplasme à cause de la membrane interne. Par ailleurs, les polymyxines et certains peptides cationiques exercent leurs effets sur la couche externe de la membrane elle-même en se liant au lipopolysaccharide (LPS) et aux phospholipides, ce qui déstabilise la membrane cellulaire interne (Trimble et *al.*, 2016).

La plupart des antimicrobiens doivent traverser cette membrane externe pour atteindre leurs cibles. Les antibiotiques hydrophiles, dont les β -lactames, utilisent des protéines de canal telles que les porines pour pénétrer dans le périplasme (Zgurskaya et *al.*, 2015). Tandis que les antibiotiques hydrophobes, tels que les aminoglycosides et le chloramphénicol utilisent une voie de diffusion à travers les lipides, mais d'autres molécules hydrophobes et polaires peuvent également interagir avec les LPS et avoir une entrée limitée (Schurek et *al.*, 2008).

La couche de peptidoglycane, qui recouvre l'espace périplasmique, est généralement utilisée comme cible des antibiotiques en raison de son absence chez l'homme (Domínguez-

Gil et *al.*, 2016). L'augmentation des cas de résistance aux antibiotiques qui ciblent la couche de peptidoglycane a suscité de graves inquiétudes.

La résistance aux antibiotiques peut être médiée par les porines, bien qu'il existe des porines qui permettent le transport de solutés spécifiques, les canaux de diffusion généraux sont les plus souvent associés à la résistance aux antibiotiques (Fernández et Hancock, 2012).



1 : inactivation enzymatique de l'antibiotique, 2 : modification de la cible de l'antibiotique, 3 : efflux actif de l'antibiotique, 4 : perméabilité réduite, 5 : protection de la cible de l'antibiotique, 6 : piégeage de l'antibiotique.

ARN_m : acide ribonucléique messager

Figure 3: différents mécanismes de résistance aux antibiotiques chez les bactéries Gram négatives (Guardabassi et Courvalin, 2006).

I.2.1 La résistance aux β -lactamines

Certains outils que possèdent les agents pathogènes à Gram négatifs les rendent si difficiles à traiter comme :

I.2.1.1 Les β -lactamases

Les BLSE sont des enzymes dérivées de plasmides que l'on trouve exclusivement dans les organismes Gram négatifs, principalement *K. pneumoniae*, *E. coli*, *Proteus mirabilis* et d'autres bacilles Gram négatifs. Il existe de nombreuses variétés de BLSE, qui se distinguent par leur activité contre certains substrats de β -lactamines.

Les BLSE sont détectées sur la base de la résistance conférée aux céphalosporines de troisième génération et de la capacité de l'inhibiteur de la β -lactamase, généralement le clavulanate, à bloquer cette résistance (CLSI, 2010). La meilleure option thérapeutique pour

les organismes produisant des BLSE sont les carbapénèmes (imipénème et méropénème). L'utilisation de céphalosporines, y compris la céfépime et le pipéracilline tazobactam, doit être évitée même si l'organisme présente une sensibilité *in vitro*. Les plasmides responsables de la production de BLSE sont souvent porteurs de gènes codant pour la résistance à d'autres classes d'antibiotiques comme les aminoglycosides, ce qui rend les organismes producteurs de BLSE multirésistants.

I.2.1.2 β -lactamases AmpC

Les entérobactéries ont été divisées en deux groupes : les entérobactéries du groupe I, dans lesquelles les enzymes AmpC chromosomiques inductibles ou dérèprimées sont rares ou absentes (comme *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella spp.* et *Shigella spp.*) ; et les Enterobacteriaceae du groupe II, dans lesquelles les enzymes AmpC chromosomiques inductibles ou dérèprimées sont courantes (comme *Citrobacter freundii*, *Enterobacter spp.*, *Morganella morganii*, *Serratia spp.*, *Hafnia alvei* et *Providencia spp.*). (Katrijn et al., 2019). Ces enzymes sont à médiation chromosomique ou plasmidique. Le site des organismes produisant ces enzymes sont regroupés cliniquement par l'acronyme "SPACE" - *Serratia*, *Pseudomonas* ou *Proteus*, *Acinetobacter*, *Citrobacter* et *Enterobacter*.

Alors que la production de β -lactames d'amplification C peut être constitutive, mais une production inductible peut se produire lors de l'exposition à des β -lactames particuliers comme les céphalosporines. Ainsi, l'organisme peut devenir résistant au traitement. Contrairement aux BLSE, les β -lactamases AmpC ne sont pas inhibées par les inhibiteurs de β -lactamase tels que l'acide clavulanique, ce qui rend l'association β -lactame et β -lactamase inefficace. Le céfépime et les carbapénèmes constituent les options thérapeutiques disponibles (Tamma et al., 2013).

I.2.1.3 Carbapénémase

Les carbapénèmes, longtemps considérés comme le dernier rempart de notre arsenal contre les agents pathogènes Gram négatifs résistants, sont aujourd'hui souvent rendus inefficaces avec l'apparition de la carbapénémase (hydrolyse des carbapénèmes).

Les deux groupes importants de carbapénémases sont les suivants : *Klebsiella pneumoniae* carbapénémases (KPC) et les métallo- β -lactamases. Les enzymes KPC résident sur des plasmides transmissibles et peuvent être transmises par *K. pneumoniae* à d'autres

genres tels qu'*E. coli*, *P. aeruginosa* et *Enterobacter* spp (Navon-Venezia et al., 2006). Ces enzymes confèrent une résistance à la plupart des β -lactamases (Yigit et al., 2001).

Les métallob- β -lactamases (MBLs), ainsi nommées en raison de leur dépendance au zinc pour une hydrolyse efficace des β -lactamines, peuvent être codées par le chromosome et apparaître naturellement, ou acquises, résidant sur des plasmides. Les organismes producteurs de carbapénémase peuvent provenir de souches précédemment négatives pour la carbapénémase en acquérant des gènes d'autres bactéries par le biais d'éléments génétiques mobiles d'autres bactéries par le biais d'éléments génétiques mobiles (Nouér et al., 2005).

I.2.2 Résistance aux quinolones/fluoroquinolones

Il existe différents mécanismes de résistance aux quinolones dont les modifications des topoisomérases de l'enzyme cible causées principalement par des mutations qui réduisent l'affinité des quinolones sans compromettre la fonction de l'enzyme et qui sont le mécanisme le plus courant de résistance acquise aux quinolones et ont déjà été signalées chez plusieurs espèces bactériennes (Roberts et Schwarz, 2017). Les mutations liées à la résistance sont regroupées dans des régions discrètes des sous-unités enzymatiques, appelées régions déterminant la résistance à la quinolone (RDRQ) (Santajit et Indrawattana, 2016).

Une résistance accrue aux quinolones chez les bactéries Gram négatives due à des variations dans les protéines de leur membrane externe de sorte qu'elles réduisent l'absorption de l'antibiotique et cela par réduction de la perméabilité ou efflux actif (Theuretzbacher et al., 2020). La protection de la cible de la topoisomérase est assurée par une famille de petites protéines à répétition penta-peptidique, appelées protéines Qnr, qui se fixent aux cibles de la topoisomérase et les protègent contre l'interaction avec les quinolones (Bansal et al., 2017).

Le mécanisme le plus récemment identifié de résistance aux quinolones est l'inactivation par modification de l'antibiotique (Ghai et Ghai, 2017). L'acétylation est effectuée par une variante de l'enzyme AAC codée par un plasmide, qui a la capacité d'acétyler certaines molécules de quinolones en plus des aminoglycosides, et qui ont des amines secondaires non substituées comme la ciprofloxacine et la norfloxacine (Ruiz et al., 2012).

I.2.3 Résistance aux aminoglycosides

Le mécanisme le plus important pour l'émergence de la résistance aux aminoglycosides chez les bactéries aérobies Gram négatives est l'inactivation enzymatique.

Les enzymes modificatrices jouent un rôle majeur dans la résistance aux aminoglycosides (Naha et *al.*, 2020). Ces enzymes sont souvent d'origine plasmidique ou transposonique, il existe des acétyltransférase et phosphotransférase dans ce groupe (Gonzalez et *al.*, 2019). Les enzymes modifiées sont responsables du degré élevé de résistance à la gentamicine chez l'entérocoque (Gil-Gil et *al.*, 2020).

Le mécanisme des modifications de la cible ribosomale est crucial dans la résistance à la streptomycine, la cible de la streptomycine n'est pas reliée à la sous-unité ribosomale 30S en raison de mutations dans la sous-unité 30S du ribosome, chez les entérocoques, ce genre de résistance à la streptomycine est essentielle (Breijyeh et *al.*, 2020).

I.2.4 Résistance aux polymyxines

De nombreuses bactéries qui acquièrent une résistance à la polymyxine par exposition à l'antibiotique, notamment *K. pneumoniae*, *Salmonella enterica*, *A. baumannii* et *P. aeruginosa*, présentent une surexpression de l'opéron pmrCAB (ou d'une espèce équivalente) (Choi et Ko, 2014). L'un des produits du gène, la phosphoéthanolamine transférase (PmrC), est responsable de la modification du lipide A (Macfarlane et *al.*, 2000). Cette modification abaisse la charge négative du LPS, ce qui entraîne des niveaux variables de résistance à la colistine et aux autres polymyxines (Choi et Ko, 2014). Mais aussi, la résistance à la polymyxine peut être acquise et médiée par un gène mobile de résistance à la colistine (*mcr-1*) et ses variantes. Ce mécanisme a été décrit à l'origine chez *E. coli* (Liu et *al.*, 2016), mais il a été largement signalé dans d'autres isolats de bactéries Gram négatives (Doumith et *al.*, 2016).

I.2.5 Résistance aux tétracyclines

Par la réduction de la perméabilité de la membrane résultant des mutations chromosomiques spontanées chez les bactéries à la suite du développement de la résistance pour empêcher l'absorption des antibiotiques (Das et *al.*, 2020). Les organismes peuvent également développer une résistance aux tétracyclines en fonction des systèmes de pompe actifs (Böhm et *al.*, 2020).

La protection du ribosome est le deuxième mécanisme important qui conduit à la résistance aux tétracyclines (Sivagami et *al.*, 2020) avec les gènes *tetM*, *tetO*, *tetQ*, *tetS* qui inhibent l'activité de l'antibiotique en modifiant un ribosome cytoplasmique qui se lie à la tétracycline (Kapoor et *al.*, 2017). Ils sont d'origine plasmidique et d'origine chromosomique (Poole, 2007).

I.2.6 La résistance aux macrolides, lincosamides, streptogramines (MLS)

Les bactéries Gram négatives sont naturellement résistantes aux antibiotiques du groupe MLS par la modification de la cible ribosomale (courant chez les bactéries Gram positives) (Linkevicius et *al.*, 2016 ; Zhanel et *al.*, 2020). Ou par l'inactivation de l'antibiotique par l'activité enzymatique car les cellules bactériennes possédant des enzymes jouent un rôle critique dans la résistance, comme l'érythromycine, et d'autres macrolides (Cesur et Demiröz, 2013).

Chapitre III :
La transmission
de la résistance
aux
antibiotiques

I. De l'animal à l'homme

Le succès des antibiotiques dans le traitement et la prévention des maladies chez les animaux de compagnie et les animaux destinés à l'alimentation a contribué à contrôler la propagation des maladies infectieuses et à améliorer la qualité de vie de nombreux animaux. Cependant, la création et la surutilisation subséquente d'une grande variété d'antibiotiques depuis le siècle dernier a conduit au développement de souches de bactéries résistantes aux antibiotiques (Kools et *al.*, 2008).

Les infections causées par des bactéries résistantes aux antibiotiques sont trop fréquentes ce qui nuit au traitement efficace des personnes et des animaux. La résistance aux antibiotiques a augmenté en raison de l'introduction d'antibiotiques dans un environnement (Butler et *al.*, 2006). Il est essentiel d'examiner l'utilisation de ces médicaments chez l'homme que chez l'animal pour préserver l'efficacité des antibiotiques. Les résistances qui évoluent au sein des bactéries affectant les animaux ont le potentiel d'affecter l'homme. Les personnes qui travaillent dans des fermes ou des installations de production d'animaux destinés à l'alimentation courent un risque plus élevé d'infection par une souche résistante de bactéries (Sarmah et *al.*, 2006)

De nombreux antibiotiques utilisés dans l'alimentation animale sont également utilisés pour traiter des maladies chez l'homme. Une telle utilisation d'antibiotiques dans l'alimentation animale a suscité l'inquiétude parmi les autorités de santé publique et les consommateurs, car une telle utilisation à grande échelle des antibiotiques peut entraîner l'apparition d'une résistance bactérienne dans le tractus gastro-intestinal (TGI) de ces animaux. Cette résistance peut également être transmise aux habitants bactériens du tractus gastro-intestinal par la chaîne alimentaire (Marshall et Levy, 2011).

L'administration de faibles doses d'antibiotiques tels que la tétracycline et la pénicilline aux volailles, aux porcs et aux veaux pour favoriser leur croissance a entraîné une augmentation du réservoir de bactéries résistantes. Ces bactéries résistantes provenant des animaux peuvent atteindre la population humaine. Ce phénomène est bien établi avec les infections à *Salmonella*. Les bactéries résistantes aux antibiotiques se propagent de l'animal à l'homme de manière indirecte par l'intermédiaire des aliments (par exemple, par la contamination des carcasses lors de l'abattage) ou, plus rarement, par contact direct (agriculteurs, ouvriers d'abattoir) (Spellbery, 2008).

La résistance à d'autres antibiotiques a été détectée au fur et à mesure de l'introduction de nouveaux agents à des fins thérapeutiques et de stimulation de la croissance (Anderson, 2000). Récemment, il a été démontré que l'administration de faibles doses d'ampicilline à des poulets sélectionnait des niveaux élevés de résistance à cet antibiotique (Rosen, 2003).

Plusieurs nouvelles initiatives doivent être mises en place pour enrayer la tendance alarmante de la résistance aux antibiotiques et pour faire face au nombre toujours croissant d'infections causées par des bactéries résistantes (CDC, 2008), comme l'utilisation appropriée et judicieuse des antibiotiques en médecine vétérinaire et humaine et dans les secteurs agricole (Phillips et *al.*, 2004). L'OMS a publié des principes mondiaux pour la maîtrise de l'antibiorésistance chez les animaux destinés à l'alimentation (WHO, 2000). Si les antibiotiques sont nécessaires pour prévenir, contrôler ou traiter une maladie, envisager d'abord l'utilisation d'antibiotiques qui sont moins importants pour la médecine humaine ou vétérinaire (WHO, 2009).

Préserver la santé des animaux afin d'éviter l'utilisation d'antibiotiques (Rosen, 2003) et en améliorant l'hygiène, la biosécurité et en prévenant les maladies par l'utilisation de vaccins ou les probiotiques car les bactéries probiotiques pourraient affecter la microflore intestinale par l'exclusion compétitive des bactéries pathogènes, la production de produits antibactériens ou d'enzymes qui agissent sur les bactéries intestinales, ou la production d'autres métabolites qui affectent les commensaux intestinaux et ainsi on réduit et on élimine le besoin d'antibiotiques pour le traitement ou la prophylaxie (Anonymous, 2006).

II. De l'environnement à l'homme

La dissémination sauvage de la résistance aux antimicrobiens parmi les populations bactériennes constitue un problème croissant dans le monde entier. Les bactéries résistantes aux antimicrobiens sont beaucoup plus susceptibles d'être trouvées dans les aliments crus ou mal cuits que dans les aliments cuits (Losio et *al.*, 2015), ainsi plusieurs rapports épidémiologiques ont mis en cause divers aliments comme vecteurs associés aux maladies d'origine alimentaire causées par des agents pathogènes tels que *E. coli* (Marder et *al.*, 2014b) ou d'autres germes porteurs de gènes acquis et confèrent une résistance à des antibiotiques cliniquement pertinents, certains d'entre eux étant habituellement associés à des antibiotiques cliniquement importants, certains d'entre eux étant généralement associés à des éléments

mobiles et pouvant être transférés à des agents pathogènes présentant une résistance acquise (Nayme et *al.*, 2017).

Aussi, l'irrigation avec des eaux usées non traitées joue également un rôle important dans la contamination des produits frais (Castro-Rosas et *al.*, 2012), tel que les légumes et les fruits, qui peuvent être contaminés par de l'eau, des engrais insuffisamment traités ou peuvent être compromis par l'utilisation de biocides pendant leur culture, leur transformation et leur distribution (Beuchat, 1996 ; Franz et *al.*, 2010).

De même, les animaux peuvent également être infectés par de l'eau ou des aliments contaminés par des déchets d'origine humaine ou animale ou par des travailleurs porteurs de germes. L'une des voies d'entrée possibles de divers microbes pourrait être la manipulation de la viande et des produits à base de viande en adoptant de mauvaises mesures d'hygiène inappropriées pendant la manipulation et la transformation (Kiranmayi et *al.*, 2011) et ainsi certains types courants de comportement humain jouent un rôle dans la promotion de la résistance.

Il a été suggéré que le transfert de la résistance aux antibiotiques dans le tractus gastro-intestinal humain est toujours possible ainsi, si nos aliments contiennent un nombre important de bactéries résistantes, cela pourrait être une source importante de contamination par des bactéries résistantes, elle pourrait être une source importante de résistance dans la flore fécale (Johnson et *al.*, 2007). Sommer et al. (2010) ont montré que de nombreux gènes de résistance provenant de cultures de protéobactéries, issues de l'alimentation humaine et de la flore fécale, ont été identifiés.

Les organismes résistants aux antibiotiques pénètrent dans les milieux aquatiques à partir de sources humaines et animales. Ces bactéries sont capables de diffuser leurs gènes dans les microbes indigènes de l'eau, qui contiennent également des gènes de résistance. Au contraire, de nombreux antibiotiques d'origine industrielle ou proviennent des hôpitaux, des fermes, les exploitations agricoles et les procédures de désinfection et de gestion des eaux usées peuvent circuler dans les milieux aquatiques, altérant potentiellement les écosystèmes microbiens (Baquero et *al.*, 2008).

Les bactéries pathogènes et potentiellement pathogènes pour l'homme et l'animal sont constamment rejetées avec les eaux usées dans l'environnement aquatique. Un grand nombre de ces organismes abritent des gènes de résistance aux antibiotiques, éventuellement insérés

Chapitre III : La transmission de la résistance aux antibiotiques

dans leur matériel génétique mobile (plasmides, transposons, intégrons) capables de se propager parmi les communautés bactériennes de l'eau et du sol (Alonso et *al.*, 2001).

L'eau constitue non seulement un moyen de dissémination d'organismes résistants aux antibiotiques parmi les populations humaines et animales, puisque l'eau potable est produite à partir des eaux de surface, mais aussi la voie par laquelle les gènes de résistance sont introduits dans les écosystèmes bactériens naturels, en outre, l'introduction (et l'accumulation progressive) dans l'environnement d'agents antimicrobiens, de détergents, de désinfectants et de résidus de la pollution industrielle, tels que les métaux lourds, contribue à l'évolution et à la propagation de ces organismes résistants dans l'environnement aquatique (Cabello, 2006).

Les bactéries de l'environnement constituent une source illimitée de gènes qui peuvent agir comme gènes de résistance lorsqu'ils pénètrent dans les organismes pathogènes (D'Acosta et *al.*, 2006). Une politique visant à prévenir ou à empêcher le mélange de bactéries d'origine humaine et animale avec les bactéries de l'environnement semble souhaitable. La figure 4 ci-dessous résume le cycle de transmission de la résistance aux antibiotiques.

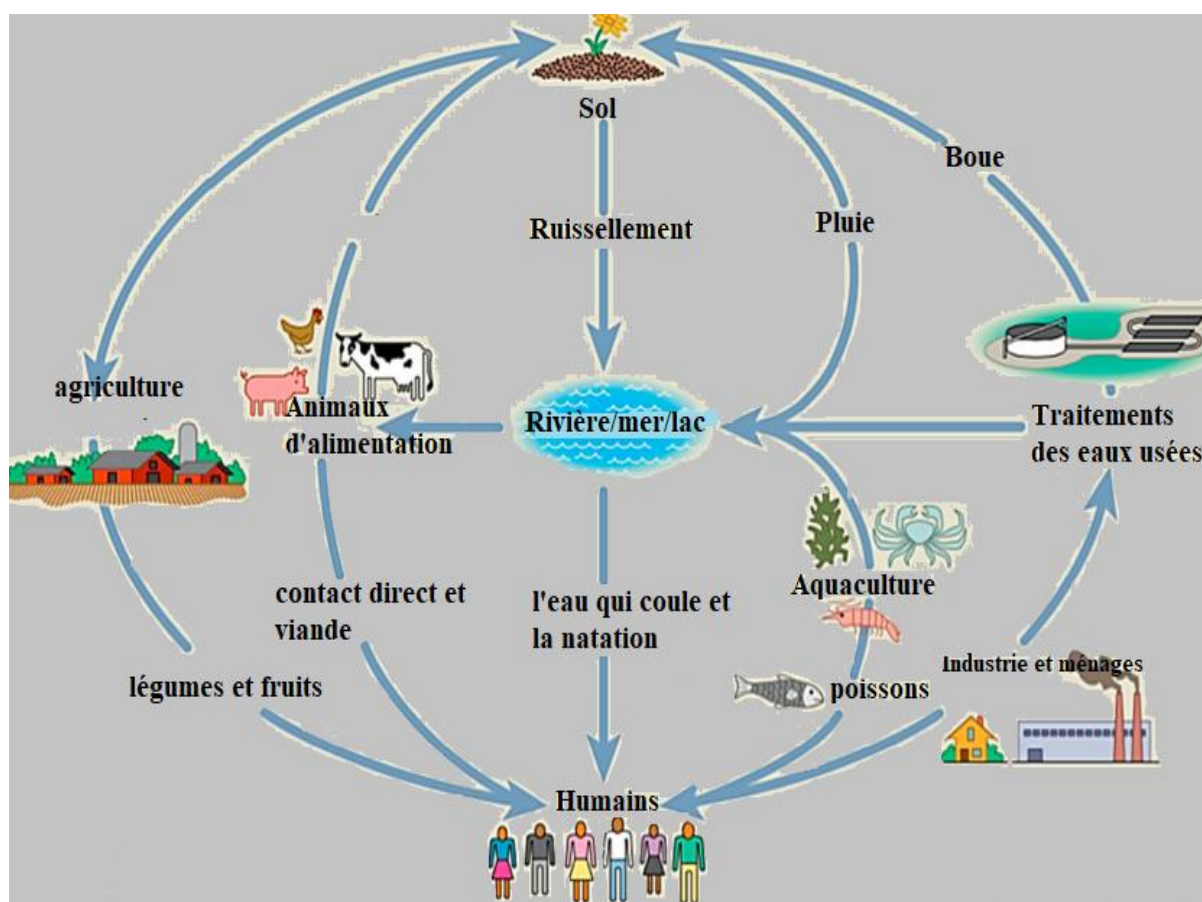


Figure 4 : cycle de transmission de la résistance aux antibiotiques (Dantas et Sommer, 2014)

III. Les facteurs influençant la résistance bactérienne

A cause de l'utilisation de doses sous-thérapeutiques (principalement en raison d'une prescription inadéquate ou d'une l'observation des prescriptions par les patients), ce qui crée une situation où des souches hautement résistantes sont sélectionnées séquentiellement; et la fourniture de médicaments de mauvaise qualité (inférieurs aux normes), dont ni le prescripteur ni le patient ne sont conscients, ni le patient n'est au courant, ce qui exerce une pression sélective sous-inhibitrice pour tuer les bactéries. D'autres problèmes incluent les conditions créées par l'homme (environnements chauds, humides et non hygiéniques) qui sont non seulement propices à la propagation des agents pathogènes, mais aussi favorables aux organismes résistants qui portent des gènes de résistance (Moran et *al.*, 2005).

L'autre facteur est le mauvais stockage qui conduit à la dégradation du médicament par la chaleur et/ou l'humidité au cours de la distribution. En outre, la surpopulation et le manque de ressources pour un contrôle efficace des infections dans de nombreux établissements de santé alimentent les épidémies hospitalières d'organismes résistants, tels que le staphylocoque résistant à la méthicilline. Tels que les staphylocoques résistants à la méthicilline, les bâtonnets multirésistants, les souches résistantes à la vancomycine, etc et autres (Kieninger et Lipsett, 2009).

L'utilisation excessive d'antibiotiques dans le bétail et l'élevage est le principal facteur d'apparition de bactéries résistantes aux antibiotiques d'origine alimentaire, et les aliments d'origine animale contaminés constitueraient des vecteurs potentiels de transmission de bactéries résistantes à l'homme, notamment à la pénicilline, la gentamicine, l'érythromycine, la tétracycline, le triméthoprim-sulfaméthoxazole et le chloramphénicol comme facteurs de croissance ou de traitement (Safarpour Dehkordi et *al.*, 2017 ; Sergelidis et Angelidis, 2017).

Les changements mondiaux qui affectent la croissance démographique, le mode de vie, le commerce international des denrées alimentaires, la production et la transformation des aliments, les pratiques agricoles et d'élevage sont devenus une menace sur l'émergence des maladies d'origine alimentaire (De Buyser et *al.*, 2001).

La manipulation incorrecte des aliments et les pratiques peu hygiéniques des préposés à la manipulation des aliments pendant la production, la transformation et la distribution ont contribué à des épisodes d'intoxication alimentaire (Angelillo et *al.*, 2000).

*Matériel
et méthodes*

Partie I : caractérisation phénotypique du profil d'antibiorésistance des souches *Escherichia coli* isolées à partir de différentes origines

1. Technique de prélèvement

Plusieurs prélèvements d'origine clinique (infections urinaires communautaires) et alimentaire (viande de bœuf crue) ont été collectés entre janvier et juillet 2020 dans la ville d'Oum El-bouaghi, Algérie.

1.1 Echantillon d'origine alimentaire

100 échantillons de viande de bœuf ont été prélevés de manière aseptique dans plusieurs boucheries de la ville d'Oum El-Bouaghi, un couteau stérile a été utilisé pour découper les échantillons de viande et sont mis dans des sachets stériles et transportés au laboratoire dans des conditions aseptiques à 4°C et analysés dans les deux heures suivant l'échantillonnage.

1.2 Echantillon d'origine clinique

La technique de recueil des urines doit être rigoureuse, pour éviter les contaminations qui faussent l'interprétation des résultats (Cavallo et Garrabé, 2003). La méthode consiste à prélever, après toilette locale des organes génitaux externes, le second jet d'urines dans un récipient stérile.

Chaque prélèvement urinaire fait l'objet d'un ECBU de routine comportant les éléments suivants :

- ❖ Une uroculture et dénombrement de germes sur milieux non sélectif (gélose PCA, gélose Columbia ou gélose nutritive) avec une bactériurie supérieure ou égale à 10^5 UFC/ml.
- ❖ Un examen direct permettant d'apprécier la leucocyturie et les éléments figurés de l'urine (hématies, cristaux, cylindres...) supérieure ou égale à 10^4 éléments/ml (Tagajdid et *al.*, 2010) (figure 06).

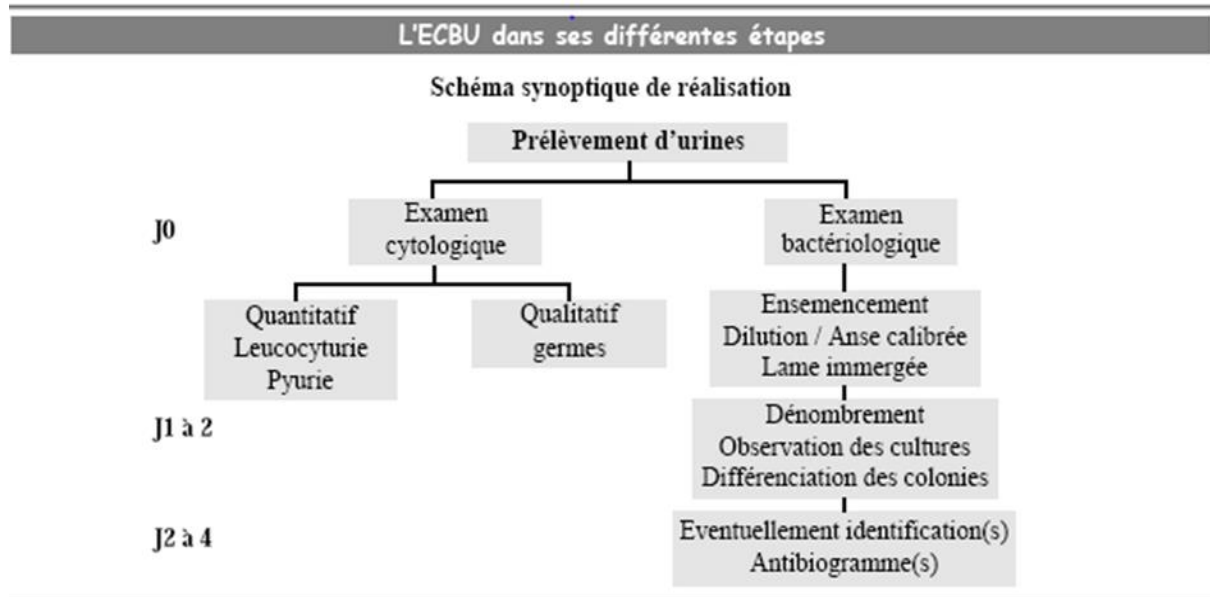


Figure 06 : Schéma récapitulatif des différentes étapes d'un ECBU (Tagajdid et *al.*, 2010)

II. Isolement et purification des souches

- ❖ **Echantillon d'origine clinique**, dix millilitre (10 ml) d'échantillon d'urine ont été recueillis dans un récipient stérile et mis en culture sur une gélose Mac-Conkey par un ensemencement en stries à l'aide d'une anse de platine. Les densités de croissance d'*E. coli* supérieures ou égales à 10^4 UFC/ml (unités formant des colonies par millilitre) ont été interprétées comme positives pour une infection urinaire (Uranian et Moghadas, 2010).
- ❖ **Echantillon d'origine alimentaire**, vingt-cinq grammes (25g) de chaque échantillon de viande ont été placé et agité dans 225mL de bouillon nutritif, incubés pendant 6-8 h à 37°C. Après, un millilitre (1ml) de chaque échantillon a été étalé sur une gélose Mac Conkey pendant 24 heures à 37°C.

Une colonie présentant une morphologie typique d'*E. coli* est réisolée sur la gélose Mac Conkey et Hektoen afin d'obtenir des souches pures (voir annexe 03).

III. Identification des souches

L'identification des souches est réalisée par des méthodes biochimiques classiques, des tests bactériologiques standard, qui comprennent : coloration de Gram, la mobilité, l'oxydase, catalase, la fermentation du glucose et du lactose en utilisant une gélose au triple sucre et au fer, le test au rouge de méthyle, la production d'indole, le test à l'uréase (URE), le test de Voges Proskauer (VP), l'utilisation du citrate (CIT) (Faddin, 1999), (voir annexe 02) et la

confirmation des souches est effectuée par la galerie biochimique miniaturisée (API 20E) (voir annexe 03)

➤ Principe de la galerie biochimique API 20E

API 20E est un système utilisant 20 tests biochimiques standardisés et miniaturisés ainsi qu'une base de données, elle se présente sous forme de produits desséchés que l'on réhydrate par inoculation de la suspension du germe à tester, afin d'identifier des entérobactéries et d'autres bacilles Gram négatifs non fastidieux.

➤ Technique (BioMérieux API 20E manual. 2010)

- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.
- Créer une atmosphère humide en réunissant fond et couvercle d'une boîte d'incubation avec la répartition de 5ml d'eau distillé dans les alvéoles.
- Retirer la galerie de son emballage individuel et la déposer dans la boîte d'incubation.
- Préparer l'inoculum bactérien : une colonie dans 5ml d'eau physiologique, dont l'opacité est équivalente à 0,5 Mc Farland.
- Remplir les tubes et les cupules des tests CIT, VP et GEL avec la suspension bactérienne, à l'aide d'une pipette Pasteur, tandis que pour les autres tests comme : ADH, LDC, ODC, URE, H₂S, il faut remplir uniquement les tubes (et non les cupules), afin de créer l'anaérobiose il faut rajouter l'huile de paraffine stérile dans la cupule.
- Incuber à 37C° pendant 18-24 heures.

➤ Lecture des résultats

La lecture des résultats se réfère à un catalogue analytique (voir annexe 02) où l'identification est donnée avec un pourcentage et une appréciation (BioMérieux API 20E manual. 2010).

IV. Conservation des souches

Toutes les souches d'*E. coli* ont été conservées, pour d'autres études ultérieures, par la :

- ❖ **Méthode 01** : sur gélose de conservation
- ❖ **Méthode 02** : à 4°C dans un bouillon nutritif contenant 20% de glycérol

V. Test de sensibilité aux antibiotiques

Toutes les souches d'*E. coli* identifiées sont soumises à des tests de sensibilité à 10 agents antimicrobiens par une méthode de diffusion des disques sur gélose Mueller-Hinton (MH) (Bio-Rad) selon les recommandations du comité Français de l'antibiogramme de la Société

Française de Microbiologie (<http://www.sfm-microbiologie.org/>). Les antibiotiques utilisés sont les suivants : ampicilline (10µg), amoxicilline-acide clavulanique (30µg), imipénème (10µg), céfotaxime (30µg), tétracycline (30 µg), triméthoprine-sulfaméthoxazole (25µg), gentamycine (10µg), rifampicine (5µg), acide nalidixique (30µg) et ciprofloxacine (5µg) (SFM, 2019).

➤ **Inoculum**

A partir d'une culture de 18-24 heures sur milieu gélosé, 3 à 4 colonies bien isolées et parfaitement identiques sont prélevées et dissociées dans 5 ml d'eau physiologique, afin d'obtenir une suspension diluée jusqu'à une densité de 0,5 McFarland équivalent à 10^7 UFC/mL

➤ **Ensemencement**

Plonger un écouvillon en coton stérile dans la suspension bactérienne et éliminer l'excès de liquide en tournant l'écouvillon sur les parois du tube. Il est important de rejeter l'excès de liquide pour éviter une sur-inoculation des boîtes, en particulier pour les bactéries Gram négatives. Ecouvillonner la totalité de la surface de la gélose dans trois directions.

Les disques d'antibiotiques sont déposés sur la gélose de Mueller-Hinton préalablement ensemencées par écouvillonnage. Les boîtes sont par la suite incubées pendant 24H à 37°C.

➤ **Lecture**

L'interprétation en Sensible (S), Intermédiaire (I) ou Résistant (R) est effectuée selon les critères définis par le comité Français de l'antibiogramme de la société Française de Microbiologie (CFA-SFM, 2019).

IV.1. Détection phénotypique de la production de BLSE

➤ **Principe**

La recherche des BLSE a été réalisée par le DD-test ou test de synergie, qui consiste à placer des disques de céphalosporine de troisième génération céftazidime, de céfotaxime, de céfépime et d'aztréonam à une distance de 20 mm (centre à centre) d'un disque d'amoxicilline-acide clavulanique (SFM, 2019).

➤ **Technique**

L'amoxicilline/acide clavulanique (20/10µg) a été placée au centre de la boîte, et des disques de ceftazidime (30µg), ceftriaxone (30µg) et céfotaxime (30µg) ont été placés à 15 mm du disque central, les boîtes ont été incubées 24 h à 37°C.

➤ **Lecture**

Une zone d'inhibition supérieure à 5 mm autour du disque d'amoxicilline-acide clavulanique par rapport aux disques de céphalosporine seule a été considérée comme une production de BLSE. La production de BLSE a ensuite été confirmée par le test de confirmation phénotypique (TCP) (SFM, 2019).

V. Analyse statistique

En utilisant le logiciel SPSS version 20, l'analyse des données a été faite et les valeurs ont été exprimées en pourcentages des variables. Les analyses statistiques ont été réalisées en utilisant le test de Khi-carré (X^2) de Pearson pour évaluer le niveau de résistance des souches d'*E. coli* d'origine clinique et alimentaire à chaque antibiotique ; un niveau de confiance, de 95% et une valeur P inférieure à 5% ont été considérés comme significatifs.

Partie II : caractérisation phénotypique de la résistance aux antibiotiques des souches de *Staphylococcus* spp d'origine clinique

I. Sources des échantillons cliniques

La recherche des souches de staphylocoques a porté sur 980 échantillons cliniques, entre janvier et octobre 2020 à Oum El Bouaghi (Algérie). Au total, 102 souches ont été isolées à partir de nombreux échantillons pathologiques (sang, pus, écouvillon vaginal, spermoculture, échantillon de peau, urine, prélèvement mammaire et ponction vulvaire) à partir de plusieurs laboratoires communautaires d'analyses médicales à Oum El Bouaghi (Algérie). Tous les échantillons ont été transportés au laboratoire dans des glacières à 4°C et ont été analysés dans les deux premières heures suivant le prélèvement.

II. Isolement des souches de staphylocoques

L'isolement des staphylocoques est réalisé par un ensemencement en stries sur milieu mannitol (milieu Chapman), l'incubation se fait 24 heures à 37°C.

III. Identification des souches

Les souches ont été cultivées et confirmées après culture comme étant *Staphylococcus aureus* et *S. epidermidis* par des caractères macroscopiques (voir annexe 03), la morphologie bactérienne, la mobilité, la coloration de Gram et des tests biochimiques : catalase, oxydase, coagulase, test ADNase, tests de fermentation du mannitol (voir annexe 02) (Quinn et al., 1994), et la confirmation des espèces par le système API STAPH-IDENT (Wesley et al., 1982).

IV. Tests de sensibilité aux antibiotiques

L'étude de sensibilité aux antibiotiques de 102 souches a été réalisée en utilisant la méthode standard de diffusion des disques selon les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (<http://www.sfm-microbiologie.org/>).

Les 12 antibiotiques testés sont : la céfoxitine (30µg), l'oxacilline (1µg), l'imipénème (10µg), la vancomycine (30µg), la ciprofloxacine (5µg), gentamycine (10µg), cotrimoxazole (25µg), érythromycine (15µg), lincomycine (2µg), spiramycine (15µg), pristinamycine (15µg) et fosfomycine (200µg).

➤ **Interprétation des résultats**

La zone d'inhibition autour des disques d'antibiotiques a été évaluée selon la méthode SFM (2019). Les souches ont été désignées comme résistantes, sensibles ou intermédiaires après la mesure de la zone d'inhibition autour des disques d'antibiotiques.

Les souches ont été distinguées respectivement comme SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline) et SASM (*Staphylococcus aureus* sensible à la méthicilline) par la méthode de diffusion des disques d'oxacilline, et les souches présentant une résistance à trois classes d'antibiotiques ou plus ont été définies comme multirésistantes (BMR) (SFM, 2019)

V. Analyse statistique

L'analyse des données a été réalisée à l'aide du logiciel SPSS version 20, et les valeurs ont été exprimées sous forme de pourcentages des variables. Afin d'évaluer la différence de résistance aux antibiotiques des souches cliniques obtenues (*S. aureus* et *S. epidermidis*) le test de Khi-deux (X^2) de Pearson a été effectué, avec 95% comme intervalle de confiance, de sorte qu'une valeur P inférieure à 5% était considérée comme statistiquement significative.

Partie III : caractérisation moléculaire du génome entier des souches cliniques multirésistantes de *Klebsiella pneumoniae*

I. Sélection des souches

Les souches de *Klebsiella pneumoniae* ont été isolées à partir d'échantillons cliniques sur milieu MacConkey par un ensemencement en strie et ont été sélectionnées sur la base de leur profil de résistance et de leur niveau de production de BLSE. Ainsi, quatre souches de *K. pneumoniae* multirésistantes et productrices de BLSE ont été choisies pour l'analyse moléculaire du génome bactérien entier dans le Centre National de Recherche (CNR) sur la Résistance des Entérobactéries de Clermont-Ferrand en France.

II. Identification des souches

Les souches ont été cultivées sur la gélose MacConkey (BioMérieux, Marcy l'Etoile, France) pendant 24 heures à 37°C. Les souches ont été confirmées par spectrométrie de masse à l'aide du VITEK® MS (BioMérieux, Marcy l'Etoile, France).

II.1. Principe de la spectrométrie de masse (MALDI-TOF MS)

VITEK® MS PRIME est un appareil spectromètre de masse Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time Of Flight (MALDI-TOF), analysant le matériel provenant de cultures microbiennes afin d'identifier le microorganisme. Les échantillons sont exposés à des tirs laser multiples à l'intérieur de VITEK® MS PRIME (Jim, 2016).

II.2. Technique de la spectrométrie de masse

VITEK® MS PRIME a été conçu pour intégrer des avantages supplémentaires afin d'améliorer l'utilisation de la technologie MALDI-TOF (Jim, 2016).

- La matrice absorbe la lumière laser et se vaporise, avec l'échantillon, tout en se chargeant électriquement au cours du processus (ionisation).
- Des champs électriques guident ensuite les ions dans un tube à vide qui les sépare en fonction de leur poids, les petites molécules remontant plus rapidement dans la colonne que les grosses.
- Ce « temps de vol » crée une série de pics qui correspondent aux différentes molécules contenues dans l'organisme de l'échantillon. L'ensemble des pics créent des spectres identiques et propres à ce microorganisme.

- Ces spectres issus de chaque microorganisme sont comparés à une large librairie possédée par bioMérieux, ce qui permet d'identifier très facilement le microorganisme.

III. Séquençage de l'ADN

III.1. Extraction d'ADN

L'ADN génomique a été extrait à l'aide d'un extracteur QIAextractor (Qiagen, Valencia, CA), et la préparation des librairies d'ADN a été effectuée à l'aide d'un kit de préparation d'échantillons d'ADN Nextera XT (Illumina, San Diego, CA), en respectant le protocole Illumina.

- ❖ Les mesures de contrôle de la qualité ont été examinées sur l'ensemble de la collection avec un score de qualité moyen des paires de bases de lecture de $Q \geq 20$ et une longueur de lecture de 70 % de la longueur de lecture originale. Les lectures Illumina filtrées sont assemblées à l'aide d'Unicycler (Wick et *al.*, 2017). Les contigs ont été annotés à l'aide de Bakta.
- ❖ Les librairies ont été séquencées avec la plateforme MiSeq d'Illumina (2x300-bp paired-end reads) avec une profondeur minimale (mapped-reads) de 40-fold. Des recherches de contaminants et une identification moléculaire ont été effectuées pour chaque échantillon à l'aide de la technique centrifuge (Kim et *al.*, 2016).

III.2 Technique de séquençage Nextera XT, illumina

□ Objectifs

Le séquençage par la méthode Illumina est une technique permettant de séquencer plusieurs centaines de millions de fragments d'ADN. L'application de cette « Next generation sequencing » (NGS) permet d'étudier la diversité microbienne dans l'environnement, de séquencer des génomes entiers, ou d'analyser les interactions entre ADN et protéines.

□ Principe

Le concept de la technologie Next-Generation Sequencing (NGS) est basé sur :

- ❖ L'action de l'ADN-polymérase qui catalyse l'incorporation du désoxyribonucléotides triphosphates (dNTP) marqués par fluorescence dans un brin d'ADN au cours des cycles séquentiels de la synthèse de l'ADN.
- ❖ Au cours de chaque cycle, au point d'incorporation, les nucléotides sont identifiés par l'excitation du fluorophore.

Le site de différence essentielle est qu'au lieu de séquencer un seul fragment d'ADN, la NGS étend ce processus à des millions de fragments, de manière massivement parallèle. Plus de 90 % des données de séquençage dans le monde sont générées par la chimie de séquençage par synthèse (SBS) d'Illumina. Elle offre une grande précision, un rendement élevé de lectures sans erreur et un pourcentage élevé d'appels de base supérieurs à Q30 (Ross et *al.*, 2013 ; Nakazato et *al.*, 2013).

□ Technique

Les flux de travail Next-Generation sequencing (NGS) d'Illumina comprennent quatre étapes de base illustrées dans la figure 07 ci-dessous, et qui sont :

III.2.1 Préparation de la librairie

- La librairie de séquençage est préparée par fragmentation aléatoire de l'échantillon d'ADN ou d'ADNc, suivie de l'adaptation 5' et 3'.
- Une autre solution consiste à combiner les réactions de fragmentation et de ligature en une seule étape qui augmente considérablement l'efficacité du processus de préparation de la librairie (Illumina, 2014).

III.2.2. Génération de clusters

- Cette étape consiste à amplifier l'ADN préparé.
- Le brin d'ADN préparé va s'hybrider avec une séquence oligonucléotidique fixée et le brin complémentaire va alors être synthétisé par une polymérase.
- Le brin est libéré, alors que le brin complémentaire reste fixé. Ce dernier est alors amplifié en pont.
- Ainsi, chaque fragment est ensuite amplifié en clusters clonaux distincts. Lorsque la génération des clusters est terminée, les matrices sont prêtes pour le séquençage.

III.2.3. Séquençage

- Dans un second temps, le brin d'ADN complémentaire des séquences fixées sur le support est synthétisé à l'aide de nucléotides marqués par des fluorochromes, qui au moment de leur intégration émettent à une longueur d'onde spécifique du nucléotide marqué un signal lumineux (ce type de séquençage est appelé «séquençage par synthèse»).
- Le résultat est un séquençage base par base extrêmement précis qui élimine pratiquement les erreurs spécifiques au contexte de la séquence, même dans les régions de séquences répétitives et les homopolymères.

III.2.4. Analyse des données

Matériel et méthodes

- Au cours de l'analyse et de l'alignement des données, les lectures de la séquence nouvellement identifiée sont alignées sur un génome de référence. Après l'alignement, de nombreuses variations d'analyse sont possibles, comme le polymorphisme d'un seul nucléotide (SNP) ou l'identification des insertions et des délétions (indel), le comptage des lectures pour les méthodes ARN, l'analyse phylogénétique ou métagénomique, etc.

Les quatre étapes de Next-Generation sequencing (NGS) d'Illumina sont résumées dans la figure 7 ci-dessous.

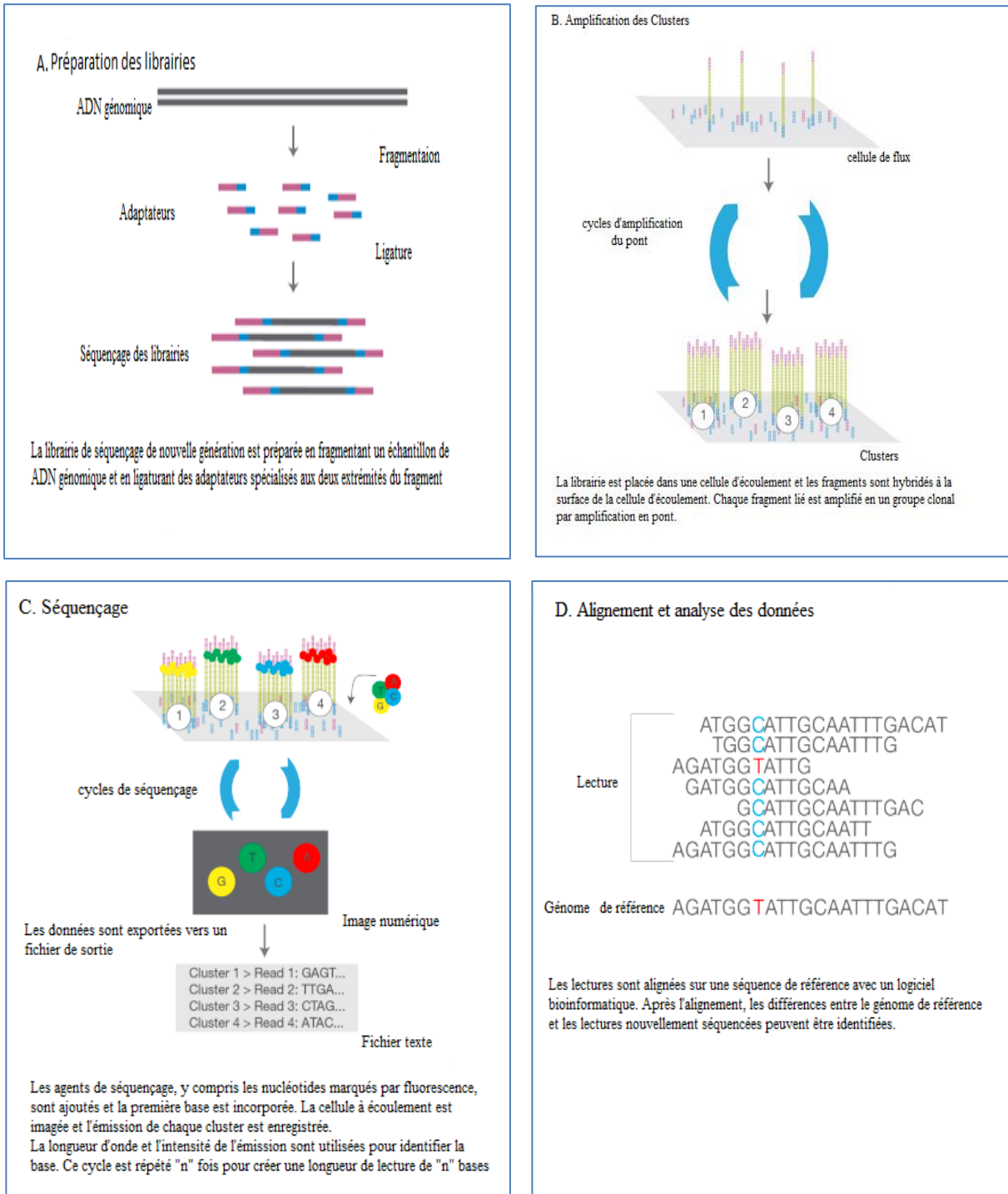


Figure 07 : illustre les principales étapes de Next-Generation sequencing (NGS) d'Illumina (Illumina, 2014).

IV.3 Technique centrifuge

➤ Principe

Cette méthode effectue des analyses d'abondance à tous les niveaux taxonomiques (par exemple, souche, espèce, genre). Comme de nombreux génomes partagent des segments d'ADN presque identiques avec d'autres espèces, les lectures provenant de ces segments seront classées comme des espèces multiples. En comptant simplement le nombre de lectures qui sont uniquement classifiées comme un génome donné et en ignorant ceux qui correspondent à d'autres génomes (Kim et *al.*, 2016).

➤ Technique (Kim et *al.*, 2016)

IV.3.1 Compression de séquences de bases de données

- Mise en œuvre des schémas d'indexation efficaces en termes de mémoire pour la classification des séquences microbiennes basée sur l'index FM, qui permet également des opérations de recherche très rapides.
- Réduit la taille de l'index en compressant les séquences génomiques et en construisant une version modifiée de l'index FM pour ces génomes compressés, comme suit :
 - ❖ Premièrement : pour certaines espèces bactériennes un grand nombre de souches et d'isolats étroitement apparentés ont été séquencés, généralement parce qu'ils représentent des pathogènes humains, les séquences génomiques des souches d'une même espèce sont susceptibles d'être très similaires les unes aux autres. Ainsi, l'élimination des séquences génomiques redondantes a été effectuée, de sorte que la taille de stockage de l'index reste compacte même si le nombre d'isolats séquencés pour ces espèces augmente.
 - ❖ D'abord, les deux génomes qui sont les plus similaires ont été choisis parmi tous les génomes. Définir les deux génomes les plus similaires comme ceux qui partagent le plus grand nombre de k-mères (en utilisant $k = 53$ pour cette étude) après que les k-mères aient été échantillonnés au hasard à un taux de 1% des génomes de la même espèce.

- ❖ L'utilisation des deux génomes les plus similaires permet une meilleure compression, car ils ont tendance à partager de plus grandes parties de séquences génomiques que deux génomes choisis au hasard.
- ❖ Lors de la combinaison des deux génomes, les séquences de G2 ont été écartées avec $\geq 99\%$ d'identité à G1 et les séquences restantes ont été conservées pour les utiliser dans l'index.
- ❖ Le génome qui est le plus similaire aux séquences combinées de G1 et G2 a été trouvé et sont combinées de la même manière que celle décrite ci-dessus. Ce processus est répété pour le reste des génomes.

Grâce à cette procédure le nombre de paires de bases provenant de ~ 4300 génomes bactériens et archéales a été réduit de 15 à 9,1 milliards de paires de bases (Gbp).

IV.3.2 Classification basée sur l'index FM

À l'aide de cet index FM, Centrifuge classe les séquences d'ADN comme suit :

- ❖ La technique centrifuge peut tout aussi bien traiter des lectures très longues, des contigs assemblés à partir d'une ébauche de génome, ou même des séquences entières.
- ❖ La technique centrifuge commence par une courte correspondance (16-pb[^] minimum) et étend la correspondance aussi loin que possible.
- ❖ Il faut noter que seules les correspondances exactes sont prises en compte tout au long de ce processus, ce qui est un facteur clé de la vitesse de l'algorithme.
- ❖ Sur la base des correspondances exactes trouvées dans la lecture et son complément inverse, la centrifuge classe ensuite les données et note ensuite chaque espèce.

IV.3.3 Analyse d'abondance

En plus de la classification par lecture, la centrifuge effectue une analyse d'abondance à tout niveau taxonomique (par exemple, souche, espèce, genre).

- ❖ Étant donné que de nombreux génomes partagent des segments d'ADN presque identiques avec d'autres espèces, les lectures provenant de ces segments seront analysées et classées comme des espèces multiples.

V. Annotation des gènes

Pour définir la présence de gènes spécifiques et de leurs allèles, on a utilisé :

- ❖ ARIBA (Hunt et *al.*, 2017)
- ❖ DIAMOND (Buchfink et *al.*, 2015)

Les bases de données utilisées sont les suivantes :

- ❖ La base de données MLST
- ❖ La base de données de typage O:H de Serotype Finder
- ❖ La base de données de typage fimH
- ❖ Les bases de données curatées de gènes/SNP AMR
- ❖ Notamment Res-Finder, NDARO et CARD.

IV.1 Technique Multi Locus Sequence Type (Charpentier, 2016)

➤ Principe

La méthode de typage Multi Locus Sequence Typing (MLST), est dans beaucoup de domaines, la technique de référence pour discriminer différentes souches entre elles. Le principe du typage MLST est d'amplifier, puis de séquencer plusieurs séquences choisies dans des gènes de ménage (house keeping genes) codant pour des protéines essentielles, qui présentent des polymorphismes stables dans le temps. Les séquences des gènes étudiés sont donc relativement conservées entre les souches, mais elles présentent néanmoins un nombre limité mais suffisant de SNP pour distinguer les souches entre elles.

En pratique, après séquençage, les polymorphismes de chacun des gènes sont répertoriés pour chaque souche, décrivant ainsi le génotype. Les haplotypes d'une souche sont ensuite associés pour former un génotype qui est donc la combinaison des différents haplotypes. Enfin, les génotypes de chaque souche sont comparés.

La méthode de référence reste à ce jour le MLST pour sa précision de détection des polymorphismes. Cependant il s'agit d'une méthode onéreuse et chronophage.

Le schéma MLST de *K. pneumoniae* est basé sur l'analyse de 7 housekeeping genes suivants (Diancourt et *al.*, 2005) : gapA, infB, mdh, pgi, phoE, rpoB et tonB, il s'agit de gènes de ménage qui devraient être présents dans tous les isolats des souches d'entérobactéries, ayant un rôle important dans le métabolisme bactérien comme l'indique le Tableau 05 illustré ci-dessous.

Tableau 05 : Les fonctions des sept gènes de ménages utilisés en MLST (Diancourt et *al.*, 2005)

Locus	Fonction de gène
rpoB	Sous-unité bêta de l'ARN polymérase B
gapA	Glycéraldéhyde 3-phosphate déshydrogénase
mdh	Malate déshydrogénase
pgi	Phosphoglucose isomérase
phoE	Phosphoporine E
infB	Facteur d'initiation de la traduction 2
tonB	Transducteur d'énergie périplasmique

- ❖ Pour le typage MLST, les résultats du séquençage de l'ADN seront ensuite interprétés en soumettant les 7 séquences obtenues au serveur MLST pour obtenir le type de séquence correspondant (type ST).

*Résultats
et discussion*

Partie I: caractérisation phénotypique du profil d'antibiorésistance des souches

Escherichia coli isolées à partir de différentes origines

I. Fréquence d'isolement des souches

Un total de 159 souches d'*E. coli* ont été isolées à partir d'un total de 100 échantillons de viande de bœuf crue et de 595 échantillons d'urine provenant de patients souffrant d'infections communautaires et testés pour leur profil de résistance à 10 agents antimicrobiens différents. L'utilisation des antibiotiques a un impact sur la distribution des phénotypes de résistance aux antimicrobiens (Aarestrup, 1999 ; Kulkarni et *al.*, 2007).

Dans cette étude, le taux de contamination microbienne de la viande de bœuf crue par *Escherichia coli* était élevé (100 %), ce taux est supérieur à celui rapporté par Kassem et al. (2020) au Liban (76 %), également Gregova et Kmet. (2020) indiquent qu'*E. coli* contamine fréquemment la viande de bœuf. Ainsi, lors de l'abattage, il existe un risque de transmission d'*E. coli* à l'homme à partir de l'environnement contaminé par le contenu intestinal des bovins (Philips, 1999).

La prévalence des *E. coli* isolées des infections urinaires est de 59,1%, ce qui est presque similaire au taux obtenu par Bentroki et al. (2012) à Guelma (60%). *E. coli* est le germe fécal le plus isolé qui provient de l'anus et qui peut pénétrer dans l'ouverture urétrale et contaminer le système urinaire surtout chez les femmes (Derakhshan et *al.*, 2018), il est fréquemment à l'origine d'infection urinaire communautaire (IUC) chez l'homme (Chervet et *al.*, 2018 ; Mueller et *al.*, 2019 ; Otter et *al.*, 2019) comme le constate l'étude établie au Maroc par El Hamzaoui et al. (2020) parmi 787 entérobactéries uro-pathogènes isolées d'un milieu communautaire, 77,38% sont des isolats d'*E. coli*.

II. Test de sensibilité aux antibiotiques

L'étude de la résistance des souches d'*E. coli* aux antibiotiques à partir de viande de bœuf crue a été développée pour la première fois en Algérie. Probablement, il existe une relation entre les *E. coli* causant des mastites chez les vaches et leur apparition dans la viande comme l'ont rapporté Saidani et al. (2018) en Tunisie.

La résistance aux antibiotiques peut être liée à l'utilisation excessive d'antibiotiques pour traiter les infections chez les bovins, en particulier contre *E. coli*. En Égypte, *E. coli* résistant s'est avéré être l'un des principaux agents responsables de la mammite chez les

Résultats et discussion

bovins après *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus agalactiae* (Abdel-Rady et Sayed, 2009). Le tableau 06 présente les résultats des tests de sensibilité aux antibiotiques.

Tableau 06 : profil de sensibilité aux antibiotiques des souches *E. coli* d'origine clinique et alimentaire par la méthode de diffusion des disques.

Agents antimicrobiens	Dosage (µg)	Phenotype de résistance N (%)	
		<i>E. coli</i> alimentaire n=100	<i>E. coli</i> clinique n=59
Ampicilline	10	95 (95%)	47 (79,7%)
Amoxicilline-acide clavulanique	30	90 (90%)	31 (52,5%)
Céfotaxime	30	0 (0%)	11 (18,6%)
Imipénèm	10	0 (0%)	0 (0%)
Gentamycine	10	25 (25%)	8 (13,6%)
Triméthoprime-sulfaméthoxazole	25	100 (100%)	32 (54,2%)
Acide Nalidixique	30	95 (95%)	34 (57,6%)
Ciprofloxacine	5	90 (90%)	12 (20,3%)
Rifampicine	5	100 (100%)	ND
Tétracycline	30	75 (75%)	ND

ND : non déterminé, µg : microgramme, % : pourcentage, n : nombre d'isolats d'*E. coli*.

Le test de sensibilité aux antibiotiques par diffusion de disques a indiqué une forte prévalence de la résistance à divers agents antimicrobiens dans les deux origines :

Origine alimentaire : le type dominant de résistance chez *E. coli* provenant d'échantillons de viande de bœuf crue était le triméthoprime-sulfaméthoxazole et la rifampicine, détectés de manière identique dans 100 (100%) isolats, suivis par l'ampicilline et l'acide nalidixique dans 95 (95%), l'amoxicilline-acide clavulanique et la ciprofloxacine dans 90 (90%), la tétracycline dans 75 (75%) et la gentamycine dans 25 (25%) d'isolats. Aucun des isolats n'a été trouvé résistant au céfotaxime et au carbapénème (imipénème).

Origine clinique : pour les *E. coli* provenant d'échantillons d'infections urinaires, la plus grande résistance a été révélée pour l'amoxicilline chez 47 (79,7%) des isolats, suivie par l'acide nalidixique chez 34 (57,6%), triméthoprime-sulfaméthoxazole dans 32 (54,2%), amoxicilline-acide clavulanique dans 31 (52,5%), ciprofloxacine dans 12 (20,3%), céfotaxime dans 11 (18,6%) et 8 (13,6%) pour la gentamycine. Les résultats ont révélé qu'aucune des souches d'*E. coli* n'était résistante à l'imipénème, ce qui en fait l'antibiotique le plus efficace contre les isolats d'*E. coli*, avec une sensibilité de 100 % dans les deux origines (tableau 06).

Selon leur origine, les souches d'*E. coli* d'origine animale (viande crue) étaient significativement plus résistantes à la rifampicine (100%) et au triméthoprim-sulfaméthoxazole (100%) et les *E. coli* cliniques étaient significativement plus résistantes à l'ampicilline (79,7%), à l'acide nalidixique (57,6%) et au triméthoprim-sulfaméthoxazole (54,2%).

Vana et al. (2008) ont indiqué que les isolats d'*E. coli* provenant de la viande de bœuf présentent un degré de résistance plus faible que ceux provenant de la viande de porc et du poulet. Les données du tableau 06 ont montré qu'il n'y a pas de résistance pour l'imipénème, résultats similaires à l'étude menée par Rebbah et al. (2018) à Alger car en Algérie, il est interdit dans le domaine vétérinaire.

De même pour la céfotaxime 0% de résistance, surprenant, malgré qu'en Algérie les céphalosporines de 3ème génération sont prescrites en première intention chez le bétail. En revanche, la résistance aux céphalosporines est très fréquente chez les souches d'*E. coli* isolées à partir de la viande de bœuf crue selon d'autres études (Teshager et al., 2000).

Nous notons une résistance totale pour la rifampicine et le triméthoprim-sulfaméthoxazole, le résultat du triméthoprim-sulfaméthoxazole est peut-être dû à la présence de dihydroptéroate synthase (DHPS) et de dihydrofolatereductase (DHFR). Le résultat de la résistance à la rifampicine pourrait être lié à la présence de gènes spécifiques qui codent pour cette résistance, comme le confirment les études suivantes (Brinas et al., 2002 ; Guerra et al., 2003).

La résistance des souches aux β -lactamines est observée pour l'ampicilline avec 95% et l'amoxicilline-acide clavulanique avec 90%, d'autres études montrent que la résistance aux β -lactamines est supérieure à 50% à partir de viande bovine crue (Altalhi et al., 2010 ; Trongjit et al., 2016).

Les profils de résistance des souches aux quinolones et fluoroquinolones sont de 95% pour l'acide nalidixique et de 90% pour la ciprofloxacine. Cette résistance aux quinolones et aux β -lactamines est probablement due à la surutilisation de ces antibiotiques en première intention. Selon les vétérinaires algériens, cette résistance est peut-être aussi due au non-respect de la période d'attente avant l'abattage.

Nous avons observé un niveau de résistance à la tétracycline plus élevé (75%) que celui montré au Ghana (18-44%) (Adzitey, 2015). L'utilisation de la tétracycline comme

traitement ou additif alimentaire est interdite en Algérie. Cependant, elle est encore utilisée illégalement pour le traitement et l'engraissement (Cameron et McAllister, 2016 ; De Bruyne et *al.*, 2014) des bovins, car elle a un large spectre d'action, et est disponible sur le marché pharmaceutique à bas prix.

Dans notre étude, le niveau de résistance à la gentamicine (25%) est inférieur à celui décrit par Rahman et al. (2017) au Bangladesh (100%) car en Algérie elle est interdite en médecine vétérinaire. De même, d'autres chercheurs ont rapporté que les souches *E. coli* isolées à partir de viandes dérivées étaient plus fréquemment résistantes à la tétracycline, à l'ampicilline et à la gentamicine (19% à 50%) par rapport à la résistance aux autres agents testés (1% à 8,4%) (Sáenz et *al.*, 2001 ; Schroeder et *al.*, 2003 ; Johnson et *al.*, 2005).

Les données du tableau 06 indiquent que toutes les souches cliniques sont sensibles à l'imipénème comme l'indique l'étude de Yahiaoui et al. (2015) à Alger car ils ne sont utilisés que pour traiter les infections graves causées par les entérobactéries productrices de BLSE (Rattanaumpawan et *al.*, 2017 ; Ramasubramanian et *al.*, 2018). Cependant, certains pays comme l'Australie commencent à trouver une résistance aux carbapénèmes chez *E. coli* (Totsika et *al.*, 2012).

Le phénotype de résistance des souches d'*E. coli* à d'autres antibiotiques a été observé avec des taux différents, le taux le plus élevé est observé pour les β -lactamines qui est de 79,7% pour l'ampicilline comme le montrent les données publiées en Espagne (Aguar et *al.*, 1992 ; Alos et *al.*, 1997 ; Daza et *al.*, 2001 ; Kahlmeter, 2003), nous avons trouvé 52,5% de souches résistantes à l'amoxicilline-acide clavulanique, ce taux est plus élevé que celui rapporté par Bentreki et al. (2012) à Bejaia (45%), et 18,6% des souches *E. coli* étaient résistantes au céfotaxime. Cette résistance pourrait s'expliquer par l'utilisation des β -lactamines comme antibiotique de première intention pour traiter les infections bactériennes chez l'homme (Lei et *al.*, 2010).

La résistance aux quinolones et fluoroquinolones est de 57,6% pour l'acide nalidixique, un pourcentage inférieur à celui obtenu par Betitra et al. (2014) à Béjaia (80%), et nos données ont montré une résistance de 20,3% pour la ciprofloxacine ; en Algérie comme en Europe, le taux de résistance à la ciprofloxacine dépasse 20% chez les souches d'*E. coli* provenant d'infections cliniques humaines (Oteo et *al.*, 2005). La résistance aux quinolones est principalement chromosomique. Cependant, en Algérie, il a été démontré que certains plasmides favorisent la résistance aux quinolones (Meradi et *al.*, 2011), probablement à l'âge

adulte, les fluoroquinolones/quinolones sont largement prescrites pour traiter les infections urinaires (Koyle et *al.*, 2003). 54,2% des souches étaient résistantes au triméthoprime-sulfaméthoxazole, ce taux est plus élevé que celui montré par Yahiaoui et al. (2015) à Alger (36,7%), car c'est le médicament antibactérien le plus commun pour traiter les infections urinaires, il induit donc une co-sélection pour les autres antibiotiques utilisés, menaçant la santé humaine (Schroeder et *al.*, 2004).

III. Production de BLSE

Ainsi, selon le test de conformation des BLSE (PCDDT et DDST), aucune souche d'*E. coli* productrice de BLSE n'a été identifiée dans les échantillons de viande de bœuf crue mais 10 (17%) souches ont montré une sensibilité accrue à la ceftazidime et/ou à la céfotaxime en présence d'acide clavulanique. Elles sont donc des *E. coli* BLSE-positives dans les échantillons d'infection urinaire, comme le montre la figure 08 illustrant la production de BLSE chez les souches d'*E. coli* d'origine clinique.

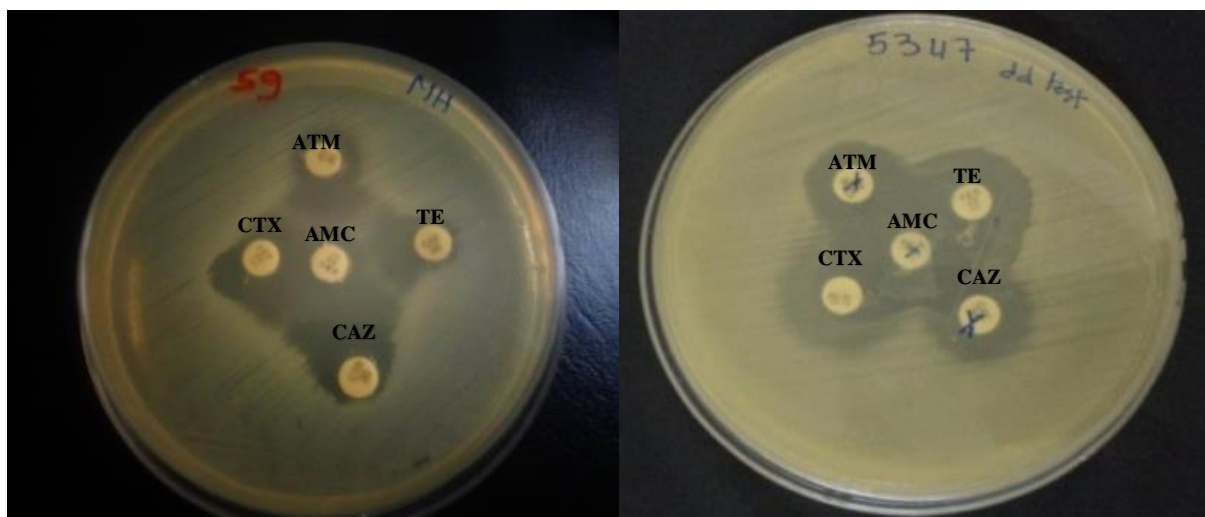


Figure 08 : production de BLSE chez les souches d'*E. coli* d'origine clinique.

Les données du tableau 07 illustrées ci-dessous démontrent la distribution des souches *E. coli* productrices de BLSE selon deux origines.

Tableau 07 : distribution des *E. coli* productrices de BLSE selon deux origines (viande de bœuf crue et infection urinaire).

Origine	<i>E. coli</i> BLSE-positives	<i>E. coli</i> BLSE-négatives
Viande de bœuf	0%	100%
Infection urinaire	17%	83%

Il est intéressant de noter que les données du tableau 07 montrent qu'aucun producteur de BLSE n'a été détecté dans les échantillons de bœuf cru par rapport à l'étude d'Alger qui a

rapporté la présence de 27,5% de BLSE dans les échantillons de viande de bœuf hachée et crue (Rebbah et *al.*, 2018), même en l'absence de pression de sélection antimicrobienne, la transmission des gènes de résistance des BLSE à d'autres Enterobacteriaceae est possible (Smet et *al.*, 2011) et est assurée par des éléments mobiles comme les plasmides (Schroeder et *al.*, 2004).

La plus faible résistance des souches est pour la gentamycine avec 13,6%, un résultat similaire a été obtenu dans une étude à Bejaia avec un taux de 13,33%, probablement les phénotypes BLSE ont été associés à la résistance aux aminoglycosides comme la gentamycine (Kose et *al.*, 2007), comme le montrent les données du tableau 07, le taux de souches *E. coli* productrices de β -lactamases dans les échantillons d'urine est de 17%, ce résultat est inférieur à celui cité par Naziri et al. (2020) en Iran (34,6%). Dans plusieurs pays, la prévalence des souches *E. coli* productrices de BLSE provenant d'infections urinaires a augmenté, comme en France (3,3 %), en Italie (6,7 %), en Espagne (23,6 %) et en Turquie (24 %) (Lee et *al.*, 2018). L'utilisation extensive et la facilité d'accès aux antibiotiques ont été un facteur contribuant à la forte pression de sélection des bactéries résistantes et à l'apparition de souches productrices de β -lactamases (Lamikanra et Ndep, 1989 ; Okeke et *al.*, 1999 ; Okeke et *al.*, 2000).

La détection de souches *E. coli* productrices de BLSE dans les échantillons cliniques (17%) et leur absence totale (0%) dans les échantillons alimentaires (viande de bœuf crue) est opposée aux résultats de l'étude menée en Iran par Pourmohammad et al. (2020), les différences dans les résultats de la fréquence de la résistance chez les *E. coli* producteurs de BLSE peuvent être expliquées par la variation dans la sélection de l'échantillon, les différences géographiques dans l'utilisation des agents antimicrobiens (Winokur et *al.*, 2001).

IV. Analyse statistique

Dans tous les cas, la valeur p était inférieure à $< 0,05$, ce qui signifie qu'une différence hautement significative dans le profil de résistance a été trouvée entre les *E. coli* d'origine alimentaire et les *E. coli* d'origine clinique pour les antibiotiques suivants : ampicilline, amoxicilline-acide clavulanique, céfotaxime, triméthoprime-sulfaméthoxazole, acide nalidixique et ciprofloxacine, sauf dans le cas de la gentamycine où la valeur p est supérieure à > 0.05 , ce qui indique qu'il n'y a pas de différence significative dans le profil de résistance des souches d'*E. coli* entre les deux origines, ces résultats sont illustrés dans le tableau 08 ci-dessous.

Tableau 08 : comparaison des *E. coli* d'origine alimentaire et clinique en fonction de leur profil de résistance aux antibiotiques par le test du chi-carré.

Agents antimicrobiens	Dosage (µg)	<i>p</i> -value par le test du Chi-carré
Ampicilline	10	p> 0,002
Amoxicilline- acide clavulanique	30	p> 0,000
Céfotaxime	30	p> 0,000
Imipénèm	10	. ^a
Gentamycine	10	p< 0,086
Triméthoprime-sulméthoxazole	25	p> 0,000
Acide nalidixique	30	p> 0,000
Ciprofloxacine	5	p> 0,000

.a aucune statistique n'est calculée car la variable est constante, p-value < 0,05 = significative

Selon le test du chi-carré, il y avait une différence très significative dans les taux de résistance à tous les antibiotiques utilisés, pour les isolats cliniques et alimentaires (p-value < 0,05), sauf pour la gentamycine (p-value > 0,05), ce qui est probablement dû à la faible utilisation de cet antibiotique en médecine humaine et animale, sauf dans les cas d'infections sévères causées par des BMR (Goodlet et al., 2018). La résistance à la gentamycine chez *E. coli* a été associée à des souches ayant la capacité de produire des BLSE (Oteo et al., 2002 ; Kose et al., 2007).

On s'attendait à ce que la résistance soit plus importante dans les isolats cliniques que dans les isolats alimentaires, étant donné l'ampleur des traitements et des maladies multiples chez l'homme, mais il s'est avéré que c'était le contraire dans notre travail.

Des recherches ont montré qu'il existe une relation entre la consommation d'aliments contaminés et la contraction d'une infection des voies urinaires, comme en Algérie, où des *E. coli* multirésistantes isolées de la viande de poulet révèlent la présence de gènes de virulence (stx et ehxA) qui ont la plus forte incidence du syndrome hémolytique et urémique et de la colite hémorragique chez l'homme dans le monde (Laarem et al., 2017).

Partie II : caractérisation phénotypique de la résistance aux antibiotiques des souches de *Staphylococcus spp* d'origine clinique

I. Fréquence d'isolement des staphylocoques

La prévalence des souches de *Staphylococcus aureus* et *S. epidermidis* a été étudiée en fonction du type d'échantillon obtenu comme l'indique le tableau 09 ci-dessous.

Tableau 09. prévalence de *Staphylococcus aureus* et *S. epidermidis* selon les types d'échantillons.

Echantillons	Prévalence des souches de <i>Staphylococcus</i> selon l'origine n (%)	Prévalence de <i>S. aureus</i> n (%)	Prévalence de <i>S. epidermidis</i> n (%)
Urine	35 (34,3%)	3 (8,6%)	32 (91,4%)
Peau	1 (1%)	0 (0%)	1 (100%)
Vaginal	3 (3%)	0 (0%)	3 (100%)
Pus	44 (43,1%)	32 (72,7%)	12 (27,3%)
Mammaire	8 (7,8%)	2 (25%)	6 (75%)
Culture de sperme	9 (8,8%)	5 (55,6%)	4 (44,4%)
Sang	1 (1%)	1 (100%)	0 (0%)
Vulvaire	1 (1%)	0 (0%)	1 (100%)
Total	102	43 (42,2%)	59 (57,8%)

Les données du tableau 09 ont montré que *S. epidermidis* est plus fréquemment isolé des infections que *S. aureus*, comme l'ont démontré d'autres études (Oliveira et al., 2017), cette forte occurrence de *S. epidermidis* peut être due à la présence de divers facteurs de virulence qui peuvent être considérés comme les principales raisons de causer des infections (Otto, 2009), et probablement le portage persistant de ce germe pourrait agir comme un réservoir pour l'infection (Archana et al., 2014), contrairement à d'autres résultats obtenus dans plusieurs pays montrant que *S. aureus* est plus fréquent que *S. epidermidis*, comme au Nigeria (Shittu et al., 2012) et en Chine (Yang et al., 2020).

Staphylococcus aureus est l'une des causes les plus courantes d'infections et fait partie aussi de la flore normale de la peau donc elle peut pénétrer dans le corps par abrasion, fissures, brûlures, incisions chirurgicales, coupures et provoquer des infections pyogènes (Sangita et al., 2019). Cette étude a révélé que *S. aureus* est le micro-organisme le plus prédominant dans les échantillons de pus, comme l'ont indiqué des études antérieures (Onemu et Ophori, 2013), avec une occurrence de 72,7% qui est presque similaire au résultat de l'étude menée en Algérie 64,28 % (Benyagoub et al., 2020), mais cette occurrence est plus élevée que

celle obtenus en Egypte 38% (Abdeen *et al.*, 2021) et au Maroc 19% (Benouda et Elhamzaui, 2009).

Pour *S. epidermidis*, l'occurrence la plus élevée a été identifiée dans les prélèvements d'urines avec un taux de 91,4 %, ce qui est probablement lié à la contamination de l'urine par la flore commensale (Frédéric *et al.*, 2008), et selon Longauerova (2006), les CoNS sont apparus comme une cause principale des infections urinaires, en particulier *S. epidermidis* (Nanoukon *et al.*, 2017).

I.1 Selon le sexe des patients

Les données du tableau 10 montrent la variation de la prévalence de *S. epidermidis* et *S. aureus* en fonction du sexe des patients.

Tableau 10 : distribution de *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis* selon le sexe

Sex	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>p-value</i>
Male	20 (33,9%)	24 (55,8%)	0,027
Femelle	39 (66,1%)	19 (44,2%)	0,027

Selon le test du Chi-carré, il existe une différence significative dans la distribution de *S. epidermidis* et *S. aureus* entre les hommes et les femmes (valeur $p < 0,05$). Le taux d'isolement de *S. epidermidis* est plus élevé chez les femmes (66,1%) que chez les hommes (33,9%), contrairement à *S. aureus* qui est plus fréquent chez les hommes (55,8%) que chez les femmes (44,2%), selon une étude de Gahamanyi *et al.* (2017) au Rwanda, les hommes (63,3%) avaient plus de *S. aureus* que les femmes (36,7%).

I.2 Selon l'âge des patients

Les données du tableau 11 ci-dessous montrent la variation de la prévalence de *S. epidermidis* et *S. aureus* en fonction de l'âge des patients.

Tableau 11 : distribution de *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis* selon les groupes d'âge

Organismes	≤ 14 ans	15-29 ans	30-59 ans	≥ 60 ans
<i>Staphylococcus aureus</i>	2 (33,3%)	7 (38,9%)	19 (45,2%)	15 (41,7%)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	4 (66,7%)	11 (61,1%)	23 (54,8%)	21 (58,3%)
<i>p-value</i>	0,652	0,757	0,598	0,941

Le test de Chi-carré montre qu'il n'y a pas de différence entre les deux souches à chaque groupe d'âge (valeur $p > 0,05$) (tableau 11). Le taux d'isolement le plus élevé de *S. aureus* et *S. epidermidis* se situe dans la catégorie d'âge entre 30-59 ans. Le résultat pour *S. aureus* est également en accord avec une autre étude algérienne (Benyagoub et al., 2020), probablement les facteurs associés à la colonisation par *S. aureus* étaient le groupe d'âge (Archana et al., 2014).

II. Test de sensibilité aux antibiotiques

La surutilisation et la mauvaise utilisation des antibiotiques dans les installations cliniques ont conduit à l'émergence de la résistance aux antibiotiques chez les bactéries (Ji et al., 2018) dans la communauté. L'épidémiologie des CoNS dans les établissements de santé est beaucoup moins connue que celle du SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline) (Becker et al., 2014).

La résistance à la méthicilline chez les staphylocoques est peut-être due à l'expression du gène *mecA* (Zong et al., 2011). Cette étude fournit des données importantes sur la résistance à la méthicilline, nous avons trouvé un taux de résistance à la méthicilline (oxacilline) égale à 68%, dont 42,4% chez *S. epidermidis* et 25,6% chez *S. aureus*, le taux de SARM est plus élevé que celui montré par Alioua et al. (2014) en Algérie (7. 6%), mais ce taux est inférieur à celui observé dans une autre étude en Algérie 40,5% (Antri et al., 2011), et comme l'a rapporté l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) que dans certaines régions africaines, 80% des infections à *S. aureus* et *S. spp* sont résistantes à la méthicilline (Kaasch et al., 2014). Dans les pays développés, la prévalence du SARM a atteint un niveau inquiétant au cours des dernières années (Altaf et al., 2019).

D'après les profils de sensibilité aux antimicrobiens, trente-deux ($n=32$) souches de *Staphylococcus* étaient des SASM (Tableau 12), la plupart des isolats de SASM étaient sensibles à presque tous les agents antimicrobiens utilisés dans cette étude, en revanche, pour les souches de SARM, les résistances les plus répandues étaient observées pour la céfoxitine et l'oxacilline (25,6%) respectivement, d'autres études ont montré que la résistance aux β -lactamines est supérieure à 50% dans les souches de *S. aureus* (John et al., 2019).

Parmi les SARM obtenus, une souche (9,1%) présente une résistance aux lincosamides associée à une sensibilité aux macrolides (phénotype $ERY^S_LIN^R$), ce qui est plus fréquent parmi les isolats de SARM d'origine animale mais très inhabituel parmi les SARM d'origine

Résultats et discussion

humaine (Schwarz et al., 2018). Nous avons trouvé que seulement 2,3% des SARM sont résistants à l'imipénème et 11,6% étaient résistants aux fluoroquinolones et aux lincosamides ; cette résistance est probablement due à l'utilisation de ces antibiotiques pour traiter plusieurs infections communautaires causées par *S. aureus* (Massanari et al., 1988), ainsi cette résistance peut induire un échec clinique comme cela a été rapporté par Siberry et al. (2003). Mais ces taux de résistance sont inférieurs aux résultats obtenus dans l'étude menée par Ceballos et al. (2019) dans les hôpitaux espagnols qui indiquent que la résistance aux fluoroquinolones est de 67% et de 50% pour les lincosamides. Le profil de résistance aux antibiotiques du SARM a montré des taux de résistance plus faibles à certaines familles d'antibiotiques, notamment les aminoglycosides (4,7%), les antifolates (11,6%) et les macrolides (20,9%) par rapport aux résultats d'une étude précédente en Algérie (Achek et al., 2018). Les données du tableau 12 ci-dessous illustre le phénotype de résistance des souches de staphylocoques à chaque antibiotique.

Tableau 12 : Comparaison des profils de sensibilité aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus* et de *Staphylococcus epidermidis* à l'aide du test du Chi-carré.

Antibiotics	<i>Staphylococcus aureus</i> (N=43)		<i>Staphylococcus epidermidis</i> (N=59)	p-value
	MSSA (n=32)	MRSA (n=11)		
Cefoxitine	32 (74,4%)	11 (25,6%)	25 (42,4%)	0,080
Oxacilline	32 (74,4%)	11 (25,6%)	25 (42,4%)	0,080
Imipénèm	42 (97,7%)	1 (2,3%)	0 (0%)	0,000
Vancomycine	43 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	. ^a
Ciprofloxacine	38 (88,4%)	5 (11,6%)	11 (18,6%)	0,336
Gentamycine	41 (95,3%)	2 (4,7%)	13 (22,0%)	0,014
Cotrimoxazole	38 (88,4%)	5 (11,6%)	21 (35,6%)	0,006
Erythromycine	34 (79,1%)	9 (20,9%)	19 (32,2%)	0,208
Lincomycine	38 (88,4%)	5 (11,6%)	16 (27,1%)	0,056
Spiramycine	40 (93,0%)	3 (7%)	11 (18,6%)	0,091
Pristinamycine	40 (93,0%)	3 (7%)	6 (10,2%)	0,575
Fosfomycine	39 (90,7%)	4 (9,3%)	9 (15,3%)	0,373

Note: SASM: *Staphylococcus aureus* sensible à la Méthicilline, SARM: *Staphylococcus aureus* résistant à la Méthicilline, p-value < 0.05 = valeur signifiante

La découverte d'une résistance multiple aux antimicrobiens dans les CoNs est alarmante (Nascimento et *al.*, 2015). Les données du tableau 12 montrent que chez *S. epidermidis*, la résistance la plus élevée est observée pour l'oxacilline et à la céfoxitine (42,4%), ce travail a démontré que la résistance aux aminoglycosides est de 22%, les macrolides (32,2%), et les antifolates (35,6%). Nos résultats sont plus élevés que ceux trouvés par Achek et al. (2018).

Selon la littérature, la résistance aux aminoglycosides est également fréquente chez les espèces de staphylocoques (Nemeghaire et *al.*, 2014), ces espèces peuvent héberger une résistance aux aminoglycosides codée par le gène *aacA-D*, qui est plus répandue et se diffuse chez les staphylocoques d'origine humaine (Johler et *al.*, 2011), et probablement les souches peuvent exprimer des enzymes médiant la résistance à la gentamycine, comme la gentamycine phosphotransférase et l'aminoglycoside 60-N-acétyl-transférase (Eladli et *al.*, 2019).

Les souches de *S. epidermidis* ont acquis une résistance à d'autres antibiotiques tels que la rifampycine, les fluoroquinolones, la gentamycine, la tétracycline, le chloramphénicol, l'érythromycine, la clindamycine, les sulfamides et les streptogramines, car la surutilisation des antibiotiques a conduit à l'émergence de bactéries infectieuses résistantes à un large éventail d'agents antimicrobiens (Otto, 2009 ; Rogers et *al.*, 2009). Aucune des souches n'a présenté de résistance à la vancomycine, qui est largement acceptée comme l'antibiotique le plus efficace pour traiter les infections staphylococciennes (Holmes et Jorgensen, 2008). La gentamycine, l'imipénème et le cotrimoxazole ont conservé leur activité ; cela est probablement dû au fait que ces antibiotiques ne sont utilisés que dans les cas d'infections graves causées par des organismes BMR en médecine humaine (Kellie et *al.*, 2019).

Le test du Chi-carré a indiqué qu'il n'y a pas de différence significative dans les taux de résistance à tous les antibiotiques utilisés (valeur $p > 0,05$) entre *S. aureus* et *S. epidermidis*, à l'exception de l'imipénème, gentamycine, et cotrimoxazole (p -value $< 0,05$), ces résultats suggèrent que les deux souches peuvent héberger des gènes de résistance aux antibiotiques mais sans exprimer ces gènes (Martineau et *al.*, 2000 ; Duran et *al.*, 2012). Globalement, nous avons constaté dans cette étude que 22% des *S. epidermidis* étaient résistants à la gentamycine contre 4,7% pour *S. aureus*. Ces observations sont également en accord avec les résultats de Martineau et al. (2000). La résistance aux aminoglycosides tels que la gentamycine est de plus en plus souvent signalée chez les espèces de CoNS (Dubin et *al.*, 1999).

Résultats et discussion

Les données des tableaux 13, 14 et 15 illustrés ci-dessous fournissent des informations importantes sur la résistance actuelle aux antimicrobiens, y compris la multirésistance (BMR) et la résistance à la méthicilline (RM) pour une collection d'isolats cliniques de *S. aureus* et *S. epidermidis* provenant d'infections communautaires. Les résultats du tableau 13 démontrent le phénotype des souches de *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis* multirésistantes (MR).

Tableau 13 : phénotype des souches de *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis* multirésistantes (MR).

Type de souches	n(%)	Phénotype des bactéries multirésistantes aux antibiotiques
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (n=22)	1 (4,5%)	CIP, GEN, SXT, ERY, LIN, PRI, FOS
	1 (4,5%)	FOX, OXA, GEN, SXT, ERY, LIN, SPI, PRI, FOS
	1 (4,5%)	FOX, OXA, CIP, GEN, SXT, ERY, SPI, PRI, FOS
	2 (9,1%)	FOX, OXA, CIP, GEN
	2 (9,1%)	FOX, OXA, SXT, ERY
	1 (4,5%)	FOX, OXA, GEN, ERY, LIN, SPI, FOS
	1 (4,5%)	FOX, OXA, ERY, LIN
	1 (4,5%)	FOX, OXA, CIP, GEN, SXT, ERY
	1 (4,5%)	SXT, ERY, LIN, SPI, PRI, FOS
	2 (9,1%)	FOX, OXA, SXT, ERY, LIN, SPI
	1 (4,5%)	FOX, OXA, CIP, SXT, ERY, PRI
	2 (9,1%)	FOX, OXA, CIP, GEN, SXT, ERY, LIN, PRI, FOS
	1 (4,5%)	FOX, OXA, GEN, SXT, LIN
	1 (4,5%)	FOX, OXA, SXT, ERY, LIN, SPI
	2 (9,1%)	FOX, OXA, CIP, GEN, SXT, ERY, LIN, PRI, FOS
	1 (4,5%)	FOX, OXA, CIP, SXT, ERY, LIN, SPI
1 (4,5%)	LIN, SPI, FOS	
<i>Staphylococcus aureus</i> (n=6)	1 (16,7%)	FOX, OXA, IMP, CIP, SXT, ERY, LIN, SPI, PRI, FOS
	1 (16,7%)	FOX, OXA, SXT, ERY, LIN, SPI, PRI, FOS
	1 (16,7%)	FOX, OXA, CIP, GEN, SXT, LIN
	1 (16,7%)	FOX, OXA, CIP, SXT
	1 (16,7%)	FOX, OXA, CIP, GEN, SXT, ERY, LIN, SPI, FOS
	1 (16,7%)	ERY, LIN, FOS

Résultats et discussion

Les données du tableau 14 ci-dessous indiquent le nombre de souches de staphylocoques multirésistantes à plusieurs familles d'antibiotiques.

Tableau 14 : souches multirésistantes à plusieurs familles d'antibiotiques

Souches	Nombre (n) et pourcentage (%) des isolats MR à plusieurs familles											
	Trois		Quatre		Cinq		Six		Sept		Huit	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>S. aureus</i> (n=43)	2	33,3	0	0	1	16,7	1	16,7	2	33,3	0	0
<i>S. epidermidis</i> (n=59)	6	27,3	0	0	9	40,9	0	0	5	22,7	2	9,1

Il est alarmant d'avoir un taux élevé de *Staphylococcus* multirésistantes dans la communauté, en particulier chez *S. epidermidis*, qui est l'un des CoNs reconnus comme cause d'infections nosocomiales (Becker et al., 2014). Les deux souches présentent une résistance entre 3 à 7 familles d'antibiotiques différentes (Tableau 14).

Cependant, les mécanismes de résistance chez les CoNs sont moins bien définis (Srinivasan et al., 2002), mais *S. epidermidis* multirésistant est une source potentielle de transfert du gène mec et de plusieurs gènes codant pour la résistance aux antibiotiques entre les espèces de staphylocoques pathogènes (Shittu et al., 2012).

Ainsi, cette multirésistance dans les pays en voie de développement est peut-être due à l'utilisation non contrôlée des antibiotiques car plusieurs antibiotiques sont disponibles sans prescription médicale (Kakai et Wamola, 2002).

L'augmentation du phénotype de résistance peut être associée à l'automédication sans ordonnance, au manque de sensibilisation de la plupart des personnes qui arrêtent les antibiotiques à mi-chemin de la fièvre, et à une diminution des symptômes apparents (Saeed et al., 2020).

Les données du tableau 15 indiquent le profil de résistance à la méthicilline et aussi le profil de multirésistance chez *S. aureus* et *S. epidermidis* selon les types d'échantillons.

Résultats et discussion

Tableau 15 : résistance à la méthicilline et profil de multirésistance de *S. aureus* et *S. epidermidis* selon les types d'échantillons.

Echantillons	<i>S. aureus</i>		<i>S. epidermidis</i>	
	SARM	BMR	R à meth	BMR
Urine	1 (9,1%)	1 (16,7%)	14 (56%)	13 (59,1%)
Peau	0 (0%)	0 (0%)	1 (4%)	1 (4,5%)
Vaginal	0 (0%)	0 (0%)	1 (4%)	1 (4,5%)
Pus	7 (63,6%)	4 (66,7%)	5 (20%)	5 (22,7%)
Mammaire	2 (18,2%)	0 (0%)	2 (8%)	1 (4,5%)
Spermculture	1 (9,1%)	1 (16,7%)	2 (8%)	1 (4,5%)
Sang	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Vulvair	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Total	11 (25,6%)	6 (13,9%)	25 (42,4%)	22 (37,3%)

Les résultats du tableau 15 montrent que le taux de multirésistance et résistance à la méthicilline (RM) chez *S. epidermidis* est plus élevé que celui trouvé parmi les *S. aureus*, selon Cercenado (2010) et Morgenstern et al., (2016) : la plupart des isolats de CoNs RM étaient multirésistants, et que le taux de résistance aux antibiotiques des CoNs isolés de différentes infections cliniques est généralement plus élevé que les infections liées aux CoPs. Ainsi, le traitement des infections liées aux CoNs résistants à la méthicilline est difficile à mettre en œuvre (Biavasco et al., 2000).

A partir du pus, la prévalence de la MR et de la résistance à la méthicilline (MR) chez *S. aureus* est de (66,7% ; 63,6%) respectivement, ces taux sont plus élevés que ceux observés chez *S. epidermidis*. Cependant, dans les échantillons d'urines, la résistance aux antibiotiques de *S. epidermidis* est plus élevée que celle de *S. aureus* (Tableau 15), selon Muder et al. (2006) *S. aureus* est une cause rare d'infections des voies urinaires et qui représente seulement 0,5 % à 6 % de toutes les cultures urinaires positives.

Partie III : caractérisation moléculaire du génome entier des souches cliniques multirésistantes de *Klebsiella pneumoniae*

I. Typage de séquence multi locus (MLST) et analyse de clonalité

Selon les données du typage de séquence multi locus (MLST), tous les isolats appartiennent au type de séquence ST307. L'analyse de clonalité effectuée par cgMLST sur une moyenne de 2145635 bases (<https://microreact.org/project/gekjDYwFLTkanVvTGBzwoi-confile>) a montré que les isolats les plus similaires 03 et 13 (ST307) diffèrent par 39 SNP. Ces isolats ne sont donc pas issus d'une propagation clonale récente mais correspondent probablement à une propagation endémique de ST307. La figure 09 ci-dessous illustre un arbre phylogénétique des souches cliniques de *K. pneumoniae* multirésistantes.

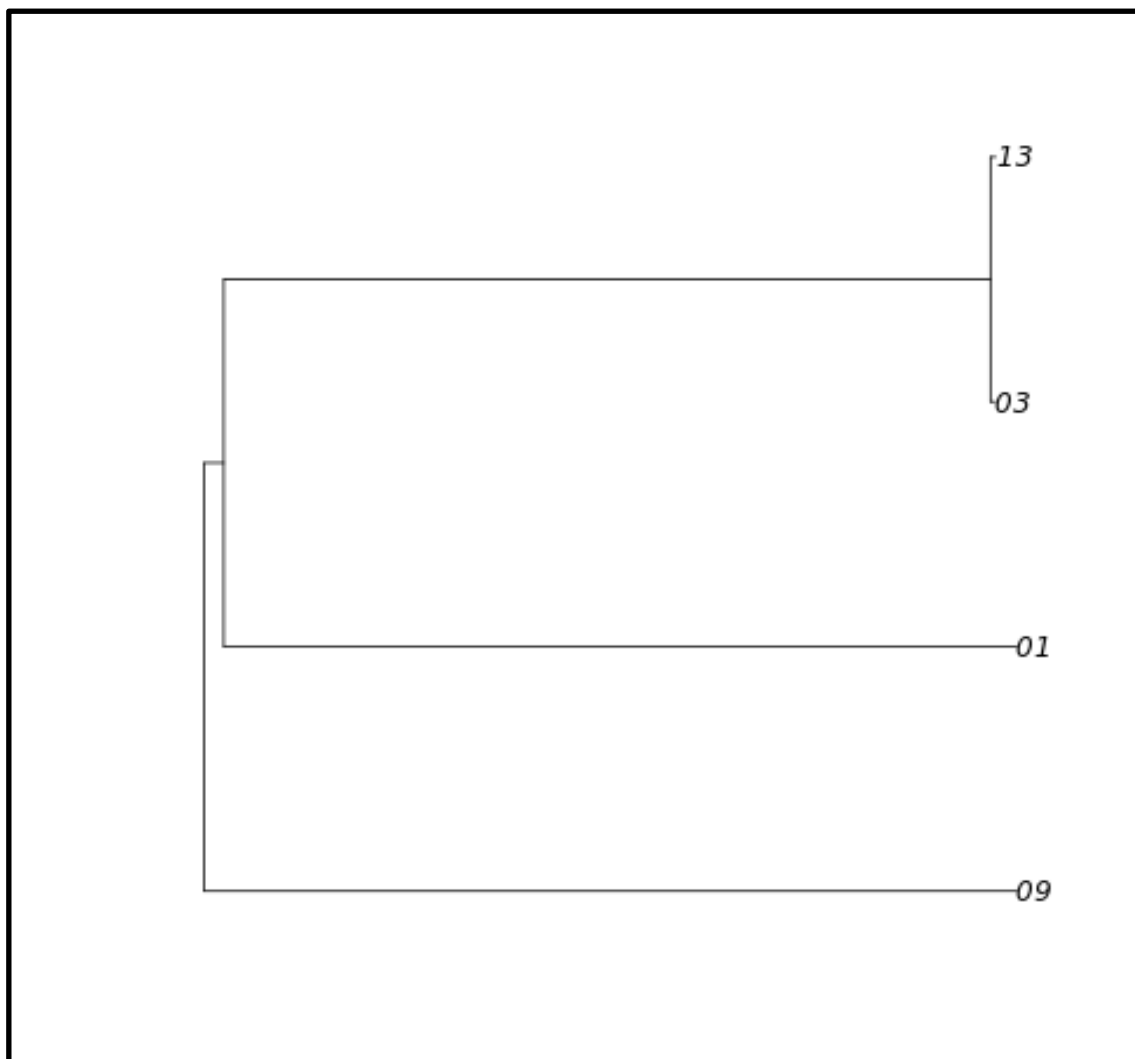


Figure 09 : arbre phylogénétique par multilocus sequence typing (MLST) des souches cliniques de *K. pneumoniae* multirésistantes.

Les infections induites par les entérobactéries deviennent un problème majeur de santé publique dans le monde entier, et la propagation de la résistance aux antibiotiques (RA) chez les agents pathogènes humains est certainement devenue un phénomène mondial qui a aggravé le problème (Beghain et *al.*, 2018). La présente étude rapporte la première analyse et identification de tout le résistome bactérien des souches cliniques multirésistantes (MDR) appartenant à *Klebsiella pneumoniae* dans la ville d'Oum Bouaghi, en Algérie.

II. Gènes codants pour la résistance aux antibiotiques

K. pneumoniae est une bactérie notoire, et en acquérant une résistance antimicrobienne supplémentaire, elle pourrait être à l'origine d'un plus grand nombre d'infections nosocomiales que d'habitude. Cette espèce est connue pour avoir un lien avec l'émergence de souches multirésistantes et hypervirulentes (Rolain, 2013), comme le démontre les données du tableau 16 illustrées ci-dessous.

Résultats et discussion

Table 16 : gènes codant à la résistance aux antibiotiques identifiés chez les souches cliniques de *K. pneumoniae*.

Souches	β-lactam résistance	β-lactam gene(s)	Aminoglycoside gene(s)	Quinolone gene(s)	Sulfonamide gene(s)	Triméthoprimé gene(s)	Cycline gene(s)	Phénicolé gene(s)	Fosfomycine gene(s)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (S1)	ESBL	<i>bla_{CTX-M-15}</i>	<i>aac(3)-IIe</i>	<i>qnrB1</i>	<i>sul1</i>	<i>dfrA1</i>	<i>tet(G)</i>	floR	fosA
	NB-L	<i>bla_{SHV-11}</i>	<i>aac(6')-Ib-cr</i>	<i>gyrA(S83I)</i>	<i>sul2</i>	<i>dfrB1</i>		catB3	
	IRP	<i>bla_{OXA-1}</i>	<i>aadA11</i>						
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (S3)	P	<i>bla_{TEM-1}</i>	<i>aph(3')-Ia</i>	<i>qnrB1</i>	<i>sul2</i>	<i>dfrA14</i>	<i>tetA</i>	-	fosA
	ESBL	<i>bla_{CTX-M-15}</i>	<i>aph(6)-Id</i>	<i>gyrA(S83I)</i>			<i>TetR</i>		
	IRP	<i>bla_{OXA-1}</i>	<i>aph(3'')-Ib</i>						
	NB-L	<i>bla_{SHV-28}</i> <i>bla_{TEM(PaPb)}</i>							
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (S9)	ESBL	<i>bla_{CTX-M-15}</i>	<i>aph(3'')-Ib</i>	<i>qnrS1</i>	<i>sul2</i>	-	-	-	fosA
	NB-L	<i>bla_{SHV-11}</i>	<i>aph(3')-Ia</i>						
	Cr	<i>bla_{NDM-5}</i>	<i>aph(6)-Id</i>						
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (S13)	BLSE	<i>bla_{CTX-M-15}</i>	<i>aac(3)-IIe</i>	<i>qnrB1</i>	<i>sul2</i>	<i>dfrA14</i>	<i>tet(A)</i>	-	fosA
	IRP	<i>bla_{OXA-1}</i>	<i>aac(6')-Ib-cr</i>	<i>gyrA(S83I)</i>			<i>TetR</i>		
	NB-L	<i>bla_{SHV-28}</i>	<i>aph(6)-Id</i>						
	P	<i>bla_{TEM-1}</i> <i>bla_{TEM(PaPb)}</i>	<i>aph(3'')-Ib</i>						

IRP : pénicillinase résistante aux inhibiteurs, **NB-L** : β-lactamase Naturelle, **P** : penicillinases, **C** : céphalosporinases, **Cr** : carbapénèmases, **NC** : cephalosporinase Naturelle, **BLSE** : β-Lactamases à Spectre Étendu

Notre analyse des données génomiques a confirmé que toutes les souches de *K. pneumoniae* (n=4) sont productrices de β-lactamases à spectre étendu (BLSE).

Dans deux souches (S03 et S13), une coexistence de trois gènes BLSE (*CTX-M*, *TEM* et *SHV*) a été trouvée, ce qui a déjà été rapporté en Algérie (Merino et al., 1992), et dans d'autres pays (Belbel et al., 2014). L'association des gènes BLSE conduit à une sélection de gènes de résistance dans les hôpitaux ainsi que dans d'autres secteurs, de plus, la présence de multiples gènes de β-lactamases avec plusieurs variantes dans les souches de *K. pneumoniae*

serait également la cause de l'émergence de souches multirésistantes et d'autres souches extrêmement résistantes aux médicaments (XDR) (Rodríguez-Martínez et al., 2011), en conséquence, tout ce qui a été décrit pourrait être une raison des taux élevés de mortalité humaine lorsqu'il s'agit d'infections cliniques dues aux échecs des thérapies antimicrobiennes (Woodford et al., 2011).

Les gènes *blaSHV* et *blaCTX-M* sont tous les deux présents dans les deux souches (S01 et S09) de *K. pneumoniae* examinées. La coexistence des gènes *blaSHV* et *blaCTX-M* a été observée dans des études précédentes menées en Algérie (Merah-Fergani et al., 2022).

Grâce à cette enquête, les gènes *CTX-M* ont été identifiés dans tous les *K. pneumoniae* (S01, S03, S09 et S13), en particulier le variant de type *blaCTX-M-15* (groupe *CTX-M-1*), une souche bien distribuée dans le monde entier, y compris en Algérie (Abderrahim et al., 2022).

Dans les souches S01 et S09, on a trouvé un gène *blaSHV-11* qui confère à la souche de *K. pneumoniae* une résistance à large spectre aux antibiotiques. Deux souches (S03 et S13) possédant le gène *blaSHV28* ont été identifiées, et ont déjà fait l'objet d'une étude en Algérie (Merah-Fergani et al., 2022).

Deux autres souches (S03 et S13) possédant le gène *blaTEM-1* ont été détectées, elles ont également été étudiées en Algérie (Merah-Fergani et al., 2022). Aucune donnée n'était disponible sur les informations fonctionnelles des gènes variants *blaTEM-1*. L'hyperproduction de la β -lactamase TEM-1 médiée par le promoteur Pa/Pb qui a été détectée dans deux souches de *K. pneumoniae* (S03 et S13) n'a jamais été abordée en Algérie, et selon d'autres études, le *blaTEM-1(PaPb)* est seulement responsable de la résistance élevée à la pipéracilline-tazobactam (TZP) (Babafela et al., 2022).

Le gène *OXA* a été trouvé présent dans trois souches de *K. pneumoniae*. La détection du gène *OXA-1* a également été obtenue en Algérie (Zemmour et al., 2021). Le gène variant *OXA-1* a été découvert en coexistence avec les gènes BLSE, ce résultat est cohérent avec les études précédentes qui ont montré que ces gènes sont couramment présents en combinaison avec les β -lactamases : *CTX-M-15*, *SHV-1*, *TEM-1*, les déterminants de la résistance aux quinolones à médiation plasmidique (PMQR : plasmid mediated quinolones resistance), et *aac(6')-Ib-cr* dans une communauté de souches de *K. pneumoniae* (Zahid, 2015).

D'après ce que nous avons trouvé, celui-ci est considéré comme une **première détection en Algérie du gène New Delhi Métallo- β -lactamases de type *NDM-5*** dans une

souche clinique de *K. pneumoniae* (S09), et cela parce qu'en Algérie, le gène *blaNDM-5* n'a été signalé que dans des souches cliniques d'*Acinetobacter baumannii* (Mesli et al., 2013), *Escherichia coli* (Sassi et al., 2014), et *Enterobacter cloacae* (Nabti et al., 2022).

Contrairement à d'autres pays où le gène *blaNDM-5* a été identifié principalement dans des entérobactéries cliniques. Les carbapénèmases représentent la dernière des menaces pour la santé publique, d'autant plus que la transmission nosocomiale du gène *blaNDM* s'est produite dans de nombreux pays (Dagher et al., 2019). Cependant, en Algérie, le gène *NDM-5* a été détecté dans des *K. pneumoniae* d'origine animale comme les cigognes blanches (Loucif et al., 2022), ce résultat confirme que la faune sauvage en Algérie pourrait servir de réservoir de *K. pneumoniae* multirésistantes, sans oublier sa présence dans certains échantillons fécaux d'animaux de compagnie (Yousfi et al., 2015). Selon des études antérieures, les gènes *NDM-5* offrent une plus grande résistance que les gènes *NDM-1* (Hornsey et al., 2011).

L'un des résultats de la présente étude est l'existence d'une souche de *K. pneumoniae* résistante aux fluoroquinolones, portant deux mécanismes plasmidiques de résistance aux quinolones : le gène variant *aac(6')-Ib-cr* hébergé par deux souches (S01 et S13) et le gène *qnrB1* présent dans trois souches (S01, S03 et S13), ces deux gènes ayant également été identifiés en Algérie (Meradi et al., 2011). Une souche (S09) a acquis le *qnrS1*. D'après ce que nous avons trouvé, il s'agit du deuxième rapport sur la présence de *qnrS1* dans les *K. pneumoniae* productrices de BLSE en Algérie (Zemmour et al., 2021). Il a été décrit précédemment que le *qnrB* était prédominant parmi les souches d'Afrique que le *qnrS*. Un lien a été trouvé entre la production de *blaCTX-M-15* et le gène *qnrB1* et/ou le gène *qnrS1* dans toutes les souches de *K. pneumoniae*, tout ceci provient des données d'études établies en Algérie (Touati et al., 2008) et dans d'autres pays (Poirel et al., 2006) qui rapportent des cas de *K. pneumoniae* hébergeant *blaCTX-M-15* et *aac(6')-Ib-cr* (Bado et al., 2016).

Sur la base des études menées en Algérie, nous rapportons le premier résultat sur le mécanisme chromosomique de la résistance aux quinolones dans trois souches de *K. pneumoniae* (S01, S03, et S13) médiée par la substitution Ser83Leu (S83I) dans le gène *gyrA*, ce qui est cohérent avec les études précédentes de plusieurs pays (Yakout et Ghada, 2022). Le gène *gyrA* (S83I) a été identifié dans des souches de *K. pneumoniae* portant des mécanismes plasmidiques notamment le gène *qnrB1*, ainsi l'apparition de mutations chromosomiques dans les gènes codant l'ADN gyrase peut augmenter le niveau de résistance de la bactérie aux quinolones (Gu et al., 2004).

Nos souches qnr positives présentent une résistance aux aminoglycosides et à d'autres antibiotiques tels que le cotrimoxazole, le sulfamide triméthoprime, la fosfomycine et la cycline. Cela pourrait s'expliquer par le fait que le support plasmidique de la résistance aux quinolones est présent dans une cassette faisant partie d'un intégron portant les autres gènes *PMQR* comme *blaCTXM-15*, le gène *qnrB* et des gènes de multirésistance à d'autres antibiotiques (Yanat et al., 2017a).

Peu de recherches en Algérie ont exposé l'expression détaillée de la résistance aux aminoglycosides. Nos données montrent que toutes les souches sont résistantes aux aminoglycosides mais avec une expression génétique différente, et ceci inclut : le gène *aph(6)-Id*, *aac(3)-Ile*, *aac(6')-Ib-cr*, *aph(3')-Ia*, et *aph(3'')-Ib*. Alors qu'une (S01) des souches de *K. pneumoniae* héberge des gènes de type *aadA11*, il a été détecté pour la première fois en Algérie à partir de souches cliniques de *K. pneumoniae*. Parmi ces gènes identifiés, le plus préoccupant est le gène variant *aac(6')-Ib-cr* (Yanat et al., 2017b). Tous les gènes de résistance aux aminoglycosides découverts dans cette étude n'ont pas fait l'objet de recherches en Algérie, d'autant plus que la plupart d'entre eux ont été localisés dans des éléments mobiles (plasmides, intégrons, transposons et éléments intégratifs) (Ioannis et al., 2021).

En Algérie, cette étude est considérée comme la première investigation traitant le niveau de la résistance aux sulfamides et à la tétracycline chez des souches cliniques de *K. pneumoniae*. La résistance aux sulfamides chez toutes les souches de *K. pneumoniae* (n=4) est due aux gènes *sul1* et *sul2*, ainsi qu'à la résistance au triméthoprime par les gènes : *dfrA1*, *A7*, *dfrA14* et *dfrB1*.

Toutes les souches présentent une résistance à la fosfomycine et portent un gène *fosA*. De plus, il y a trois souches qui portent les gènes *tetA*, *tetG*, et *tetR* qui ont donné une résistance aux cyclines. L'acquisition de la résistance à la fosfomycine et à la tétracycline par des souches cliniques de *K. pneumoniae* partageant des BLSE et/ou des carbapénémases représente une nouvelle menace qui complique la situation et montre que *K. pneumoniae* reste un agent causal très sérieux d'échec thérapeutique (Aggoune et al., 2014).

Les souches les plus similaires S03 et S13 (ST307) ne diffèrent que par 39 SNP et sont toutes les deux porteuses de trois gènes BLSE : *blaTEM-1*, *blaCTX-M-15*, *blaOXA-1*, *blaSHV-28* et *blaTEM(PaPb)*. Ils appartiennent au même ST-307 comme l'indique l'arbre phylogénétique du typage de séquence multilocus (MLST) de *Klebsiella pneumoniae*. Le clone ST307 a été précédemment détecté en Algérie par (Cheng et al., 2012).

Nos résultats montrent que ce clone était associé à trois BLSE (*bla*CTX-M-15), *qnrB* et à d'autres gènes. *K. pneumoniae* ST307 est apparu en 2008 aux Pays-Bas, les premiers rapports publiés provenaient du Pakistan (Habeeb et al., 2013) et des États-Unis (Castanheira et al., 2013), suivis par des articles en Italie (Bonura et al., 2015), en Corée du Sud (Park et al., 2015), en Tunisie (Mansour et al., 2015), et au cours de l'année 2016, le clone est apparu en Colombie (Ocampo et al., 2016), en Espagne (Ruiz-Garbajosa et al., 2016), en Russie (Lazareva et al., 2016), au Brésil (Dropa et al., 2016), au Japon (Harada et al., 2016), et en Afrique de l'Ouest (Schaufler et al., 2018).

Plusieurs rapports ont montré que l'origine principale du *K. pneumoniae* ST307 multirésistante provenait principalement d'échantillons cliniques (Baek et al., 2020), ainsi que d'autres sources (Loncaric et al., 2020). L'Organisation mondiale de la santé (2017) a récemment déclaré que le clone ST307 représente des menaces critiques pour la santé publique. Il a également été conclu que le *K. pneumoniae* ST307 peut souvent porter des gènes transférables conférant une résistance aux carbapénèmes et une variété de déterminants de résistance et de virulence supplémentaires, en plus d'éléments intégratifs et conjugatifs, et également des phages (Wyres et al., 2019), par conséquent, le *K. pneumoniae* ST307 est considéré à l'échelle mondiale comme un véhicule important de la diffusion des déterminants de la résistance antimicrobienne (Pitout et Finn, 2020), et a été responsable de plusieurs épidémies mondiales nosocomiales et de centres de soins de longue durée (Strydom et al., 2020). L'analyse MLST a indiqué que la souche ST307 était composée d'une lignée à ramification profonde contenant les mutations S83I de la *gyrA* dans les régions déterminantes de la résistance aux quinolones (QRDR) qui ont montré une distribution mondiale (Gisele et al., 2020).

*Conclusión
et perspectivas*

Conclusion

Notre étude a porté sur l'isolement, l'identification et l'évaluation des niveaux de la résistance aux antibiotiques chez plusieurs souches Gram négatives et Gram positives provenant de plusieurs origines (alimentaire et clinique) dans la wilaya d'Oum EL Bouaghi, par la suite une caractérisation moléculaire du génome entier des souches de *K. pneumoniae* cliniques multirésistantes a été effectué afin de déterminer tous les gènes de résistance, on s'est intéressé également au typage de séquence multilocus (MLST) et à l'analyse de clonalité de ces souches de *K. pneumoniae*.

Les résultats d'identification ont indiqué qu'à partir de plusieurs échantillons d'origine clinique et alimentaire, plusieurs souches d'*E. coli* ont été obtenu et présentant un phénotype de résistance vis-à-vis des antibiotiques les plus utilisés en médecine humaine et animale dont : les β -lactamines, les fluoroquinolones et des aminoglycosides. On s'attendait à ce que la résistance soit plus importante chez les souches cliniques que chez les souches alimentaires, étant donné l'ampleur des traitements et des maladies multiples chez l'homme, mais il s'est avéré que c'était le contraire dans notre travail. Les souches d'*E. coli* résistantes voir multirésistantes présentes dans les aliments constituent donc un risque potentiel majeur pour les consommateurs, et leur persistance et leur dissémination dans la chaîne alimentaire peuvent présenter un risque indirect pour la santé publique car lors de la consommation d'aliments contaminés, un transfert des gènes de résistance aux antibiotiques au microbiote de la flore du tractus gastro-intestinal et fécale est toujours possible (Johnson et *al.*, 2007 ; Leverstein-van Hall et *al.*, 2011).

Il est alarmant d'avoir un taux élevé de *Staphylococcus* multirésistantes dans la communauté, en particulier chez *S. epidermidis*, qui est l'un des staphylocoques à coagulase négative appartenant à la flore bactérienne commensale cutanée normale de l'homme, et qui avant 1970 était considéré comme bactéries inoffensives (Contreras et *al.*, 2003), mais ces dernières années, ce germe a été reconnu comme un pathogène opportuniste important, (Becker et *al.*, 2014). Parmi les SARM obtenus, une souche présente une résistance aux lincosamides associée à une sensibilité aux macrolides (phénotype ERY^S_LIN^R), ce qui est plus fréquent parmi les isolats de SARM d'origine animale mais très inhabituel parmi les SARM d'origine humaine.

La caractérisation moléculaire des souches multirésistantes de *K. pneumoniae* a permis d'identifier plusieurs gènes de résistance à plusieurs familles d'antibiotiques comme pour les

Conclusion et perspectives

β -lactamines : *blaCTX*, *blaSHV*, *blaTEM*, *blaNDM*, *blaOXA*, pour les quinolones : *qnrB1*, *gyrA(S83I)*, *qnrS1*, pour les aminoglycosides : *aac(3)-Ile*, *aac(6')-Ib-cr*, *aadA11*, *aph(3')-Ia*, *aph(6)-Id*, *aph(3'')-Ib* et *aac(3)-Ile*, pour les sulfonamide : *sul1* et *sul2*, pour les triméthoprime : *dfrA1*, *dfrB1* et *dfrA14*, pour les cyclines : *tet(G)*, *tetA*, *tetR* et enfin pour les phénicolés : *floR* et *catB3*.

L'exclusivité des résultats du séquençage par illumina se résume par la détection pour la première fois en Algérie du gène *blaNDM-5* chez des souches cliniques multirésistantes de *K. pneumoniae*. En outre, nos données révèlent que les souches S03 et S13 appartiennent au clone ST307 et sont porteurs de trois gènes BLSE : *blaTEM-1*, *blaCTX-M-15*, *blaOXA-1*, *blaSHV-28* et *blaTEM(PaPb)*.

L'organisation mondiale de la santé (OMS) a récemment déclaré que le clone ST307 représente des menaces critiques pour la santé publique (OMS, 2017). Car il peut souvent porter des gènes transférables conférant une variété de déterminants de résistance, de virulence, des éléments intégratifs et conjugatifs, et également des phages. Par conséquent, le clone ST307 présente un véhicule important pour la diffusion des déterminants de la résistance aux antimicrobiens, et a été responsable de plusieurs épidémies mondiales nosocomiales.

Afin de sensibiliser la population à l'antibiorésistance, l'OMS a recommandé aux pays de mettre en place des programmes de surveillance de la résistance aux antimicrobiens car le contrôle de la résistance aux antimicrobiens nécessite le suivi et la surveillance du niveau d'émergence des bactéries résistantes, ainsi que des gènes de résistance et de leur localisation, ce sont des mesures qui peuvent limiter l'apparition de nouveaux gènes codant pour d'autres profils de résistance aux antibiotiques et qui pourraient être une source d'émergence de nouveaux pathogènes humains dans le futur.

Comme perspectives, en Algérie surtout, une surveillance régulière des prescriptions d'antibiotiques pour soigner les infections humaines et animales est essentielle afin de préserver l'efficacité de ces molécules et de réduire l'émergence de souches multirésistantes. Comme il faut essayer de se focaliser sur la production de phyto-molécules et sur d'autres molécules bioactives d'origine microbienne à l'échelle biotechnologique pour traiter certaines maladies afin de tenter de diminuer la surconsommation d'antibiotiques.

Conclusion et perspectives

Le taux élevé de résistance aux antibiotiques chez les bactéries Gram positives et Gram négatives est un signal d'alarme, afin d'adopter de nouvelles politiques de contrôle pour prévenir la propagation de cette résistance aux antimicrobiens.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

A

Aarestrup FM, (1999). Association between the consumption of antimicrobial agents in animal husbandry and the occurrence of resistant bacteria among food animals. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 12: 279-285

Abdeen EE, Mousa WS, Abdelsalam SY, Heikal HS, Shawish RR, Nooruzzaman M, Soliman MM, Batiha GE, Hamad A, Abdeen A, (2021). Prevalence and characterization of coagulase-positive *Staphylococci* from food products and human specimens in Egypt. *Antibiotics*. 10(1): 75

Abdel-Rady A, and Sayed M, (2009). Epidemiological studies on subclinical mastitis in dairy cows in Assiut Governorate. *Veterinary World*. 2(10): 373-380

Abderrahim Amel, Djahmi Nassima, Loucif Lotfi, Nedjai Sabrina, Chelaghma Widad, Gameci-Kirane Djamila, Dekhil Mazouz, Lavigne Jean-Philippe, and Pantel Alix, (2022). Dissemination of *OXA-48* and *NDM-1* Producing Enterobacterales Isolates in an Algerian Hospital. *Antibiotics*. 11: 750

Abouzeed YM, Baucheron S, and Cloeckaert A, (2008). *ramR* mutations involved in efflux-mediated multidrug resistance in *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 52: 2428–2434

Abraham EP, and Chain E, (1988). An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. 1940. *Reviews Infectious Diseases*. 10: 677–678

Achek R, Hotzel H, Cantekin Z, Nabi I, Hamdi TM, Neubauer H, El-Adawy H, (2018). Emerging of antimicrobial resistance in staphylococci isolated from clinical and food samples in Algeria. *BioMed Central Research Notes*. 11: 663

Adewoye L, Sutherland A, Srikumar R, and Poole K, (2002). The *mexR* repressor of the *mexAB-oprM* multidrug efflux operon in *Pseudomonas aeruginosa*: characterization of mutations compromising activity. *Journal of Bacteriology*. 184: 4308–4312

Références bibliographiques

- Adzitey F, (2015). Antibiotic resistance of *Escherichia coli* isolated from beef and its related samples in Techiman municipality of Ghana. *Asian Journal of Animal Sciences*. 9(5): 233–240
- 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: 327-329
- Aguiar JM, Chacon J, Canto'n R, Baquero F, (1992). The emergence of highly fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli* in community-acquired urinary tract infections. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 29: 349–350
- Akanbi OE, Njom HA, Fri J, Otigbu AC, and Clarke AM, (2017). Antimicrobial Susceptibility of *Staphylococcus aureus* Isolated from Recreational Waters and Beach Sand in Eastern Cape Province of South Africa. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 14: 1001
- Alanis AJ, (2005). Resistance to antibiotics: are we in the post-antibiotic era?. *Archives of medical research*. 36(6): 697-705
- Alioua M, Labid A, Amoura K, Bertine M, Gacemi-Kirane D, Dekhil M, (2014). Emergence of the European ST80 clone of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a cause of healthcare-associated infections in Eastern Algeria. *Médecine et Maladies Infectieuses*. 44: 180-183
- Allen HK, Donato J, Wang HH, Cloud-Hansen KA, Davies Julian, and Handelsman Jo, (2010). Call of the wild: antibiotic resistance genes in natural environments. *Nature Reviews Microbiology*. 8: 251–259
- Alonso A, Sanchez P, Martinez JL, (2001). Environmental selection of antibiotic resistance genes. *Environmental Microbiology*. 3: 1-9
- Alos JI, Balas D, Gomez-Garces JL, (1997). Grupo de Estudio de Infeccion en Atencion Primaria. Prevalencia de susceptibilidad a quinolonas y otros antibioticos en microorganismos aislados de bacteriurias extrahospitalarias de Madrid en 1995. *Revista Clínica Española*. 197: 167–171

Références bibliographiques

- Altaf M, Ijaz M, Iqbal MK, Rehman A, Avais M, Ghaffar A, Ayyub RM, (2019). Molecular characterization of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and associated risk factors with the occurrence of goat mastitis. *Pakistan Veterinary Journal*. 40(1): 1–6
- Al-Talhi AD, Gharbawy YA, Hassan SA, (2010). Antibiotic resistance in *Escherichia coli* isolated from retail raw chicken meat in Taif, Saudi Arabia. *Foodborne Pathogens and Disease*. 7(3): 281–285
- Anderson E, (2000). Drug resistance in *Salmonella typhimurium* and its implications. *British Medical Journal*. 3: 333-339
- Angelillo IF, Viggiani NMA, Rizzo L, Bianco A, (2000). Food handlers and foodborne diseases: knowledge attitudes and reported behavior in Italy. *Journal of Food Protection*. 3: 381-385
- Anonymous, (2006). Direct fed microbial, enzyme and forage additive compendium. Miller Publishing Company. Alternatives to antibiotic use: probiotics for the gut. *Animal Biotechnology*. 13: 97-112
- Antri K, Rouzic N, Dauwalder O, Boubekri I, Bes M, Lina G, Vandenesch F, Tazir M, Ramdani-Bougoussa N, Etienne J, (2011). High prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clone ST80-IV in hospital and community settings in Algiers. *Clinical Microbiology and Infection*. 17: 526-532
- Arama V, (2020). Topical antibiotic therapy in eye infections-myths and certainties in the era of bacterial resistance to antibiotics. *Romanian journal of ophthalmology*. 64: 245–260
- Arbeit D, (1988). *Laboratory procedures for the epidemiological analysis of Staphylococci*. In: Archer G, Crossley T. (Eds.) *Staphylococci and Staphylococci Diseases*. New York: Churchill Livingstone. P: 203-286
- Archana Iyer, Taha Kumosani, Esam Azhar, Elie Barbour, Steve Harakeh, (2014). High incidence rate of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) among healthcare workers in Saudi Arabia. *Journal of Infections in Developing Countries*. 8(3): 372-378
- Archer GL, (1995). *Staphylococcus epidermidis and other coagulase-negative staphylococci*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases*. 4th Ed. New York: Churchill Livingstone. P: 1777–1784

Références bibliographiques

Argudín MÁ, Mendoza MC, Rodicio MR, (2010). Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins. *Toxins*. 2: 1751–1773

Argudín MA, Tenhagen BA, Fetsch A, Sachsenröder J, Käsbohrer A, Schroeter A, Hammerl JA, Hertwig S, Helmuth R, Bräunig J, Mendoza MC, Appel B, Rodicio MR, and Guerra B, (2011). Virulence and resistance determinants of German *Staphylococcus aureus* ST398 isolates from nonhuman sources. *Applied and Environmental Microbiology*. 77: 3052–3060

Aung MS, San T, Urushibara N, San N, Oo WM, Soe PE, Kyaw Y, Ko PM, Thu PP, Hlaing MS, Kawaguchiya M, and Kobayashi N, (2019). Molecular Characterization of Methicillin Susceptible and Resistant *Staphylococcus aureus* Harboring Panton Valentine Leukocidin-Encoding Bacteriophages in a Tertiary Care Hospital in Myanmar. *Microbial Drug Resistance*. 10: 1-8

Avril JM, Dabernat H, Monteil DH, (2000). *Bactériologie clinique*. 3^{ème} Ed. Elsevier. Paris. P: 602

Azèle Ferron, (1983). *Bactériologie médicale : à l'usage des étudiants en médecine*. Éd. C. et R.; 12^{ème} éd. P: 376

B

Babafela B, Awosile, Michael Agbaje, Oluwawemimo Adebawale, Olugbenga Kehinde, Ezekiel Omoshaba, (2022). β -lactamase resistance genes in Enterobacteriaceae from Nigeria. *African Journal of Laboratory Medicine*. 11(1): a1371

Bado I, Gutierrez C, Garcia-Fulgueiras V, Cordeiroa NF, Pireza LA, Seija V, Bazet C, Rieppi G, Vignoli R, (2016). CTX-M-15 in combination with aac(6')-Ib-cr is the most prevalent mechanism of resistance both in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*, including *K. pneumoniae* ST258, in an ICU in Uruguay. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. 6: 5-9

Baek EH, Kim SE, Kim S, Lee S, Cho OH, Hong SI, Shin JH, and Hwang I, (2020). Successful control of an extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* ST307 outbreak in a neonatal intensive care unit. *BMC Infectious Diseases*. 20(1): 166

Références bibliographiques

- Bansal S, Bajaj P, Pandey S, and Tandon V, (2017). Topoisomerases: Resistance versus sensitivity, how far we can go?. *Medicinal research reviews*. 37(2): 404-438
- Baquero F, Martinez JL, and Canton R, (2008). Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. *Current Opinion in Biotechnology*. 19: 260-265
- Barguigua A, El Otmani F, Talmi M, Zerouali K, and Timinouni M, (2013). Prevalence and types of extended spectrum β -lactamases among urinary *Escherichia coli* isolates in Moroccan community. *Microbial Pathogenesis*. 61: 16-22
- Bassetti M, Poulakou G, Ruppe E, Bouza E, Van Hal SJ, Brink A, (2017). Antimicrobial resistance in the next 30 years, humankind, bugs and drugs: a visionary approach. *Intensive Care Medicine*. 43: 1464-1475
- Becker K, Heilmann C, Peters G, (2014). Coagulase-negative Staphylococci. *Clinical Microbiology Reviews*. 27: 870-926
- Beghain J, Bridier-Nahmias A, Le Nagard H, Denamur E, Clermont O, (2018). Clermon Typing: An easy to use and accurate in silico method for *Escherichia* genus strain phylotyping. *Microbial Genomics*. 4
- Belbel Z, Chettibi H, Dekhil M, Ladjama A, Nedjai S, Rolain JM, (2014). Outbreak of an *armA* methyl transferase producing ST39 *Klebsiella pneumoniae* clone in a pediatric Algerian Hospital. *Microbial Drug Resistance*. 20: 310-5
- Benito D, Lozano C, Rezusta A, Ferrer I, Vasquez MA, Ceballos S, Zarazaga M, Revillo MJ, Torres C, (2014). Characterization of tetracycline and methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains in a Spanish hospital: Is livestock-contact a risk factor in infections caused by MRSA CC398? *International Journal of Medical Microbiology*. 304: 1226-1232
- Benouda A, and Elhamzaui S, (2009). *Staphylococcus aureus*: épidémiologie et prévalence des souches résistantes à la methicilline (SARM) au Maroc. *Revue Tunisienne d'Infectiologie*. 3(8): 15-20
- Bensaid L, Jouini A, Klibi N, Dziri R, Alonso CA, Boudabous A, Benslama K, Torres C, (2015a). Detection of extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae in vegetables, soil and water from farm environment in Tunisia. *International Journal of Food Microbiology*. 203: 86–92

Références bibliographiques

- Bentroki AA, Gouri A, Yakhlef A, Touareg A, Guerroudj A, Bensouda TO, (2012). Antibiotic resistance of strains isolated from community acquired urinary tract infections between 2007 and 2011 in Guelma (Algeria). *Annale de Biologie Clinique*. 70(6): 666-668
- Benyagoub E, Benyagoub E, Berbaoui H, Rahmani C, Benyoussef L, (2020). Identification and study of the emergence of antibiotic resistance of microorganisms responsible for urinary tract infections in Bechar (Algeria). *Bangladesh Journal of Medical Science*. 19(03): 404-413
- Bertino JS, Jr, (2009). Impact of antibiotic resistance in the management of ocular infections: The role of current and future antibiotics. *Clinical Ophthalmology*. 3: 507–521
- Betitra Y, Teresa V, Miguel V, Abdelaziz T, (2014). Determinants of quinolone resistance In *Escherichia coli* causing community acquired urinary tract infection in Bejaia, Algeria. *Asian Pacific journal of Tropical Medicine*. 7(6): 462-467
- Beuchat LR, (1996). Pathogenic microorganisms associated with fresh produce. *Journal of Food Protection*. 59: 204-216
- Bhoomika SS, Patyal A, Gade NE, (2016). Occurrence and characteristics of extended spectrum β -lactamases producing *Escherichia coli* in foods of animal origin and human clinical samples in Chhattisgarh, India. *Veterinary World*. 9(9): 996-1000
- Biavasco F, Vignaroli C, Varaldo PE, (2000). Glycopeptide resistance in coagulase-negative Staphylococci. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 19: 403-417
- Blair JMA, Webber MA, Baylay AJ, Ogbolu DO, Piddock LJV, (2015). Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature Reviews Microbiology*. 13: 42-51
- Böhm ME, Razavi M, Marathe NP, Flach CF, and Larsson DJ, (2020). Discovery of a novel integron-borne aminoglycoside resistance gene present in clinical pathogens by screening environmental bacterial communities. *Microbiome*. 8(1): 1-11
- Bonura C, Giuffre M, Aleo A, Fasciana T, Di Bernardo F, Stampone T, Giammanco A, Palma DM, Mammina C, MDR-GN Working Group, (2015). An update of the evolving epidemic of *blaKPC* carrying *Klebsiella pneumoniae* in Sicily, Italy, 2014: emergence of multiple non-ST258 clones. *PLoS One*. 10: e0132936

Références bibliographiques

Brejyeh Z, Jubeh B, and Karaman R, (2020). Resistance of Gram Negative Bacteria to Current Antibacterial Agents and Approaches to Resolve It. *Molecules*. 25(6): 1340

Brinas L, Zarazaga M, Saenz Y, Ruiz-Larrea F, Torres C, (2002). Beta-lactamases in ampicillin-resistant *Escherichia coli* isolates from foods, humans, and healthy animals. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 46: 3156–3163

Bryce A, Hay AD, Lane IF, Thornton HV, Wootton M, Costelloe C, (2016). Global prevalence of antibiotic resistance in paediatric urinary tract infections caused by *Escherichia coli* and association with routine use of antibiotics in primary care: systematic review and meta-analysis. *British Medical Journal*. 352: i939

Bryskier A, (1999). *Evolution de la chimiothérapie antibactérienne*. Antibiotiques, agents antibactériens et antifongiques. Ellipses Ed. Paris. P: 747

Buchfink B, Xie C, Huson DH, (2015). Fast and sensitive protein alignment using DIAMOND. *Nat Methods*. 12: 59-60

Bush K, (2010). Bench to bedside review: the role of β -lactamases in antibiotic resistant gram negative infections. *Critical Care*. 14(3): 224

Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA, (1995). A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 39: 1211-1233

Butler C, Hillier S, Roberts Z, Dustan F, Howard A, Palmer S, (2006). Antibiotic-resistant infections in primary care symptomatic for longer and increased workload: outcomes for patients with *E. coli* UTIs. *Br. Journal of General Practice*. 56: 686-692

C

Cabello FC, (2006). Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. *Environmental Microbiology*. 8:1137-1144

Références bibliographiques

- Carattoli A, (2008). Animal reservoirs for extended spectrum β -lactamase producers. *Clinical Microbiology Infection*. 14: 117-123
- Carattoli A, (2013). Plasmids and the spread of resistance. *International Journal of Medical Microbiology*. 303: 298-304
- Cameron A, and McAllister TA, (2016). Antimicrobial usage and resistance in beef production. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 7(1): 68
- Cartwright EJP, Paterson GK, Raven KE, Harrison EM, Gouliouris T, Kearns A, Pichon B, Edwards G, Skov RL, Larsen AR, Holmes MA, Parkhill J, Peacock SJ, Török EM, (2013). Use of vitek 2 antimicrobial susceptibility profile to identify mecC in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Microbiology*. 51: 2732-2734
- Castanheira M, Farrell SE, Wanger A, Rolston KV, Jones RN, Mendes RE, (2013). Rapid expansion of KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in two Texas hospitals due to clonal spread of ST258 and ST307 lineages. *Microbial Drug Resistance*. 19: 295-297
- Castro-Rosas J, Cerna-Cortes JF, Mendez-Reyes E, Lopez-Hernandez D, Gomez-Aldapa CA, and Estrada-Garcia T, (2012). "Presence of faecal coliforms, *Escherichia coli* and diarrheagenic *E. coli* pathotypes in ready to eat salads, from an area where crops are irrigated with untreated sewage water". *International Journal of Food Microbiology*. 156(2): 176-180
- Castro A, C Santos, H Meireles, Silva J, and Teixeira P, (2016). Food handlers as potential sources of dissemination of virulent strains of *Staphylococcus aureus* in the community. *Journal of Infection and Public Health*. 9: 153-160
- Cattoir V, and Daurel C, (2009). Quelles nouveautés en antibiothérapie? *Médecine et Maladies Infectieuses*. 2966: 1-20
- Cavallo JD, Fabre R, Jehl F, Rapp C, Garrabé E, (2004). β -lactamines. *EMC Maladies Infectieuses*. 1: 129-202
- Cavallo JD, Garrabé É, (2003). Outils du diagnostic biologique des infections urinaires nosocomiales (IUN) : analyse critique Laboratory diagnosis of nosocomial urinary tract infections (NUTI): a literature review. *Médecine et Maladies Infectieuses*. 33(9): 447-456

Références bibliographiques

- Ceballos S, Aspiroz C, Ruiz-Ripa L, Reynaga E, Azcona-Gutiérrez JM, Rezusta A, Seral C, Antoñanzas F, Torres L, López C, López-Cerero L, Cercenado E, Zarazaga M, Torres C, (2019). Study Group of clinical LA-MRSA epidemiology of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in hospitals located in Spanish regions with different pig farming densities: a multicentre study. *Journal of Antimicrobial and Chemotherapy*. 74: 2157-2161
- Center for Disease Control (CDC), (2008). National Antimicrobial Resistance Monitoring System (NARMS). Human Isolates of Enteric Bacteria Final Report.
- Cercenado E, (2010). Update of antimicrobial resistance in Gram positive microorganisms. *Medicine Clinica*. 3: 10-15
- Cesur S, and Demiröz AP, (2013). Antibiotics and the mechanisms of resistance to antibiotics. *Medical Journal of Islamic World Academy of Sciences*. 109(1007): 1-5
- Chakravarty S, and Massé E, (2019). RNA-dependent regulation of virulence in pathogenic bacteria. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 9: 337
- Chalal L, Nabti EHE, and Haddad S, (2018). *Caractérisation phénotypique des souches de SARM et de E-BLSE isolées d'El-Kettar*. Thèse de doctorat. Université de Béjaïa
- Charpentier Eléna, (2016). *Apport du séquençage nouvelle génération au typage MLST de Pneumocystis jirovecii dans le contexte d'une épidémie chez des patients transplantés d'organe solide*. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Joseph Fourier, faculté de pharmacie de Grenoble
- Chaudhary AS, (2016). A review of global initiatives to fight antibiotic resistance and recent antibiotics discovery. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 6: 552–556
- Cheng G, Hu Y, Yin Y, Yang X, Xiang C, Wang B, Yanfei Chen, Fengling Yang, Fang Lei, Na Wu, Na Lu, Jing Li, Quanze Chen, Lanjuan Li, Baoli Zhu, (2012). Functional screening of antibiotic resistance genes from human gut microbiota reveals a novel gene fusion. *FEMS Microbiology Letter*. 336: 11-16
- Chen CY, Yan X, and Jackson CR, (2015). *Antimicrobial resistance and food safety: methods and techniques*. 1st Edition Academic Press. P: 452

Références bibliographiques

Chervet D, Lortholary O, Zahar JR, Fougeray DU, Pilmis A, Partouche BH, (2018). Antimicrobial resistance in community acquired urinary tract infections in Paris in 2015. *Médecine et Maladies Infectieuses*. 48(3): 188-192

Choi MJ, Ko KS, (2014). Mutant prevention concentrations of colistin for *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates. *Journal of Antimicrobial and Chemotherapy*. 69: 275-277

Clewell DB, (2014). Antibiotic resistance plasmids in bacteria. University of Michigan, Ann Arbor, Michigan, USA. Ed: Chichester. 10.1002/9780470015902.a0001491.pub3

Clinical and Laboratory Standards Institute, (2010). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twentieth informational supplement; M100-S20. June 2010 Update

Clinical and Laboratory Standards Institute, (2015). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, Twenty-Fifth informational supplement M100-S25.

Collignon PJ, Wilkinson IJ, Gilbert GL, Grayson ML, and Whitby RM, (2006). *Medical Journal of Australia*. 184: 404-406

Contreras A, Luengo C, Sanchez A, Corrales JC, (2003). The role of intra-mammary pathogens in dairy goats. *Livestock Production Science*. 79(2-3): 273-283

Coque TM, Baquero F, Cantón R, (2008). Increasing prevalence of ESBL-producing *Enterobacteriaceae* in Europe. *Euro Surveill*. 13(47)

Costa JCB, Freitas EI, Lemos AA, Rosas CO, Medeiros VM, Warnken MB, Miyazakinn NHT, Marin VA, (2012). Isolation of *Staphylococcus* from minas frescal type cheese and detection of enterotoxins genes. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*. 71: 250-258

Cottell JL, Webber MA, Coldham NG, Taylor DL, Cerdeño-Tárraga AM, Hauser H, Thomson NR, Woodward MJ, and Piddock LJV, (2011). Complete sequence and molecular epidemiology of *IncK* epidemic plasmid encoding blaCTX-M-14. *Emerging Infectious Diseases*. 17: 645-652

Courvalin P, (1994). Transfer of antibiotic resistance genes between Gram positive and Gram negative bacteria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 38: 1447-51

Courvalin P, (2005). Antimicrobial drug resistance: prediction is very difficult, especially about the future. *Emerging Infectious Diseases*. 11(10)

D

D'Acosta VM, McGrann KM, Hughes DW, Wright GD, (2006). Sampling the antibiotic resistome. *Science*. 311: 374-377

Dagher TN, Azar E, Al-Bayssari C, Chamieh SA, and Rolain JM, (2019). First Detection of Colistin Resistant *Klebsiella pneumoniae* in Association with NDM-5 Carbapenemase Isolated from Clinical Lebanese Patients. *Microbial Drug Resistance*. 00(00)

Dantas G, Sommer MOA, (2014). How to fight back against antibiotic resistance. *American Scientist*. 102: 42-51

Das B, Verma J, Kumar P, Ghosh A, and Ramamurthy T, (2020). Antibiotic resistance in *Vibrio cholerae*: understanding the ecology of resistance genes and mechanisms. *Vaccine*. 38: A83-A92

Davies J, (2010). Origin and evolution of Antibiotic Resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 417-433

Davison J, (1999). Genetic exchange between bacteria in the environment. *Plasmid*. 42: 73-91

Daza R, Gutierrez J, Piedrola G, (2001). Antibiotic susceptibility of bacterial strains isolated from patients with community-acquired urinary tract infections. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 18: 211-215

De Bruyne N, Atkinson J, Pokludová L, and Borriello SP, (2014). Antibiotics used most commonly to treat animals in Europe. *Veterinary Record*. 175(13): 325

De Buyser ML, Dufour B, Maire M, Lafarge V, (2001). Implication of milk and milk products in food-borne diseases in France and in different industrialized countries. *International Journal of Food Microbiology*. 67: 1-17

De Champs C, D Sirot, C Chanal, R Bonnet, J Sirot, and The French Study Group, (2000). A 1998 survey of extended-spectrum beta-lactamases in *Enterobacteriaceae* in France. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 44: 3177-3179

Références bibliographiques

- De la Cruz F, and Davies J, (2000). *Trends in Microbiology*. 8: 128-133
- Delcour AH, (2009). Outer membrane permeability and antibiotic resistance. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1794: 808-816
- Denyer SP, Hodges NA, Gorman, SP and Gilmore BF. Hugo and Russell, (2011). *Pharmaceutical Microbiology*. (8th Edition). WileyBlackwell Publishing House, NewDelhi, India. P: 200-229
- Derakhshan S, Pourzare M, Roshni D, (2018). Distribution of virulence factors according to antibiotic susceptibility among *Escherichia coli* isolated from urinary tract infection. *Indian Journal of Nephrology*. 28(3): 191-197
- Dhanji H, Khan P, Cottell JL, Piddock JVL, Zhang J, Livermore DM, and Woodforda N, (2012). Dissemination of pCT-like IncK plasmids harboring *CTX-M-14* extended-spectrum β -lactamase among clinical *Escherichia coli* isolates in the United Kingdom. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 56: 3376-3377
- Dheda K, Gumbo T, Maartens G, Dooley KE, McNerney R, Murray M, and Theron G, (2017). The epidemiology, pathogenesis, transmission, diagnosis, and management of multidrug resistant, extensively drug resistant, and incurable tuberculosis. *The lancet Respiratory medicine*. 5(4): 291-360
- Diancourt L, Passet V, Verhoef J, Grimont PA, Brisse S, (2005). Multilocus sequence typing of *Klebsiella pneumoniae* nosocomial isolates. *Journal of Clinical Microbiology*. 43:4178-4182
- Domínguez-Gil T, Molina R, Alcorlo M, Hermoso JA, (2016). Renew or die: The molecular mechanisms of peptidoglycan recycling and antibiotic resistance in Gram negative pathogens. *Drug Resistance*. 28: 91-104
- Doulgeraki AI, Di P, Ianieri A, and Nychas GE, (2016). Methicillin resistant food related *Staphylococcus aureus*: a review of current knowledge and biofilm formation for future studies and applications. *Research in Microbiology*. 1-15
- Doumith M, Godbole G, Ashton P, Larkin L, Dallman T, Day M, Day M, Muller-Pebody B, Ellington MJ, de Pinna E, Johnson AP, Hopkins KL, Woodford N, (2016). Detection of the

Références bibliographiques

plasmid-mediated *mcr-1* gene conferring colistin resistance in human and food isolates of *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* in England and Wales. *Journal of Antimicrobial and Chemotherapy*. 71: 2300-2305

Doyle MP, (2006). Antimicrobial resistance: implications for the food system. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 5: 71-137

Dropa M, Lincopan N, Balsalobre LC, Oliveira DE, Moura RA, Fernandes MR, da Silva QM, Matté GR, Sato MIZ, Matté MH, (2016). Genetic background of novel sequence types of *CTX-M-8* and *CTX-M-15* producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* from public wastewater treatment plants in Sao Paulo, Brazil. *Environmental Science and Pollution Research*. 23: 4953-4958

Dubin DT, Fitzgibbon JE, Nahvi MD, John JF, (1999). Topoisomerases sequences of coagulase-negative staphylococcal isolates resistant to ciprofloxacin or trovafloxacin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 43: 1631-1637

Dugassa Jiregna et Shukuri Nesrie, (2017). Review on antibiotic resistance and its mechanism of development. *Journal of Health, Medicine and Nursing*. V1,3(1): 1-17

Duran N, Ozer B, Duran GG, Onlen Y, Demir C, (2012). Antibiotic resistance genes and susceptibility patterns in staphylococci. *Indian Journal of Medical Research*. 135(3): 389-396

Dzidic S, Suskovic J, Kos B, (2008). Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: biochemical and genetic aspects. *Food Technology and Biotechnology*. 46: 11-21

E

Eladli MG, Alharbi NS, Khaled JM, Kadaikunnan S, Alobaidi AS, and Alyahya SA, (2018). Antibiotic resistant *Staphylococcus epidermidis* isolated from patients and healthy students comparing with antibiotic resistant bacteria isolated from pasteurized milk. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 0-5

Eladli MG, Alharbi NS, Khaled JM, Kadaikunnan S, Alobaidi AS, Alyahya SA, (2019). Antibiotic resistant *Staphylococcus epidermidis* isolated from patients and healthy students

Références bibliographiques

comparing with antibiotic resistant bacteria isolated from pasteurized milk. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 26: 1285-1290

El Hamzaoui N, Berguiguab A, Nemeč K, Mohamed S, Timinounic M, Louzid L, (2020). Prevalence of extended-spectrum beta-lactamases in uropathogenic *Enterobacteriaceae* isolated from a community setting, Meknes, Morocco. *Gene Reports*. 19: 100652

Etebu, E., and Arikekpar I, (2016). Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives. *International Journal of Applied Microbiology and Biotechnology Research*. 4: 90-101

F

Faddin M, Jean F, (1999). *Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria*. In Philadelphia (3^{ème} Ed). Lippincott Williams and Wilkins, USA

Farber BF, Kaplan MH, Clogston AG, (1990). *Staphylococcus epidermidis* ex1 tracted slime inhibits the antimicrobial action of glycopeptide antibiotics. *Journal of Infections Diseases*. 161: 37-40

Feng Y, Chen CJ, Su LH, Hu S, Yu J, and Chiu CH, (2008). *FEMS Microbiology Review*. 32: 23-37

Fernández L, Hancock REW, (2012). Adaptive and mutational resistance: Role of porins and efflux pumps in drug resistance. *Clinical Microbiology Review*. 25: 661-681

Fetsch A, (2018). *Staphylococcus aureus*. 1st Edition. Academic Press

Fidalgo S, Va'squez F, Mendoza MC, Perez F, Mendez FJ, (1990). Bacteremia due to *Staphylococcus epidermidis*: microbiologic, epidemiologic, clinical, and prognostic features. *Review of Infections Diseases*. 12: 520-528

Fišarová L, Pantůček R, Botka T, Doškař J, (2019). Variability of resistance plasmids in coagulase-negative staphylococci and their importance as a reservoir of antimicrobial resistance. *Research of Microbiology*. 170: 105-111

Références bibliographiques

Fluit AC, Visser MR and Schmitz FJ, (2001). Molecular detection of antimicrobial resistance. *Clinical Microbiology Review*. 14: 836-871

Franz E, Tromp SO, Rijgersberg H, and Van Der Fels-Klerx HJ, (2010). “Quantitative microbial risk assessment for *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella*, and *Listeria monocytogenes* in leafy green vegetables consumed at salad bars”, *Journal of Food Protection*. 73(2): 274-285

Frédéric J, Elvire MK, Mérens A, Cavallo JD, (2008). Les difficultés d'interprétation de l'examen cytot bactériologique des urines. *Revue Francophone des Laboratoires*. 38: 51-59

Friedriczewski AB, Gandra EÁ, da Conceição RDCC, Cereser ND, Moreira LMM, Timm CD, (2018). Formação de biofilme por *Staphylococcus aureus* isolados de queijo mussarela elaborado com leite de búfala e seu efeito sobre a sensibilidade a sanitizantes. *Acta Scientific Veterinary*. 46: 1528

Fukuchi K, (1994). Surveillance of multidrug resistant environmental bacteria. *Rinsho Byori*. 42: 1111-1118

G

Gahamanyi N, Bitariho B, Muhire V, (2017). Prevalence of *Staphylococcus aureus* among clinical isolates and their responses to selected antibiotics at Centre Hospitalier Universitaire de Kigali (CHUK). *Journal of Microbiology and Experimentation*. 5(4): 00158

Gahtan V, Esses GE, Bandyk DF, Nelson RT, Dupont E, Mills JL, (1995). Anti-staphylococcal activity of rifampin bonded gelatin impregnated Dacron grafts. *Journal of Surgical Research*. 58: 105-110

Galdiero S, Falanga A, Cantisani M, Tarallo R, Pepa M, D'Oriano V, Galdiero M, (2012). Microbe host interactions: Structure and role of Gram negative bacterial porins In US National Library of Medicine. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3706956/>

Galinari E, Nóbrega JE, Andrade NJ, Ferreira CLLF, (2014). Microbiological aspects of the biofilm on wooden utensils used to make a Brazilian artisanal cheese. *Brazilian Journal of Microbiology*. 45: 713-720

Références bibliographiques

- García-Álvarez L, Holden MTG, Lindsay H, Webb C, Brown DFJ, Curran MD, Walpole E, Brooks K, Pickard DJ, Teale C, Parkhill J, Bentley SD, Edwards GF, Girvan EK, Kearns AM, Pichon B, Hill RLR, Larsen AR, Skov RL, Peacock SJ, Maskell DJ, Holmes MA, (2011). Meticillin resistant *Staphylococcus aureus* with a novel mecA homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study. *Lancet Infection Disease*. 11: 595-603
- Genigeorgis CA, (1989). Present state of knowledge on Staphylococcal intoxication. *International Journal of Food Microbiology*. 9: 327-360
- Ghai I, and Ghai S, (2017). Exploring bacterial outer membrane barrier to combat bad bugs. *Infection and drug resistance*. 10: 261
- Giedraitis A, Rutkauskiene A, Naginiene R, Pavilonis A, (2011). Antibiotic resistance mechanisms of clinically important bacteria. *Medicina*. 47: 137-146
- Gil-Gil T, Martínez JL, and Blanco P, (2020). Mechanisms of antimicrobial resistance in *Stenotrophomonas maltophilia*: a review of current knowledge. *Expert Review of Anti infective Therapy*. 18(4): 335-347
- Gisele P, Liang C, Kreiswirth NB, Johann D, Pitouta D, (2020). Emerging Antimicrobial Resistant High-Risk *Klebsiella pneumoniae* Clones ST307 and ST147. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 64(10): e01148-20
- Gonzalez MR, Ducret V, Leoni, S., and Perron, K, (2019). *Pseudomonas aeruginosa* zinc homeostasis: Key issues for an opportunistic pathogen. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)- Gene Regulatory Mechanisms*. 1862(7): 722-733
- Goodlet KJ, Benhalima FZ, Nailor MD, (2018). A Systematic Review of Single Dose Aminoglycoside Therapy for Urinary Tract Infection: Is It Time To Resurrect an Old Strategy? *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 63(1): 02165-18
- Gordon MA and Banda HT, (2002). Non-typhoidal bacteraemia among HIV infected Malawian adults: High mortality and frequent recrudescence. *AIDS*. 16: 1633-1641
- Goyal D, Dean N, Neill S, Jones P, Dascomb K, (2019). Risk Factors for Community acquired Extended-spectrum Beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* Infections-A

Références bibliographiques

Retrospective Study of Symptomatic Urinary Tract Infections, *Open Forum Infectious Diseases*. Oxford University US. In Press. 357

Gregova G, Kmet V, (2020). Antibiotic resistance and virulence of *Escherichia coli* strains isolated from animal rendering plant. *Scientific reports*. 10: 17108

Gu Y, Zhang J, Yu Y, Zhou Z, Du X, (2004). Drug resistant mechanisms and prevalence of *Enterobacter cloacae* resistant to multi antibiotics. *Chin Journal Nosocomiol*. 14: 1321-1324

Guardabasse L, and Courvalin P, (2006). *Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance*. Aarestrup, F.M., Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin Chap 1. ASM Press, Washington DC

Guerra B, Junker E, Schroeter A, Malorny B, Lehmann S, Helmuth R, (2003). Phenotypic and genotypic characterization of antimicrobial resistance in German *Escherichia coli* isolates from cattle, swine and poultry. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 52: 489-492

Gutiérrez D, Delgado S, Vázquez-Sánchez D, Martínez B, López CM, Rodríguez A, Herrera J, and García P, (2012). Incidence of *Staphylococcus aureus* and Analysis of Associated Bacterial Communities on Food Industry Surfaces. *Applied and Environmental Microbiology*. 78(24): 8547-8554

H

Haas P, De Haas C, and Kleibeuker W, (2004). N-terminal residues of the chemotaxis inhibitory protein of *Staphylococcus aureus* are essential for blocking formylated peptide receptor but not C5a receptor. *Journal of Immunology*. 173(9): 5704-5711

Habeeb MA, Haque A, Nematzadeh S, Iversen A, Giske CG, (2013). High prevalence of 16S rRNA methylase RmtB among CTX-M extended spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* from Islamabad, Pakistan. *International Journal of Antimicrobial and Agents*. 41: 524-526

Hachemi A, Zenia S, Denia MF, Guessoum M, Hachemi MM, and Ait-Oudhia K, (2019). Epidemiological study of sausage in Algeria: Prevalence, quality assessment, and antibiotic

Références bibliographiques

resistance of *Staphylococcus aureus* isolates and the risk factors associated with consumer habits affecting foodborne poisoning. *Veterinary World*. 12(8): 1240-1250

Harada K, Shimizu T, Mukai Y, Kuwajima K, Sato T, Usui M, Tamura Y, Kimura Y, Miyamoto T, Tsuyuki Y, Ohki A, Kataoka Y, (2016). Phenotypic and molecular characterization of antimicrobial resistance in *Klebsiella spp.* isolates from companion animals in Japan: clonal dissemination of multidrug resistant extended spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Frontiers in Microbiology*. 7: 1021

Hawthorn A, Kleidon T, Larsen E, Marsh N, Marshall A, Ray-Barruel G, Sinclair S, Slaughter E, St John A, Taliaferro K, (2018). Peripheral Intravenous Catheter Protection. *British Journal of Nursing*. 30: 28

Hegstad K, Mikalsen T, Coque TM, Werner G, Sundsfjord A, (2010). Mobile genetic elements and their contribution to the emergence of antimicrobial resistant *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*. *Clinical Microbiology and infection*. 16(6): 541-554

Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, Yabuta K, Oguri T, Tenover FC, (1997). Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. *Journal of Antimicrobial and Chemotherapy*. 40: 135-161

Holcomb HG, Durbin, KJ, Choi KJ, Darling ND, and Angerio AD, (2008). Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* as a threat to public health: A cellular approach. *Journal of Health Sciences, Georgia University*. 5: 2

Holmes AJ, Gillings MR, Nield BS, Mabbutt BC, Nevalainen KMH, Stokes HW, (2003). The gene cassette metagenome is a basic resource for bacterial genome evolution. *Environmental Microbiology*. 5: 383-394

Holmes RL, Jorgensen H, (2008). Inhibitory activities of 11 antimicrobial agents and bactericidal activities of vancomycin and daptomycin against invasive methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolates obtained from 1999 through 2006. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 52: 757-760

Hooper DC, (1999). Mechanisms of fluoroquinolone resistance. *Drug Resistance Updat*. 2: 38-55

Références bibliographiques

Hornsey M, Phee L, Wareham DW, (2011). A novel variant, NDM-5, of the New Delhi metallo- β -lactamase in amultidrug-resistant *Escherichia coli* ST648 isolate recovered from a patient in the United Kingdom. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 55: 5952-5954

Hunt M, Mather AE, Sánchez-Busó L, Page AJ, Parkhill J, Keane JA, Harris SR, (2017). ARIBA: rapid antimicrobial resistance genotyping directly from sequencing reads. *Microbial Genome*. 3: e000131

I

Illumina. Nextera DNA Library Preparation Kits data sheet, (2014). www.illumina.com/documents/products/datasheets/datasheet_nextera_dna_sample_prep.pdf

Impey RE, Hawkins DA, Sutton JM, and Soares CTP, (2020). Overcoming Intrinsic and Acquired Resistance Mechanisms Associated with the Cell Wall of Gram-Negative Bacteria. *Antibiotics*. 9: 623

Ioannis K, Eleni V, Zoi DP, and Athanasios T, (2021). *Acinetobacter baumannii* Antibiotic Resistance Mechanisms. *Pathogens*. 10: 373

Iwe P, (2006). Text book of Pharmacology. *AfrFirPubLtd, Onitsha, Ni*. 480-49

J

Jacoby GA, (2009). AmpC beta-lactamases. *Clinical Microbiology Reviews*. 22(1): 161-182

Jacoby GA, Munoz-Price LS, (2005). The new beta-lactamases. *The New England Journal of Medicine*. 352: 380-391

Jaffe RI, Lane JD, Albury SV, and Niemeyer DM, (2000). *Journal of Clinical Microbiology*. 38: 3407-3412

Jahne MA, Rogers SW, Ramler IP, Holder E, and Hayes G, (2015). Hierarchal clustering yields insight into multidrug-resistant bacteria isolated from a cattle feedlot wastewater treatment system. *Environmental monitoring and assessment*. 187(1): 4168

Références bibliographiques

- Jangra P, Singh A, (2010). *Staphylococcus aureus*-hemolysin neutralizing single-domain antibody isolated from phage display library of Indian desert camel. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 3(1): 1-7
- Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G, and Philippon A, (1988). Extended broad-spectrum-lactamases conferring transferable resistance to newer -lactam agents in *Enterobacteriaceae*: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Review of Infection Diseases*. 10: 867-878
- Ji G, Chen Q, Gong X, Zheng F, Li S, Liu Y, (2018). Topoisomerase mutations are associated with high level ciprofloxacin resistance in *Staphylococcus saprophyticus*, *Enterococcus faecalis* and *Escherichia coli* isolated from ducks. *Pakistan Veterinary Journal*. 38: 39-45
- Jim O'neill, (2016). Tackling Drug Resistant Infections Globally: Final Report and Recommendations; Government of the United Kingdom: London, UK. *The Review on Antimicrobial Resistance*.
- Johler S, Layer F, Stephan R, (2011). Comparison of virulence and antibiotic resistance genes of food poisoning outbreak isolates of *Staphylococcus aureus* with isolates obtained from bovine mastitis milk and pig carcasses. *Journal of Food Protection*. 74(11): 1852-1859
- John HL, (2003). Methicillin (Oxacillin) Resistant *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from Major Food Animals and Their Potential Transmission to Humans. *Applied and Environmental Microbiology*. 6489-6494
- John J, George S, Nori SRC, and Nelson-Sathi S, (2019). Phylogenomic analysis reveals the evolutionary route of resistant genes in *Staphylococcus aureus*. *Genome Biology and Evolution*. 11(10): 2917-2926
- Johnson JR, Kuskowski MA, Smith K, O'Bryan TT, Tatini S, (2005). Antimicrobial resistant and extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli* in retail foods. *Journal of Infectious Diseases*. 191: 1040-1049
- Johnson JR, Porter SB, Johnston B, Thuras P, O'Clock S, Crupain M, Rangan U, (2017). Extraintestinal pathogenic and antimicrobial resistant *Escherichia coli*, including sequence type 131 (ST131), from retail chicken breasts in the United States in 2013. *Applied Environmental Microbiology*. 83: 02956-16

Références bibliographiques

Johnson JR, Sannes MR, Croy C, Johnston B, Clabots C, Kuskowski MA, Sannes MR, Croy C, Johnston B, Clabots C, Kuskowski MA, Bender J, Smith KE, Winokur PL, and Belongia EA, (2007). Antimicrobial drug resistant *Escherichia coli* from humans and poultry products, Minnesota and Wisconsin, 2002–2004. *Emerging Infectious Diseases*. 13: 838-846

Johnson AP, and Woodford N, (2013). Global spread of antibiotic resistance: the example of New Delhi metallo- β -lactamase (NDM)-mediated carbapenem resistance. *Journal of Medical Microbiology*. 62: 499-513

Jon C, Michael A. Fischbach, and Cameron R. Currie, (2009). The natural history of antibiotics. *Current Biology*. 19(11)

Julian D, Dorothy D, (2010). Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 74: 417-433

K

Kaasch AJ, Barlow G, Edgeworth JD, Fowler VG Jr, Hellmich M, Hopkins S, Kern WV, Llewelyn MJ, Rieg S, Rodriguez-Baño J, Scarborough M, Seifert H, Soriano A, Tilley R, Török ME, Weiß V, Wilson AP, Thwaites GE, (2014). *Staphylococcus aureus* bloodstream infection. *Journal of Infection*. 68: 242-251

Kahlmeter G, (2003). Prevalence and antimicrobial susceptibility of pathogens in uncomplicated cystitis in Europe. The ECO. SENS study. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 22: 49-52

Kakai R, Wamola IA, (2002). Minimising antibiotic resistance to *Staphylococcus aureus* in developing countries East. *The Pan African Medical Journal*. 79: 574-579

Kandi V, (2018). Coral dermatitis or infectious dermatitis: Report of a case of *Staphylococcus aureus* infection of skin after scuba diving. *Cureus*. 10(2): e2196

Kapoor G, Saigal S, and Elongavan A, (2017). Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. *Journal of anaesthesiology, clinical pharmacology*. 33(3): 300

Références bibliographiques

- Kassem II, Nasser NA, and Salibi J, (2020). Prevalence and Loads of fecal pollution indicators and the antibiotic resistance phenotypes of *Escherichia coli* in raw minced beef in Lebanon. *Foods*. 9(11): 1543
- Katayama Y, Ito T and Hiramatsu K, (2000). A new class of genetic element, *Staphylococcus* cassette chromosome mec, encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 44: 1549-1555
- Katrijn L, Rensing H, M Abdallah, Alex Koek, Gamal A Elmowalid, Christina MJE, (2019). Vandembroucke-Grauls, Nashwan al Naiemi, and Karin van Dijk. Prevalence of plasmid mediated AmpC in *Enterobacteriaceae* isolated from humans and from retail meat in Zagazig, Egypt. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*. 8:45
- Kellie J, Goodlet, Fatima Z, Benhalima, Michael D, Nailor, (2019). A systematic review of single-dose aminoglycoside therapy for urinary tract infection: Is it time to resurrect an old strategy?. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 63(1): e02165-18
- Khardori N, Yassien M, Wilson K, (1995). Tolerance of *Staphylococcus epidermidis* grown from indwelling vascular catheters to antimicrobial agents. *Journal of Industrial Microbiology*. 15: 148-151
- Kieninger AN, and Lipsett PA, (2009). Hospital acquired pneumonia: pathophysiology, diagnosis and treatment. *Surgical Clinics of North America*. 89: 439-461
- Kim C, Mwangi M, Chung M, Milheirão C, Lencastre H, Tomasz A, (2013). The mechanism of heterogeneous β -lactam resistance in MRSA: key role of the stringent stress response. *PLoS ONE*. 8: e82814
- Kim D, Li S, Florian P. Breitwieser, and Steven L. Salzberg, (2016). Centrifuge: rapid and sensitive classification of metagenomic sequences. *Genome Research*. 26: 1-9
- Kiranmayi CB, Krishnaiah N, Subhashini N, Amaravathi P, Maheswari M, Ramya P, (2011). PCR analysis of mutton and chicken samples for the presence of Shiga toxigenic *E.coli*. *Archives of Clinical Microbiology*. 2:2-4

Références bibliographiques

Kojima S, and Nikaido H, (2013). Permeation rates of penicillins indicate that *Escherichia coli* porins function principally as nonspecific channels. *Proceedings of the National Academy of Sciences. USA* 110: E2629–E2634

Kolár M, Urbánek K, Látal T, (2001). Antibiotic selective pressure and development of bacterial resistance. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 17: 357-363

Kools S, Moltmann J, Knacker T, (2008). Estimating the use of 528 veterinary medicines in the European union. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 50: 59-65

Kose Y, Abasiyanik MF, Salih BA, (2007). Antibiotic resistance of *Escherichia coli* urinary tract isolates in Rizal province, Turkey. *Journal of Infection in Developing Countries*. 1: 147-150

Kotilainen P, Nikoskelainen J, Huovinen P, (1990). Emergence of ciprofloxacin resistant coagulase negative staphylococcal skin flora in immune compromised patients receiving ciprofloxacin. *Journal of Infection Diseases*. 161: 41-44

Koyle MA, Barqawi A, Wild J, Passamaneck M, Furness PD, (2003). Pediatric urinary tract infections: the role of fluoroquinolones. *Pediatric Infectious Disease Journal*. 22: 1133-1137

Kulkarni RK, Das GP, Dharmi S, Jamil K, (2007). Evaluation of antibiotic sensitivity and resistance of *Klebsiella species* from humans respiratory and urinary tract infections. *Research Journal of Biotechnology*. 2(4): 29-33

Kumar N, Radhakrishnan A, Wright CC, Chou TH, Lei HT, Bolla JB, Tringides ML, Rajashankar RK, Su CC, Purdy GE, Yu EW, (2014). Crystal structure of the transcriptional regulator Rv1219c of *Mycobacterium tuberculosis*. *Protein Sciences*. 23: 423-432

L

Laarem M, Barguigua A, Name K, Akila A, Zerouali K, El Mdaghri N, Timinouni M, (2017). Occurrence of plasmid-mediated quinolone resistance and virulence genes in avian *Escherichia coli* isolates from Algeria. *Journal of Infection in Developing Countries*. 11(2): 143-151

Références bibliographiques

- Lachapelle K, Graham AM, Symes JF, (1994). Antibacterial activity, antibiotic retention, and infection resistance of a rifampin-impregnated gelatin sealed Dacron graft. *Journal of Vascular Surgery*. 19: 675-682
- Lagha Nouria, (2015). « *Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées de l'hôpital de Laghouat* ». Thèse de doctorat. Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen
- Lamikanra A, Ndep RB, (1989). Trimethoprim resistance in urinary tract pathogens in two Nigerian hospitals. *Journal of Antimicrobial and Chemotherapy*. 23: 151-154
- Lazareva IV, Ageevets VA, Ershova TA, Zueva LP, Goncharov AE, Darina MG, Svetlichnaya YS, Uskov AN, Sidorenko SV, (2016). Prevalence and antibiotic resistance of carbapenemase producing Gram negative bacteria in Saint Petersburg and some other regions of the Russian federation. *Antibiot Khimioter*. 61: 28-38
- Lee JH, (2003). Methicillin (oxacillin) resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from major food animals and their potential transmission to humans. *Applied and Environmental Microbiology*. 69: 6489-6494
- Lee DS, Lee SJ, Choe HS, (2018). Community-acquired urinary tract infection by *Escherichia coli* in the era of antibiotic resistance. *BioMed Research International*. 1-14
- Lei T, Tian W, He L, Huang X-H, Sun Y-X, Deng Y-T, Sun Y, Lv DH, Wu CM, Huang LZ, Shen JZ, Liu JH, (2010). Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolates from food animals, animal food products and companion animals in China. *Veterinary Microbiology*. 146: 85-89
- Le Noc P, (1999). *Monobactames in Antibiotiques agents antibactériens et antifongiques*. Ed Ellipses. P: 374-391
- Leverstein-van Hall MA, Dierickx CM, Cohen Stuart J, Voets GM, van den Munckhof MP, van Essen-Zandbergen A, Platteel T, Fluit AC, van de Sande-Bruinsma N, Scharinga J, Bonten MJM, Mevius DJ, and National ESBL surveillance group, (2011). Dutch patients, retail chicken meat and poultry share the same ESBL genes, plasmids and strains. *Clinical Microbiology Infection*. 17: 873-880

Références bibliographiques

- Li Y, Li X, Huang T, Xu K, and Li C, (2019). Molecular characteristics and virulence gene profiles of *Staphylococcus aureus* isolates in Hainan, China. *BMC Infectious Diseases*. 19: 873
- Li XZ, Nikaido H, (2009). Efflux-mediated drug resistance in bacteria: an update. *Drugs*. 69: 1555-1623
- Li B, Webster TJ, (2017). Bacteria antibiotic resistance: New challenges and opportunities for implant-associated orthopedic infections. *Journal of Orthopaedic Research*. 36(1) : 1-524
- Liebert CA, Hall RM, Summers AO, (1999). Transposon Tn21, flagship of the floating genome. *Microbiology and Molecular Biology Review*. 63: 507-522
- Lina G, Quaglia A, Reverdy M, Leclercq R, Vandenesch F, and Etienne J, (1999). Distribution of genes encoding resistance to macrolides, lincosamides, and streptogramin among *Staphylococci*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 43(5): 1062-1066
- Lindsay JA, (2014). *Staphylococcus aureus* genomics and the impact of horizontal gene transfer. *International Journal of Medical Microbiology*. 304: 103-109
- Linkevicius M, Sandegren L, and Andersson DI, (2016). Potential of tetracycline resistance proteins to evolve tigecycline resistance. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 60(2): 789-796
- Liu YY, Wang Y, Walsh TR, Yi LX, Zhang R, Spencer J, Doi Y, Tian G, Dong B, Huang X, Yu LF, Gu D, Ren H, Chen X, Lv L, He D, Zhou H, Liang Z, Liu JH, Shen J, (2016). Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism *MCR-1* in animals and human beings in China: A microbiological and molecular biological study. *Lancet Infectious Diseases*. 16: 161-168
- Livermore D, (2004). Can better prescribing turn the tide of resistance? *Nature Reviews Microbiology*. 2: 73-78
- Loncaric I, Cabal Rosel A, Szostak MP, Licka T, Allerberger F, Ruppitsch W, Spergser J, (2020). Broad spectrum cephalosporin resistant *Klebsiella spp* isolated from diseased horses in Austria. *Animals*. 10: 332

Références bibliographiques

Longauerova A, (2006). Coagulase negative staphylococci and their participation in pathogenesis of human infections. *Bratisl Lek Listy*. 107(11-12): 448-452

Losio MN, Pavoni E, Bilei S, Bertasi B, Bove D, Capuano F, Farneti S, Blasi G, Comin D, Cardamone C, Decastelli L, Delibato E, De Santis P, Di Pasquale S, Gattuso A, Goffredo E, Fadda A, Pisanu M, and De Medici D, (2015). "Microbiological survey of raw and ready to eat leafy green vegetables marketed in Italy", *International Journal of Food Microbiology*. 210: 88-91

Loucif L, Chelaghma W, Cherak Z, Bendiana E, Beroual F, Rolain JM, (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

Lynch JP, Clark NM, and Zhanel GG, (2013). Evolution of antimicrobial resistance among *Enterobacteriaceae* (focus on extended spectrum β -lactamases and carbapenemases). *Expert Opinion on Pharmacotherapy*. 14: 199-210

M

Macfarlane ELA, Kwasnicka A, Hancock REW, (2000). Role of *Pseudomonas aeruginosa* PhoP-PhoQ in resistance to antimicrobial cationic peptides and aminoglycosides. *Microbiology*. 146: 2543-2554

Mandell G, Douglas J and Bennett R, (1995). *Principles and practices of infectious diseases*, 4th ed. Churchill Livingstone, Ltd, Edinburgh, United Kingdom

Mansour W, Grami R, Ben Haj Khalifa A, Dahmen S, Chatre P, Haenni M, Aouni M, Madec JY, (2015). Dissemination of multidrug-resistant blaCTXM-15/IncFIIk plasmids in *Klebsiella pneumoniae* isolates from hospital and community acquired human infections in Tunisia. *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases*. 83: 298-304

Mao EF, Lane L, Lee J, and Miller JH, (1997). *Journal of Bacteriology*. 179: 417-422

Références bibliographiques

- Marder EP, Garman KN, Ingram LA, and Dunn JR, (2014b). "Multistate outbreak of *Escherichia coli* O157: H7 associated with bagged salad". *Foodborne Pathogens and Disease*. 11(8): 593-595
- Marshall BM, and Levy SB, (2011). Food animals and antimicrobials: impacts on human health. *Clinical Microbiology Reviews*. 24(4): 718-733
- Martineau F, Picard JF, Lansac N, Ménard C, Roy HP, Ouellette MO, and Bergeron GM, (2000). Correlation between the resistance genotype determined by Multiplex PCR assays and the antibiotic susceptibility patterns of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 44(2): 231-238
- Massanari RM, Pfaller MA, Wakefield DS, (1988). Implication of acquired oxacillin resistance in the management and control of *Staphylococcus aureus* infections. *Journal of Infection Diseases*. 158: 702-709
- McCallum N, Berger-Bächli B, and Senn M, (2010). Regulation of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Medical Microbiology*. 300(1): 118-129
- McInnes RS, McCallum GE, Lamberte LE, van Schaik W, (2020). Horizontal transfer of antibiotic resistance genes in the human gut microbiome. *Current Opinion Microbiology*. 53: 35-43
- Medeiros AA, (1984). β -lactamases. *Bnt Med Buli*. 40: 18-27
- Mempel M, Feucht H, Ziebuhr W, Endres M, Laufs R, Gruter L, (1994). Lack of *mecA* transcription in slime negative phase variants of methicillin resistant *Staphylococcus epidermidis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 38: 1251-1255
- Meradi L, Djahoudi A, Abdi A, Bouchakour M, Perrier Gros Claude JD, Timinouni M, (2011). Qnr and *aac(6')-Ib-cr* types quinolone resistance among *Enterobacteriaceae* isolated in Annaba, Algeria. *Pathologie et Biologie (Paris)*. 59: e73-8
- Merah-Fergani Oumeima, Sebahia Mohammed, Berrazeg Meryem, Amraoui Radia, M. Diene Seydina, Rolain Jean-Marc, (2022). Occurrence and Diversity of Extended Spectrum β -lactamases in Clinical Isolates of *Enterobacteriaceae* in A Tertiary Care Hospital in Algeria. *Journal of Infectious Disease and Antimicrobial Agents*. 39(1)

Références bibliographiques

- Merino S, Camprubí S, Albertí S, Benedí VJ, Tomas JM, (1992). Mechanisms of *Klebsiella pneumoniae* resistance to complement mediated killing. *Infection and Immunity*. 60(6): 2529-2535
- Mesli E, Berrazeg M, Drissi M, Bekkhoucha SN, Rolain JM, (2013). Prevalence of carbapenemase encoding genes including New Delhi metallo-lactamase in *Acinetobacter species*, Algeria. *International Journal of Infectious Diseases*. 17: 739-743
- Mingeot-Leclercq MP, Glupczynski Y, et Tulkens PM, (1999). Aminoglycosides : activity and resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 43: 727-737
- Mišić M, Čukić J, Vidanović D, Šekler M, Matić S, Vukašinović M, and Baskić D, (2017). Prevalence of Genotypes That Determine Resistance of *Staphylococci* to Macrolides and Lincosamides in Serbia. *Frontiers in Public Health*. 5: 200
- Moller JK, (1988). Drug resistance and plasmid profiles in *Staphylococcus epidermidis* in 1964 and 1986. *Journal of Hospital Infection*. 12: 19-27
- Monroe S, Polk R, (2000). Antimicrobial use and bacterial resistance. *Current Opinion Microbiology*. 3: 496-501
- Moran GJ, Amii RN, Abrahamian FM and Talan D A, (2005). Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in community acquired skin infection. *Emerging Infectious Diseases*. 11: 928-930
- Morency-Potvin P, Schwartz DN, Weinstein RA, (2017). Antimicrobial stewardship: how the microbiology laboratory can right the ship. *Clinical Microbiology Review*. 30: 381-407
- Morgenstern M, Erichsen C, Hackl S, Mily J, Militz M, Friederichs J, Hungerer S, Bühren V, Moriarty TF, Post V, Richards RG, Kates SL, (2016). Antibiotic resistance of commensal *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci in an international cohort of surgeons: A prospective point-prevalence study. *PLoS One*. 11(2): e0148437
- Moura TM, Campos FS, Azevedo PA, Van Der Sand ST, Franco AC, Frazzon J, Frazzon APG, (2012). Prevalence of enterotoxin encoding genes and antimicrobial resistance in coagulase negative and coagulase positive *Staphylococcus* isolates from black pudding. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 45: 579-585

Références bibliographiques

Muder RR, Brennen C, Rihs JD, Wagener MM, Obman A, Stout JE, Yu VL, (2006). Isolation of *Staphylococcus aureus* from the urinary tract: association of isolation with symptomatic urinary tract infection and subsequent staphylococcal bacteremia. *Clinical Infectious Diseases*. 42: 46-50

Mueller L, Cimen C, Poirel L, Descombes MC, Nordmann P, (2019). Prevalence fosfomycin resistance among ESBL-producing *Escherichia coli* isolates in the community, Switzerland. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 38(5): 945-949

Muylaert A, Mainil JG, (2012). Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité ». *Annales de Médecine Vétérinaire*. 156: 109-123

N

Nabti LZ, Sahli F, Olowo-okere A, Benslama A, Harrar A, Lupande-Mwenebitu D, Diene SM, and Rolain JM, (2022). Molecular Characterization of Clinical Carbapenem Resistant *Enterobacteriaceae* Isolates from Sétif, Algeria. *Microbial Drug Resistance*. 28(3)

Naha A, Miryala SK, Debroy R, Ramaiah S, and Anbarasu A, (2020). Elucidating the multi-drug resistance mechanism of *Enterococcus faecalis* V583: A gene interaction network analysis. *Gene*, 144704

Nakazato T, Ohta T, Bono H, (2013). Experimental design based functional mining and characterization of high throughput sequencing data in the sequence read archive. *PLoS One*. 8(10): e77910

Nanoukona C, Argemi X, Sogbo F, Orekanb J, Keller D, Affolabi D, Schramma F, Riegel P, Baba-Moussac L, Prévost G, (2017). Pathogenic features of clinically significant coagulase-negative *Staphylococci* in hospital and community infections in Benin. *International Journal of Medical Microbiology*. 307(1): 75-82

Nascimento TC, da Silva VL, Ferreira-Machado AB, Diniz CG, (2015). Potential spread of multidrug-resistant coagulase negative *Staphylococci* through healthcare waste. *Journal of Infections in Developing Countries*. 9(1): 029-034

Références bibliographiques

- National Committee for Clinical Laboratory Standards, (2000). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; tenth informational supplement (aerobic dilution) M100-S10. NCCLS, Wayne, Pa
- Navon-Venezia S, Chmelnitsky I, Leavitt A, Schwaber MJ, Schwartz D, Carmeli Y, (2006). Plasmid-mediated imipenem-hydrolyzing enzyme KPC-2 among multiple carbapenem-resistant *Escherichia coli* clones in Israel. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 50: 3098
- Nayme K, Barguigua A, Bouchrif B, Diawara I, El Otmani F, Elmdaghri N, Zerouali K, Timinouni M, (2017). Occurrence of extended-spectrum β -lactamase, AmpC and virulence genes in *Escherichia coli* isolates from vegetable salads in Morocco. *British Food Journal*. 119(7): 1-17
- Naziri Z, Derakhshandeh A, Borchaloe AS, Poor Maleknia M, Azimzadeh N, (2020). Treatment Failure in Urinary Tract Infections: A Warning Witness for Virulent Multi-Drug Resistant ESBL- Producing *Escherichia coli*. *Infection and Drug Resistance*. 13: 1839-1850
- Nemeghaire S, Argudí'n MA, Feßler AT, Hauschild T, Schwarz S, Butaye P, (2014). The ecological importance of the *Staphylococcus sciuri* species group as a reservoir for resistance and virulence genes. *Veterinary Microbiology*. DOI:10.1093/jac/dku268
- Nicolau DP, (2008). Carbapenems: A potent class of antibiotics. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*. 9: 23-37
- Nordmann P, (2010). Résistance aux carbapénèmes chez les bacilles à Gram négatif. *Médecine/Sciences*. 26: 950-959
- Nordmann P, Dortet L, Poirel L, (2012). Carbapenem resistance in *Enterobacteriaceae* : here is a storm !. *Trends in Molecular Medecine*. 18: 263-272
- Nordmann P, Poirel L, (2002). Emerging carbapenemases in Gram negative aerobes. *Clinical Microbiology and Infection*. 8: 321-331
- Norris AL, and Serpersu EH, (2013). Ligand promiscuity through the eyes of the aminoglycoside N3 acetyltransferase IIa. *Protein Sciences*. 22: 916-928

Références bibliographiques

Nouér SA, Nucci M, de-Oliveira MP, Pellegrino FL, Moreira BM, (2005). Risk factors for acquisition of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing SPM metallo-beta-lactamase. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 49: 3663

Nworie A, Madubuko EF, and Eze UA, (2013). Nasal carriage of methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* amongst meat sellers in Abakaliki Metropolis, Ebonyi State, Nigeria. *Microbiology Research International*. 1(3): 48-53



Ocampo AM, Chen L, Cienfuegos AV, Roncancio G, Chavda KD, Kreiswirth BN, Jimenez JN, (2016). A two year surveillance in five Colombian tertiary care hospitals reveals high frequency of non-CG258 clones of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* with distinct clinical characteristics. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 60: 332-342

Ogawara H, (1981). Antibiotic resistance in pathogenic and producing bacteria with special reference to betalactam antibiotics. *Microbial Review*. 4: 591-619

Okeke IN, Fayinka ST, Lamikanra A, (2000). Antibiotic Resistance in *Escherichia coli* from Nigerian Students, 1986-1998. *Emerging Infectious Diseases*. 6: 393-396

Okeke IN, Lamikanra A, Edelman R, (1999). Socio Economic and behavioural factors leading to acquired bacterial resistance to antibiotics in developing countries. *Emerging Infectious Diseases*. 5: 1-12

Oliveira WF, Silva PM, Silva RC, Silva GM, Machado G, Coelho LC, Correia MT, (2017). *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* infections on implants. *Journal of Hospital Infection*. 98(2): 111-117

Oliver A, Cantón R, Campo P, Baquero F, and Blázquez J, (2000). *Science*. 288: 1251-1253

Onemu OS, and Ophori EA, (2013). Prevalence of Multi-Drug Resistant *Staphylococcus aureus* in clinical specimens obtained from patients attending the University of Benin Teaching Hospital, Benin City, Nigeria. *Journal of Natural Sciences Research*. 3(5): 154-159

Osman K, Badr J, Al-Maary KS, Moussa IMI, Hessain AM, Amin Girah ZMS, Abo-shama UH, Orabi A, and Saad A, (2016). Prevalence of the antibiotic resistance genes in coagulase-

Références bibliographiques

positive-and negative *Staphylococcus* in chicken meat retailed to consumers. *Frontiers in Microbiology*. 7

Oteo J, Campos J, Baquero F, (2002). Antibiotic resistance in 1962 invasive isolates of *Escherichia coli* in 27 Spanish hospitals participating in the European Antimicrobial Resistance Surveillance System (2001). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 50: 945-952

Oteo JE, Lázaro E, de Abajo FJ, Baquero F, Campos J, and Spanish members of EARSS, (2005). Antimicrobial resistant invasive *Escherichia coli*, Spain. *Emerging Infectious Diseases*. 11(4): 546-553

Otter J, Natale A, Batra R, Auguet OT, Dyakova E, Goldenberg S, Edgeworth J, (2019). Individual and community level risk factors for ESBL *Enterobacteriaceae* colonization identified by universal admission screening in London. *Clinical Microbiology and Infection*. 25(10): 1259-1265

Otto M, (2004). Quorum sensing control in staphylococci a target for antimicrobial drug therapy. *FEMS Microbiology Letters*. 241(2): 135-41

Otto M, (2008). *Staphylococcal* Biofilms. *Current Topics in Microbiology and Immunology*. 322: 207-228

Otto M, (2009). *Staphylococcus epidermidis* –the ‘accidental pathogen’. *Nature Reviews Microbiology*. 7(8): 555-567

P

Padmini N, Ajilda AAK, Sivakumar N, Selvakumar G, (2017). Extended spectrum β -lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: critical tools for antibiotic resistance pattern. *Journal of Basic Microbiology*. 57: 460-470

Park DJ, Yu JK, Park KG, Park YJ, (2015). Genotypes of ciprofloxacin resistant *Klebsiella pneumoniae* in Korea and their characteristics according to the genetic lineages. *Microbial Drug Resistance*. 21: 622-630

Paterson DL, WC Ko, A Von Gottberg, JM Casellas, L Mulazimoglu, KP Klugman, RA Bonomo, LB Rice, JG McCormack, and VL Yu, (2001). Outcome of cephalosporin treatment

Références bibliographiques

- for serious infections due to apparently susceptible organisms producing extended-spectrum beta-lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory. *Journal of Clinical Microbiology*. 39: 2206-2212
- Perry J, Waglechner N, Wright G, (2016). The prehistory of antibiotic resistance. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 6: a025197
- Philippon A., Arlet G, (2005). Les β -lactamases chez les bacilles à Gram négatif : que de nouveautés en 15 ans ! *Elsevier Masson Paris Antibiotiques*. 7: 247-259
- Philips CA, (1999). The epidemiology, detection and control of *Escherichia coli* O157. *Journal of Science of Food and Agriculture*. 79: 1367-1381
- Phillips I, Casewell M, Cox T, Groot B, Friis C, Jones R, Nightingale C, Preston R, Waddell J, (2004). Does the ruse of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 53: 28-52
- Piessens V, Coillie EV, Verbist B, Supré K, Braem G, Nuffel AV, Vuyst LD, Heyndrickx M, Vlieghe S, (2011). Distribution of coagulase negative *Staphylococcus species* from milk and environment of dairy cows differs between herds. *Journal of Dairy Science*. 94: 2933-2944
- Pitout JDD, Finn TJ, (2020). The evolutionary puzzle of *Escherichia coli* ST131. *Infection, Genetics and Evolution*. 81: 104265
- Poirel L, Bonnin RA, and Nordmann P, (2012). Genetic support and diversity of acquired extended-spectrum β -lactamases in Gram-negative rods. *Infection, Genetics and Evolution*. 12: 883-893
- Poirel L, Leviandier C, Nordmann P, (2006). Prevalence and genetic analysis of plasmid mediated quinolone resistance determinants Qnr A and Qnr S in *Enterobacteriaceae* isolates from a French university hospital. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 50: 3992-3997
- Pollitt EJJ, Szkuta PT, Burns N, and Foster SJ, (2018). *Staphylococcus aureus* infection dynamics. *PLoS Pathogens*. 14(6): e1007112
- Poole K, (2004). Resistance to beta-lactam antibiotics. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 61: 2200-2223

Références bibliographiques

Poole K, (2007). Efflux pumps as antimicrobial resistance mechanisms. *Annals of medicine*. 39(3): 162-176

Pourmohammad A, Javad Nasiri M, Azimi T, (2019). Prevalence of antibiotic resistance in *Escherichia coli* strains simultaneously isolated from humans, animals, food, and the environment: a systematic review and meta analysis. *Infection and Drug Resistance*. 12: 1181-1197

Q

Queenan AM, and Bush K, (2007). Carbapenemases: the versatile β -lactamases. *Clinical Microbiology Review*. 20: 440-458

Quinn PJ, Carter ME, Markey BK, Carter GR, (1994). *Clinical veterinary microbiology*. 5th Eds. Elsevier, Philadelphia, PA

Quinn PJ, Markey BK, Leonard FC, FitzPatrick ES, Fanning S, and Hartigan PJ, (2011). *Staphylococcus Species: Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. 2nd Edition. Dublin. P: 159-165

R

Rahman MA, Rahman AKMA, Islam MA, Alam MM, (2017). Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli* isolated from milk, beef and chicken meat in Bangladesh. *Journal of Veterinary Medicine*. 15(2): 141-146

Ramasubramanian V, Muralidharan P, Nambi S, Pavithra S, Puthran S, and Petigara T, (2018). Efficacy and cost comparison of ertapenem as outpatient parenteral antimicrobial therapy in acute pyelonephritis due to extended spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae*. *Indian Journal of Nephrology*. 28: 351-357

Ranjbar R, Memariani H, Sorouri R, (2017). Molecular epidemiology of extended spectrum beta-lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from children with urinary tract infections. *Archives of Pediatric Infectious Diseases*. 5(2): e39000

Références bibliographiques

- Rattanaumpawan P, Werarak P, Jitmuang A, Kiratisin P, and Thamlikitkul V, (2017). Efficacy and safety of deescalation therapy to ertapenem for treatment of infections caused by extended spectrum- β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae*: an open-label randomized controlled trial. *BioMed Central of Infectious Diseases*. 17(1): 183
- Rebbah N, Messi Y, Châtre P, Haenni M, Madec JY, and Bakour R, (2018). Diversity of CTX-M Extended-Spectrum beta-Lactamases in *Escherichia coli* Isolates from retail raw ground beef: First Report of CTX-M-24 and CTX-M-32 in Algeria. *Microbial Drug Resistance*. 00: 00
- Rello J, Bunsow E, and Perez A, (2016). What if there were no new antibiotics? A look at alternatives. *Expert review of clinical pharmacology*. 9(12): 1547-1555
- Roberts MC, and Schwarz S, (2017). Tetracycline and chloramphenicol resistance mechanisms. *International Antimicrobial drug resistance*. 231-243
- Rodríguez-Martínez JM, Cano ME, Velasco C, Martínez-Martínez L, Pascual A, (2011). Plasmid mediated quinolone resistance: an update. *Journal of Infection and Chemotherapy*. 17: 149-82
- Rogers KL, Fey PD, Rupp ME, (2009). Coagulase-negative staphylococcal infections. *Infectious Disease Clinics of North America*. 23: 73-98
- Rola JG, Korpysa-Dzirba W, Czeibkowska A, Osek J, (2016). Prevalence of enterotoxin genes and antimicrobial resistance of coagulase-positive staphylococci recovered from raw cow milk. *Journal of Dairy Science*. 98: 4273-4278
- Rolain Jean-Marc, (2013). Food and human gut as reservoirs of transferable antibiotic resistance encoding genes. *Frontiers in microbiology*. 10.3389: 00173
- Rosen GD, (2003). Pronutrient antibiotic replacement standards discussed. *Feedstuff*. 75: 11
- Ross MG, Russ C, Costello M, Hollinger A, Lennon NJ, Hegarty R, Nusbaum C, and Jaffe DB, (2013). Characterizing and measuring bias in sequence data. *Genome and Biology*. 14(5): R51
- Rossolini GM, Arena F, Pecile P, Pollini S, (2014). Update on the antibiotic resistance crisis. *Clinical Opinion and Pharmacology*. 18: 56-60

Références bibliographiques

Rossolini GM, D'Andrea MM, and Mugnaioli C, (2008). The spread of CTX-M-type extended-spectrum β -lactamases. *Clinical Microbiology and Infection*. 14(1): 33-41

Ruiz-Garbajosa P, Hernández-García M, Beatobe L, Tato M, Méndez MI, Grandal M, Aranzábal L, Alonso S, Lópaz MÁ, Astray J, Cantón R, (2016). A single day point-prevalence study of faecal carriers in long term care hospitals in Madrid (Spain) depicts a complex clonal and polyclonal dissemination of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Journal of Antimicrobial and Chemotherapy*. 71: 348-352

Ruiz J, Pons MJ, and Gomes C, (2012). Transferable mechanisms of quinolone resistance. *International journal of antimicrobial agents*. 40(3): 196-203

S

Sadikalay S, (2018). *Influence des rejets humains et animaux sur la diffusion de l'antibiorésistance à l'homme, aux animaux et à l'environnement, en Guadeloupe*. Thèse de doctorat en microbiologie. Sciences De l'Université des Antilles

Saeed A, Ahsan F, Nawaz M, Iqbal K, Ur Rehman K, Ijaz T, (2020). Incidence of vancomycin resistant phenotype of the Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* isolated from a Tertiary Care Hospital in Lahore. *Antibiotics*. 9(1): 3

Sáenz Y, Briñas L, Domínguez E, Ruiz J, Zarazaga M, Vila J, Torres C, (2004). Mechanisms of resistance in multiple antibiotic resistant *Escherichia coli* strains of human, animal, and food origins. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 48(10):3996-4001

Sáenz Y, Zarazaga M, Briñas L, Lantero M, Ruiz-Larrea F, Torres C, (2001). Antibiotic resistance in *Escherichia coli* isolates obtained from animals, foods and humans in Spain. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 18:353-358

Safarpour Dehkordi F, Gandomi H, Basti AA, Misaghi A, and Rahimi E, (2017). Phenotypic and genotypic characterization of antibiotic resistance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from hospital food. *Antimicrobial Resistance Infection and Control*. 6: 1-11

Sageman A, (2015). Antibiotic Resistance Mechanisms, Problems, and Solutions". *Honors Projects*. 416

Références bibliographiques

Saidani M, Messadi L, Soudani A, Dalloul-Jedidi M, Faten Ben Chehida C, Mamlouk A, Mahjoub W, Madec JV and Haenni M, (2018). Epidemiology, Antimicrobial Resistance, and Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae in Clinical Bovine Mastitis in Tunisia. *Microbial drug resistance*. 24(8): 1242-1248

Saleem N, Nawaz M, Ghafoor A, Javeed A, Mustafa A, Yousuf MR, Khan I, (2018). Phenotypic and molecular analysis of antibiotic resistance in Lactobacilli of poultry origin from Lahore, Pakistan. *Pakistan Veterinary Journal*. 38 (4): 409-413

Salloum S, Michel TA, WK and Tayyara L, (2020). Bacterial resistance to antibiotics and associated factors in two hospital centers in Lebanon from January 2017 to June 2017. *Infection Prevention in Practice*. 2(2): 100043

Sanders CC, (1996). In vitro activity of fourth generation cephalosporins against enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta-lactamases. *Journal of Chemotherapy*. 8(2): 57-62

Sangita T, Lokendra BS, (2019). Changing trend of neonatal septicemia and antibiotic susceptibility pattern of isolates in Nepal. *International Journal of Pediatrics*. DOI: 10.1155/2019/3784529

Santajit S, and Indrawattana N, (2016). Mechanisms of antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens. *BioMed research international*

Sarmah AK, Meyer MT, Boxall AB, (2006). A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. *Chemotherapy*. 65: 725-759

Sassi A, Loucif L, Sushim KG, Dekhil M, Chettibi H, Rolain JM, (2014). NDM-5 carbapenemase-encoding gene in multidrug-resistant clinical isolates of *Escherichia coli* from Algeria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 58(9): 5606-5608

Schaufler K, Nowak K, Dux A, Semmler T, Villa L, Kourouma L, Bangoura K, Wieler LH, Leendertz FH, and Guenther S, (2018). Clinically relevant ESBL-producing *K. pneumoniae* ST307 and *E. coli* ST38 in an urban West African rat population. *Frontiers in Microbiology*. 9: 150

Références bibliographiques

Schroeder CM, Whiteb DG, Gea B , Zhanga Y, McDermottb PF, Ayersb S, Zhaob S, Menga J, (2003). Isolation of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* from retail meats purchased in greater Washington, DC, USA. *International Journal of Food Microbiology*. 85: 197-202

Schroeder CM, White DG, and Meng J, (2004). Retail meat and poultry as a reservoir of antimicrobial-resistant *Escherichia coli*. *Food Microbiology*. 21: 249-255

Schurek KN, Marr AK, Taylor PK, Wiegand I, Semenec L, Khaira BK, Hancock REW, (2008). Novel genetic determinants of low-level aminoglycoside resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 52: 4213-4219

Schwarz S, Feßler AT, Loncaric I, Wu C, Kadlec K, Wang Y, Shen J, (2018). Antimicrobial resistance among staphylococci of animal origin. *Microbiology Spectrum*. 6(4): ARBA-0010-2017

Sergelidis D, and Angelidis AS, (2017). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a controversial food-borne pathogen. 409-418

Shittu A, Oyedara O, Abegunrin F, Okon K, Raji A, Taiwo S, Ogunsola F, Onyedibe K, Elisha G, (2012). Characterization of methicillin-susceptible and -resistant staphylococci in the clinical setting: a multicentre study in Nigeria. *BMC Infectious Diseases*. 12: 286

Shore AC, Deasy EC, Slickers P, Brennan G, O'Connell B, Monecke S, Ehricht R, Coleman DC, (2011). Detection of staphylococcal cassette chromosome mec type XI carrying highly divergent *mecA*, *mecI*, *mecRI*, *blaZ*, and *ccr* genes in human clinical isolates of clonal complex 130 methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 55: 3765-3773

Siberry GK, Tekle T, Carroll K, Dick J, (2003). Failure of clindamycin treatment of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* expressing inducible clindamycin resistance in vitro. *Clinical and Infectious Diseases*. 37: 1257-1260

Sivagami K, Vignesh VJ, Srinivasan R, Divyapriya G, and Nambi IM, (2020). Antibiotic usage, residues and resistance genes from food animals to human and environment: An Indian scenario. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 8(1): 102221

Références bibliographiques

Skov R, Larsen AR, Kearns A, Holmes M, Teale C, Edwards G, Hill R, (2014). Phenotypic detection of *mecC*-MRSA: cefoxitin is more reliable than oxacillin. *Journal of Antimicrobial and Chemotherapy*. 69: 133-135

Smet A, Martel A, Persoons D, Dewulf J, Hendrickx M, Carry B, Herman L, Haesebrouck F, and Butaye P, (2008). Diversity of extended-spectrum beta-lactamases and class C beta-lactamases among cloacal *Escherichia coli* Isolates in Belgian broiler farms. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 52(4): 1238-1243

Smet A, Rasschaert G, Martel A, Persoons D, Dewulf J, Butaye P, Catry B, Haesebrouck F, Herman L, Heyndrickx M, (2011). In situ ESBL conjugation from avian to human *Escherichia coli* during cefotaxime administration. *Journal of Applied Microbiology*. 110: 541-549

Sommer MO, Church GM, and Dantas G, (2010). “The human microbiome harbors a diverse reservoir of antibiotic resistance genes”. *Virulence*. 1(4): 299-303

Sommer MOA, Dantas G, Church GM, (2009). Functional characterization of the antibiotic resistance reservoir in the human microflora. *Science*. 325: 1128-1131

Spellberg MD, (2011). chief medical officer of the Los Angeles County+University of Southern California (LAC+USC) Medical Center and professor of medicine and associate dean for clinical affairs at the Keck School of Medicine of USC.

Spellberg B, (2008). Antibiotic resistance and antibiotic development. *LID*. 8(4): 211-212

Springman AC, Lacher DW, Wu G, Milton N, Whittam TS, Davies HD, and Manning SD, (2009). Selection, recombination, and virulence gene diversity among group B streptococcal genotypes. *Journal of Bacteriology*. 191: 5419-5427

Srinivasan A, Dick JD, Perl TM, (2002). Vancomycin resistance in staphylococci. *Clinical Microbiology Review*. 15: 430-438

Stanford K, Zaheer R, Klima C, McAllister T, Peters D, Niu YD, and Ralston B, (2020). Antimicrobial Resistance in Members of the Bacterial Bovine Respiratory Disease Complex Isolated from Lung Tissue of Cattle Mortalities Managed with or without the Use of Antimicrobials. *Microorganisms*. 8(2): 288

Références bibliographiques

Stegger M, Andersen PS, Kearns A, Pichon B, Holmes MA, Edwards G, Laurent F, Teale C, Skov R, Larsen AR, (2012). Rapid detection, differentiation and typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* harbouring either *mecA* or the new *mecA* homologue *mecA* LGA251. *Clinical Microbiology and Infection*. 18: 395-400

Stewart CM, (2003). *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcal Enterotoxins*. In: Hocking AD (ed) Food borne Microorganisms of Public Health Significance. 6th Ed. Australian Institute of Food Science and Technology (NSW Branch), Sydney. P: 359-380

Strydom KA, Chen L, Kock MM, Stoltz AC, Peirano G, Nobrega DB, Lowe M, Ehlers MM, Mbelle NM, Kreiswirth BN, Pitout JDD, (2020). *Klebsiella pneumoniae* ST307 with *OXA-181*: threat of a high-risk clone and promiscuous plasmid in a resource constrained healthcare setting. *Journal Antimicrobial and Chemotherapy*. 75: 896-902

T

Tagajdid MR, L Boumhil L, Iken M, Adnaoui M, Benouda A, (2010). Étude de la résistance des souches d'*Escherichia coli* isolées dans les urines aux fluoroquinolones et aux céphalosporines de troisième génération Resistance to fluoroquinolones and third generation cephalosporin of *Escherichia coli* isolated from urines. *Médecine et maladies infectieuses*. 40: 70-73

Tamma PD, Girdwood SC, Gopaul R, Tekle T, Roberts AA, Harris AD, Cosgrove SE, Carroll KC, (2013). The use of cefepime for treating AmpC β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae*. *Clinical and Infectious Diseases*. 57: 781

Tamma PD1, Girdwood SC, Gopaul R, Tenover FC, (2006). Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *American Journal of Medicine*. 119: 62-70

Teshager T, Herrero IA, Porrero MC, Garde J, Moreno MA, Domínguez L, (2000). Surveillance of antimicrobial resistance in *Escherichia coli* strains isolated from pigs at Spanish slaughter-houses. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 15: 137-142

The recommendations of Antibiogram Committee French Society for Microbiology (CA-SFM, 2019) (<http://www.sfm-microbiologie.org/>)

Références bibliographiques

Theuretzbacher U, Bush K, Harbarth S, Paul M, Rex JH, Tacconelli E, and Thwaites GE, (2020). Critical analysis of antibacterial agents in clinical development. *Nature Reviews Microbiology*. 1-13

Thomson KS, Prevan AM, and Sanders CC, (1996). *Novel plasmid mediated-lactamases in Enterobacteriaceae: emerging problems for new β -lactam antibiotics*, In J. S. Remington and M. N. Swartz (Ed.), *Current clinical topics in infectious diseases*, vol. 16. Blackwell Science, Inc., Cambridge, Mass. P: 151-163

Thomson KS, and Smith Moland E, (2000). Version 2000: the new betalactamases of Gram-negative bacteria at the dawn of the new millennium. *Microbes and Infection*. 2: 1225-1235

Tóth S, Szepesi Á, Tran-Nguyen VK, Sarkadi B, Németh K, Falson P, and Boumendjel A, (2020). Synthesis and Anticancer Cytotoxicity of Azaaurones Overcoming Multidrug Resistance. *Molecules*. 25(3): 764

Totsika M, Gomes Moriel D, Idris A, Benjamin A, Rogers, Daniël J, Wurpel, Phan MD, David L, Paterson, and Mark A, (2012). Schembri Uropathogenic *Escherichia coli* Mediated Urinary Tract Infection. *Current Drug Targets*. 13: 1386-1399

Touati A, Brasme L, Benallaoua S, Gharout A, Madoux J, De Champs C, (2008). First report of *qnrB*-producing *Enterobacter cloacae* and *qnrA*-producing *Acinetobacter baumannii* recovered from Algerian hospitals. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 60: 287-90

Tran QT, Williams S, Farid R, Erdemli G, and Pearlstein R, (2013). The translocation kinetics of antibiotics through porin OmpC: insights from structure-based solvation mapping using WaterMap. *Proteins*. 81: 291-299

Trimble MJ, Mlynárcik P, Kolár M, Hancock REW, (2016). Polymyxin: Alternative mechanisms of action and resistance. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 6: a025288

Trongjit S, Angkittitrakul S, Chuanchuen R, (2016). Occurrence and molecular characteristics of antimicrobial resistance of *Escherichia coli* from broilers, pigs and meat products in Thailand and Cambodia provinces. *Microbiology and Immunology*. 60(9): 575-585

Tsuchido T, and Takano M, (1988). Sensitization by heat treatment of *Escherichia coli* K-12 cells to hydrophobic antibacterial compounds. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 32: 1680-1683

Tzouvelekis LS, Markogiannakis A, Psychogiou M, Tassios PT, and Daikos GL, (2012). Carbapenemases in *Klebsiella pneumoniae* and other *Enterobacteriaceae*: an evolving crisis of global dimensions. *Clinical Microbiology Reviews*. 25: 682-707

U

Uranian G, Moghadas AJ, (2010). Frequency of extended-spectrum beta-lactamase positive and multidrug resistance pattern in Gram-negative urinary isolates, Semnan, Iran, Jundishapur . *Journal of Microbiology*. 3(3): 107-113

V

Vana Thi Thu Hao, Chin James, Chapman Toni, Tran Linh Thuoc, Coloe Peter J, (2008). Safety of raw meat and shellfish in Vietnam: An analysis of *Escherichia coli* isolations for antibiotic resistance and virulence genes. *International Journal of Food Microbiology*. 124(3-10): 217-223

Vargiu AV, and Nikaido H, (2012). Multidrug binding properties of the AcrB efflux pump characterized by molecular dynamics simulations. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. 109: 20637-20642

Verkade E, Kluytmans-van DBM, Van Benthem B, Van Cleef B, Van Rijen M, Bosch T, Schouls L, and Kluytmans J, (2014). Transmission of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* CC398 from livestock veterinarians to their household members. *PLoS One*. 9. doi:10.1371/journal.pone.0100823

Verraes C, Van Boxtael S, Van Meervenne E, Van Coillie E, Butaye P, Catry B, de Schaetzen MA, Van Huffel X, Imbrechts H, Dierick K, Daube G, Saegerman C, De Block J, Dewulf J, Herman L, (2013). Antimicrobial resistance in the food chain: a review. *International Journal Environmental Research Public Health*. 10(7): 2643-2669

Références bibliographiques

Vincent C, Boerlin P, Daigneault D, Dozois CM, Dutil L, Galanakis C, Reid-Smith RJ, Tellier PP, Tellis PA, Ziebell K, Manges AR, (2010). Food reservoir for *Escherichia coli* causing urinary tract infections. *Emerging Infectious Diseases*. 16: 88-95

Virdis S, Scarano C, Cossu F, Spanu V, Spanu C, Santis EPL, (2010). Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative *Staphylococci* isolated from goats with subclinical mastitis. *Veterinary Medicine International*. 517060

Voulgari E, Poulou A, Koumaki V, and Tsakris A, (2013). Carbapenemase producing *Enterobacteriaceae*: now that the storm is finally here, how will timely detection help us fight back? *Future Microbiology*. 8: 27-39

W

Wang HJ, Entire MC, Zhang LX, Doyle L M, (2012). The transfer of antibiotic resistance from food to humans: facts, implications and future directions. *Revue scientifique et technique Office international des épizooties*. 31(1): 249-260

Weidenmaier C, Kokaikun J, and Kristian S, (2004). Role of teichoic acids in *Staphylococcus aureus* nasal colonization, a major risk factor in nosocomial infections. *Nature Medicine*. 10(3): 243-245

Wesley E, Kloos, Wolfshohl JF, (1982). Identification of *Staphylococcus species* with the API STAPH-IDENT system. *Journal of Clinical Microbiology*. 16(3): 509-516

White DG, Alekshun MN, McDermott PF, (2005). Frontiers in antimicrobial resistance: a tribute to Stuart B Levy. *ASM Press, Washington, DC*

Wick RR, Judd LM, Gorrie CL, Holt KE, (2017). Unicycler: resolving bacterial genome assemblies from short and long sequencing reads. *PLoS Computational Biology*. 13: e1005595

Wielders CL, Fluit AC, Brisse S, Verhoef J, and Schmitz FJ, (2002). *Journal of Clinical Microbiology*. 40: 3970-3975

Willey J, Sherwood L, Wolverton C, (2013). *Prescott Microbiology*. 9th Ed, McGraw-Hill, New Yk. P: 377-400

Références bibliographiques

Winokur PL, Vonstein DL, Hoffman LJ, Uhlenhopp EK, Dour GV, (2001). Evidence for transfer of CMY-2 AmpC β -lactamase plasmids between *Escherichia coli* and *Salmonella* isolates from food animals and humans. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 45: 2716-2722

Woodford N, Turton JF, and Livermore DM, (2011). Multiresistant Gram-negative bacteria: the role of high risk clones in the dissemination of antibiotic resistance. *FEMS Microbiology Reviews*. 35: 736-755

World Health Organization (WHO), (2000). WHO global principles for the containment of antimicrobial resistance in animals intended for food. Report of a WHO consultation, Geneva, Switzerland

World Health Organization (WHO), (2009). Drug resistant *Salmonella*. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139>

World Health Organization (WHO), (2011). Tackling antibiotic resistance from a food safety perspective in Europe. WHO Library Cataloguing in Publication Data. Copenhagen, Denmark

Wu S, Duan N, Gu H, Hao L, Ye H; Gong W; Wang Z, (2016). A Review of the Methods for Detection of *Staphylococcus aureus* Enterotoxins. *Toxins*. 8: 1-20

Wyres KL, Hawkey J, Hetland MAK, Fostervold A, Wick RR, Judd LM, Hamidian M, Howden BP, Löhr IH, Holt KE, (2019). Emergence and rapid global dissemination of CTX-M-15-associated *Klebsiella pneumoniae* strain ST307. *Journal of Antimicrobial and Chemotherapy*. 74(3): 577-581

Y

Yahiaoui M, Robin F, Baker R, Hamidi M, Bonnet R, and Messai Y, (2015). Antibiotic resistance, virulence, and genetic background of community-acquired Uropathogenic *Escherichia coli* from Algeria. *Microbial Drug Resistance*. 516-526

Yakout Marwa Atef, Ghada Hani Ali, (2022). A novel parC mutation potentiating fluoroquinolone resistance in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* clinical isolates. *Journal of Infection in Developing Countries*. 16(2): 314-319

Références bibliographiques

Yala D, Merad AS, Mohamedi D et OuarKorich MN, (2001). Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb*. 91

Yanat B, Machuca J, Díaz-De-Alba P, Mezhoud H, Touati A, Pascual Á, (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: 90-97

Yang Q, Li X, Jia P, Giske C, Kahlmeter G, Turnidge J, Yu Y, Lv Y, Wang M, Sun Z, Lin J, Li Y, Zheng B, Hu F, Guo Y, Chen Z, Li H, Zhang G, Zhang J, Kang W, Duan S, Wang T, Jing R and Xu Y, (2020). On behalf of the Chinese Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (ChiCAST). Determination of norvancomycin epidemiological cut-off values (ECOFFs) for *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus* and *Staphylococcus hominis*. *Journal of Antimicrobial and Chemotherapy*. DOI: 10.1093/jac/dkaa414

Yigit H, Queenan AM, Anderson GJ, Domenech-Sanchez A, Biddle JW, Steward CD, Alberti S, Bush K, Tenover FC, (2011). Novel carbapenem hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 45: 1151

Young K D, (2011). Peptidoglycan. In Wiley Online Library. Retrieved from http://www.els.net/Wiley_CDA/ElsArticle/refId-a0000702.html.2011

Yousfi M, Mairi A, Bakour S, Touati A, Hassissen L, Hadjadj L, and Rolain JM, (2015). First report of NDM-5-producing *Escherichia coli* ST1284 isolated from dog in Bejaia, Algeria. *New Microbes and New Infections*. 8: 17-18

Z

Zahid S Aziz, (2015). Identification of *blaOXA-1* genes in *Klebsiella* isolated from urinary tract infections. *International Journal of Advanced Research*. 3(3): 947-950

Références bibliographiques

- Zemmour Assia, Dali-Yahia Radia, Maatallah Makaoui, Saidi-Ouahrani Nadja, Rahmani Bouabdallah, Benhamouche Nora, Al-Farsi Hissa M, Giske Christian 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*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0254805>
- Zgurskaya HI, López CA, Gnanakaran S, (2015). Permeability barrier of Gram negative cell envelopes and approaches to bypass it. *ACS Infectious Diseases*. 1: 512-522
- Zhanel GG, Esquivel J, Zelenitsky S, Lawrence CK, Adam HJ, Golden,A, and Bay D, (2020). Omadacycline: A Novel Oral and Intravenous Aminomethylcycline Antibiotic Agent. *Drugs*. 1-29
- Zhang WJ, Xu XR, Schwarz S, Wang XM, Dai L, Zheng HJ, and Liu S, (2014). Characterization of the IncA/C plasmid pSCEC2 from *Escherichia coli* of swine origin that harbours the multiresistance gene cfr. *Journal of Antimicrobial and Chemotherapy*. 69: 385-389
- Zhao WH, and Hu ZQ, (2013). Epidemiology and genetics of CTX-M extended-spectrum β -lactamases in Gram negative bacteria. *Critical Reviews in Microbiology*. 39: 79-101
- Zong Z, Chunhong P, Xiaoju L, (2011). Diversity of SCCmec Elements in Methicillin-Resistant Coagulase-Negative Staphylococci Clinical Isolates. *PLoS ONE*. 6(5): e20191

Résumés

Résumé

La résistance aux antimicrobiens (RAM) représente l'un des plus importants problèmes de santé humaine et animale dans le monde et particulièrement en Algérie. Le but de cette étude est de faire une caractérisation phénotypique et moléculaire des souches Gram positives et Gram négatives isolées de différentes origines (alimentaire et clinique).

La détermination du profil de sensibilité aux antibiotiques de chaque souche bactérienne a été réalisée en utilisant la méthode de diffusion des disques d'antibiotiques, selon les recommandations de la Société Française de Microbiologie (SFM, 2019). La caractérisation moléculaire des souches multirésistantes de *K. pneumoniae* a été réalisée afin de séquencer le génome entier (WGS) en utilisant la technologie Illumina. Les lectures brutes séquencées ont été traitées en utilisant des outils bioinformatiques : FastQC Ariba, Shovill-Spades. Le typage de séquence multilocus (MLST) a été utilisé pour estimer la relation évolutive entre les souches séquencées.

La caractérisation phénotypique a révélé des taux de multirésistance (MR) aux antibiotiques élevés et très inquiétants chez les souches d'*E. coli*, *S. epidermidis* et *S. aureus*. L'analyse moléculaire a permis de détecter pour la première fois en Algérie le gène *blaNDM-5* chez *K. pneumoniae*. D'autres gènes de résistance ont été aussi détectés : *blaTEM*, *blaSHV*, *blaCTX-M*, *aac(6)-Ib-cr*, *qnrB1*, *qnrB4*, *qnrB19*, *qnrS1*, *gyrA* et *parC*. En outre, nos données révèlent aussi l'émergence de clone ST307 chez deux souches de *K. pneumoniae* (S03 et S13), qui maintenant, est reconnu comme une grande menace mondiale. Pour conclure, en Algérie de nouvelles politiques de contrôle doivent être adoptées

Mots clés : bactéries, *blaNDM-5*, MR, MLST, résistance antimicrobienne, ST307

Abstract

Antimicrobial resistance (AMR) represents one of the most important problems of human and animal health in the world and particularly in Algeria. The aim of this study is to make a phenotypic and molecular characterization of Gram-positive and Gram-negative strains isolated from different origins (food and clinical).

The determination of the antibiotic susceptibility profile of each bacterial strain was performed using the antibiotic disc diffusion method, according to the recommendations of the French Society of Microbiology (FSM, 2019). Molecular characterization of the multidrug-resistant strains of *K. pneumoniae* was performed to sequence the whole genome (WGS) using Illumina technology. The raw sequenced reads were processed using bioinformatics tools: FastQC Ariba, Shovill-Spades. Multilocus sequence typing (MLST) was used to estimate the evolutionary relationship between the sequenced strains.

Phenotypic characterization revealed high and very alarming rates of multidrug resistance (MDR) to antibiotics in *E. coli*, *S. epidermidis* and *S. aureus* strains. Molecular analysis has permitted to detect for the first time in Algeria the *bla**NDM-5* gene in *K. pneumoniae*. Other resistance genes were also detected: *bla**TEM*, *bla**SHV*, *bla**CTX-M*, *aac*(6')-*Ib-cr*, *qnrB1*, *qnrB4*, *qnrB19*, *qnrS1*, *gyrA* and *parC*. In addition, our data also reveal the emergence of clone ST307 in two strains of *K. pneumoniae* (S03 and S13), which is now recognized as a major global threat. To conclude, in Algeria new control policies must be adopted.

Key words: bacteria, *bla**NDM-5*, MDR, MLST, antimicrobial resistance, ST307

ملخص

تمثل مقاومة مضادات الميكروبات واحدة من أهم مشاكل صحة الإنسان والحيوان في العالم وخاصة في الجزائر. الهدف من هذه الدراسة هو إجراء توصيف مظهري وجزئي لسلاسل موجبة الجرام وسالبة الجرام معزولة من أصول مختلفة (غذائية وسريية).

تم تحديد ملف الحساسية للمضادات الحيوية لكل سلالة بكتيرية باستخدام طريقة نشر قرص المضادات الحيوية، وفقاً لتوصيات الجمعية الفرنسية لعلم الأحياء الدقيقة (SFM, 2019) تم إجراء التوصيف الجزيئي لسلاسل *K. pneumoniae* المقاومة للأدوية المتعددة من أجل تسلسل الجينوم بأكمله (WGS) باستخدام تقنية Illumina. تمت معالجة القراءات الأولية المتسلسلة باستخدام أدوات المعلوماتية الحيوية FastQC Ariba و Shovill-Spades. تم استخدام الكتابة التسلسلية متعددة البؤرة (MLST) لتقدير العلاقة التطورية بين السلالات المتسلسلة.

كشف التوصيف المظهري عن مستويات عالية ومقلقة للغاية من مقاومة الأدوية المتعددة (MR) للمضادات الحيوية في سلالات بكتيريا *E. coli* و *S. epidermidis* و *S. aureus*. أتاح التحليل الجزيئي اكتشاف الجين blaNDM-5 لأول مرة في الجزائر في *K. pneumoniae*. تم الكشف أيضاً عن جينات مقاومة أخرى *blaTEM* و *blaSHV* و *blaCTX-M* و *Ib-cr* و *aac(6')* و *qnrB1* و *qnrB4* و *qnrB19* و *gyrA* و *qnrS1* و *parC*. علاوة على ذلك، تكشف بياناتنا أيضاً عن ظهور استنساخ ST307 في سلالتين من *K. pneumoniae* (S03, 13)، والتي تُعرف الآن بأنها تهديد عالمي كبير. في الختام، يجب تبني سياسات رقابة جديدة في الجزائر

الكلمات المفتاحية: البكتيريا، *blaNDM-5*، MR، MLST، مقاومة مضادات الميكروبات

Annexes

Annexe 01 : Composition des milieux de culture (pour 1000mL d'eau distillée) (Le Minor et Richard, 1993)

Gélose Mac Conkey

- Peptone de caséine.....17 g
- Peptone de viande..... 03 g
- Lactose.....10 g
- Mélange de sels biliaires01,5 g
- Rouge neutre.....0,03 g
- Chlorure de sodium.....05 g
- Cristal violet.....0,001 g
- Agar.....10 g
- Ajuster le pH à 7,4 avant l'autoclavage

Gélose Hektoen

- Protéose peptone.....12g
- Extrait de levure.....3g
- Chlorure de sodium.....5g
- Sels biliaires.....9g
- Citrate de fer ammoniacal.....1,5g
- Salicine.....2g
- Lactose.....12g
- Saccharose.....12g
- Fuchsine acide.....0,1g
- Bleu de bromothymol.....0,065g
- Gélose.....14g
- Ajuster le pH à 7,5 ± 0,2 avant l'autoclavage

Mueller Hinton

- Infusion de viande de bœuf300 g
- Hydrolysât de caséine.....17,5 g
- Amidon.....1,5 g
- Agar.....17 g
- Ajuster le pH à 7,4avant l'autoclavage

Bouillon nutritif

- Macération de viande.....10 g
- Peptone trypsique.....05 g
- NaCl ou KCl.....05 g
- Ajuster le pH à 7,3 avant l'autoclavage

Eau physiologique

- NaCl..... 9g
- Eau distillé.....1000ml

Gélose nutritive

- Extrait de viande.....3 g
- Peptone.....5 g
- Agar.....15 g
- Eau distillée.....1000 ml
- pH = 8

MacFarland turbidity standard No 0.5

Réactif

- Formule approximative par 100ml d'eau purifiée
- Acide sulfurique 0,18M.....99.5 ml
- Chlorure de baryum 0,048 M.....0.5 ml

Gélose Chapman

- Peptone.....10 g
- Extrait de bœuf.....1 g
- Chlorure de sodium.....75 g
- D-mannitol.....10 g
- Rouge de phénol.....25 mg
- Agar.....15 g
- Ajuster le pH à $7,4 \pm 0,2$ à 25°C (après autoclavage).

Annexe 02 : Mode opératoire des tests biochimiques

➤ Test d'oxydase

- A l'aide d'une pince, placer un disque d'oxydase sur une lame porte objet.
 - Choisir une colonie bien isolée et représentative de la culture fraîche à tester.
 - Prélever la colonie choisie à l'aide d'une öse.
 - Ne pas utiliser d'öse de métal (à l'exception du platine) cela peut provoquer des réactions faussement positives.
 - Frotter doucement la colonie sur le disque et observer l'apparition d'une coloration violette dans un délai de 30 secondes.
- ❖ **Réaction positive** : coloration bleu foncé à violet apparaissant dans un délai de 30 secondes.
- ❖ **Réaction négative** : absence de coloration ou coloration au-delà de 30 secondes.

➤ Test catalase

- À l'aide d'une anse d'inoculation stérile prélevez une colonie bien isolée d'une culture pure (18 à 24 heures d'incubation) et placez-la sur la lame de microscope.
- Veillez à ne pas prendre d'agar. Ceci est particulièrement important si la culture a été réalisée sur une gélose au sang. Les globules rouges peuvent entraîner une réaction faussement positive.
- Déposez 1 goutte de H₂O + O₂ à 3% sur la colonie. Ne pas mélanger.
- Observez la formation immédiate de bulles (O₂ + eau = bulles).

➤ Test coagulase

- Étiquetez le tube à essai avec le numéro de la souche à tester.
- À l'aide de la pipette, transférez de manière aseptique 0,5 ml du plasma reconstitué dans le tube à essai.
- Sélectionnez deux ou trois colonies isolées de bactéries à tester et collectez-les à l'aide de la boucle stérile.
- Émulsionnez les bactéries dans les 0,5 ml de plasma et les placer dans l'incubateur
- Observez la culture à intervalles réguliers, au cours des quatre heures qui suivent, à la recherche de la présence d'un caillot. Toute formation de caillot est un résultat positif.

- Si aucun caillot n'est observé au bout de 4 heures, l'essai peut être poursuivi avec une incubation pendant une nuit à la température ambiante et une observation finale à 24 heures.
- L'organisme de contrôle positif devrait présenter une coagulation au bout de 24 heures, contrairement à l'organisme de contrôle négatif.
- Une fois le test terminé, éliminez les matériaux contaminés de manière appropriée.

➤ **Test ADNase**

- Vous ferez une seule ligne au centre de la boîte.
- Incuber à 30°C ou 37°C.
- ❖ **Après incubation:** Si le milieu de DNase ne contient pas d'indicateur coloré : Inonder la boîte avec de l'acide chlorhydrique à 1N et Laisser reposer la boîte pendant quelques minutes pour permettre au réactif de s'adsorber. Décanter l'excès de l'acide chlorhydrique, puis examiner la boîte dans les 5 minutes sur un fond sombre.

➤ **Test sur Milieu TSI (Triple sugar iron)**

- On a fait un ensemencement par chaque souche dans un milieu TSI, un en stries au niveau de la ponte et le deuxième une piqure centrale jusqu'au fond du tube dans le culot.
- La ponte contient deux types de sucre le saccharose et le lactose s'il y'a un virement de couleur vers le jaune, donc il y'a eu une fermentation du saccharose et du lactose.
- S'il y'a apparition de points noirs dans le milieu on dit qu'il y'a présence H₂S.
- S'il y'a changement de couleur du culot vers le jaune il y'a fermentation du glucose et on dit il y'a une production de gaz lors du décollement de la gélose.

➤ **Test du Mannitol mobilité**

- A l'aide de lance de platine au fil droit on a fait une piqûre centrale sur le milieu.
- Ce milieu nous permet de déterminer la mobilité s'il y'a formation d'un voile autour de la piqure et aussi il permet de déterminer la nitrate réductase (Mannitol).
- Si le milieu reste rouge, il n'ya pas eu d'acidification donc pas de fermentation du Mannitol et si le milieu est devenu jaune il y'a eu fermentation du Mannitol.

➤ **Test sur milieu Clark et Lubs**

❖ **Inoculation du milieu**

- Inoculer un tube de bouillon MR-VP à partir d'une culture pure fraîche (18 à 24 heures) (par exemple, cultivée sur gélose trypticase soja) de la culture à tester. Transférer un inoculum léger d'une colonie isolée et le remettre en suspension dans le tube à bouillon MR-VP de 5 ml.

- Pour la comparaison, il est suggéré d'utiliser *Escherichia coli* (MR+, VP-) et *Enterobacter aerogenes* (MR-, VP +) comme cultures témoins.

❖ Incubation

- Incuber le test et les cultures témoins à 35°C (+/- 2°C) pendant 48 heures.

❖ Interprétation des résultats RM

-Transférer 2,5 ml de culture dans un nouveau tube de culture stérile.

-Ajoutez 5 gouttes du réactif rouge de méthyle.

❖ Interprétation des résultats VP

- Utilisez les 2,5 ml de culture restants dans le bouillon MR-VP.

-Ajoutez 0,6 ml (ou 12 gouttes) de réactif de Barritt A.

-Ajoutez 0,2 ml (ou 4 gouttes) de réactif B de Barritt.

-Agiter soigneusement le tube pendant 30 secondes à 1 minute pour exposer le milieu à l'oxygène de l'air (nécessaire à l'oxydation de l'acétoïne pour obtenir une réaction de couleur).

-Laisser le tube reposer pendant au moins 30 minutes.

➤ Test uréase

- Inoculer fortement la pente de la gélose à l'urée inclinée (à partir d'une culture pure de 18 à 24 heures) en striant la surface de la gélose en zigzag.

- Incuber les tubes inoculés avec les bouchons desserrés à 35-37°C pendant 24-48 heures.

- Examiner les pentes pour le changement de couleur après 6 heures et après une nuit d'incubation. Des périodes plus longues peuvent être nécessaires.

➤ Test de production d'indole

- Inoculer le bouillon tryptophane (ou peptone) avec l'organisme à tester et incuber à 37°C pendant 24 à 48h.

- Ajouter 0,5 ml (5 gouttes) de réactif de Kovác et agiter doucement.

- Examiner la couche supérieure de liquide après environ 1 min

❖ **Résultat positif** est indiqué par la présence d'une couleur rouge ou rouge-violet dans la couche d'alcool de surface du bouillon.

❖ **Résultat négatif** apparaît en jaune.

➤ **Test sur milieu Citrate de Simmons**

- Dans ce milieu il y'a une seule source de carbone qui est le citrate avec un indicateur de pH.
- Si le milieu est vert : le pH du milieu n'a pas changé donc la bactérie n'est pas capable d'utiliser le citrate comme seule source de carbone ou bien elle n'a pas la perméase.
- Si le milieu est bleu : alcalinisation du milieu suite à l'utilisation du citrate comme seule source de carbone.

➤ **Coloration de GRAM**

- Mettre le violet de gentiane sur notre frottis et laisser 1min.
- Mettre du lugol sur notre frottis, laisser 1min (formation d'un composé cytoplasmique VGA).
- Mettre de l'alcool sur notre lame et laisser 30 sec.
- Rinçage après l'alcool puis le rajout du rose fuchsine laisser 1min.
- Rincer légèrement puis la sécher à l'aide d'un papier buvard sans pour autant écraser notre frottis.
- Entamer notre observation microscopique grossissement 40, après on peut voir avec le Gro100 en rajoutant d'abord une goutte d'huile de paraffine sur la lame.

➤ Lecture des résultats de la galerie biochimique API 20E























TABLEAU DE LECTURE DE LA GALERIE MINIATURISEE API 20E					
Microtube	Substrat	Caractère recherché	Lecture directe ou indirecte (Test si nécessaire)	Résultat +	Résultat -
ONPG	Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	β -galactosidase	Lecture directe		
ADH LDC ODH	Arginine Lysine Ornithine	Arginine dihydrolase Lysine décarboxylase Ornithine décarboxylase	Lecture directe		
CIT	Citrate	Utilisation du citrate	Lecture directe		
H ₂ S	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S	Lecture directe		
URE	Urée	Uréase	Lecture directe		
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de Perchlorure de Fer		
IND	Tryptophane	Production d'indole	Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de réactif de Kovacs		
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	Lecture indirecte (Attendre 10 minutes) Test : ajouter 1 goutte de KOH et d' α -naphthol		
GEL	Gélatine emprisonnant des particules de charbon	Gélatinase	Lecture directe		
GLU à ARA	Substrat carboné	Utilisation de substrat carboné	Lecture directe		
NO ₂ / N ₂	Nitrates (NO ₃)	Nitrate réductase	Lecture indirecte dans la cupule GLU Test : ajouter 1 goutte de réactif de Griess Ajouter de la poudre zinc en cas de résultat négatif		

Figure 10 : interprétation des résultats de la galerie biochimique API 20E

Annexe 03 : caractères cultureux et biochimiques des souches bactériennes

I. Caractères cultureux des souches *E. coli*

Il y'a eu un virage de couleur du milieu Hektoen : du bleu vert vers l'oranger, avec un aspect de colonies roses saumon, la figure 11 (a) et la figure 12 (b) illustrent les caractères macroscopiques et microscopiques des souches d'*E. coli* obtenues.

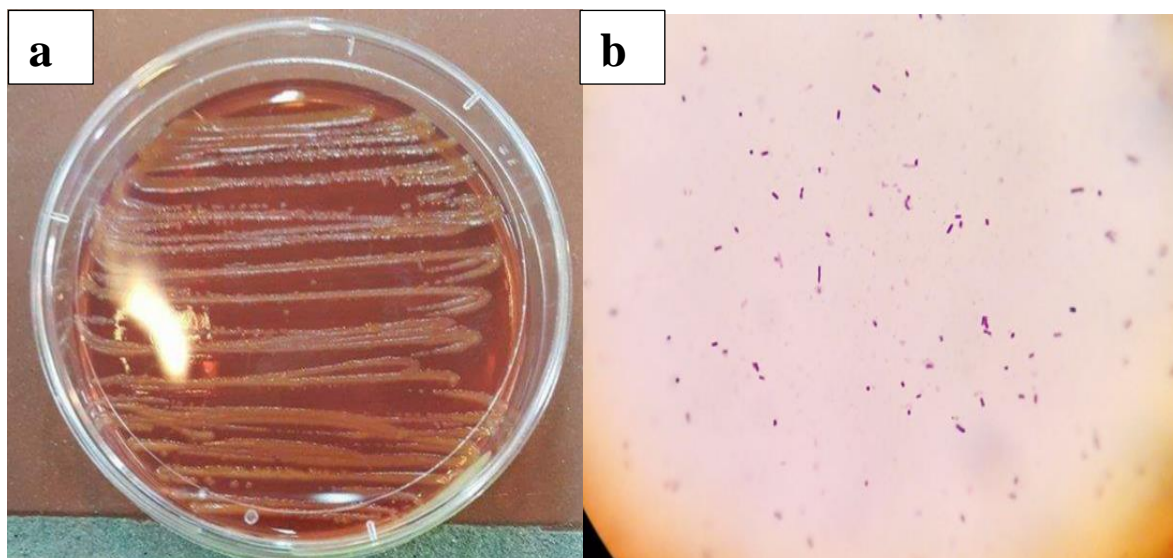


Figure 11 : culture d'*E. coli* sur milieu Hektoen (a)

Figure 12 : Observation microscopique d'*E. coli* lors de la détermination du Gram (X100).

II. Caractères biochimiques d'*E. coli*

Les souches d'*E. coli* qui ont poussées sur milieu Mac conkey ont été soumises à des tests biochimiques dont la galerie API 20E, la figure 13 ci-dessus montre les résultats d'identification biochimiques d'*E. coli*.



Figure 13: identification biochimiques des souches *E. coli* par galerie API 20E

III. Caractères cultureux des *Staphylococcus* spp

Sur milieu solide, les colonies de *S. aureus* sont lisses, rondes, opaques, colorées en jaune doré ou blanches, leur diamètre est compris entre 1 et 3 mm. Sur milieu liquide, il présente un trouble homogène abondant avec dépôt et voile en surface.

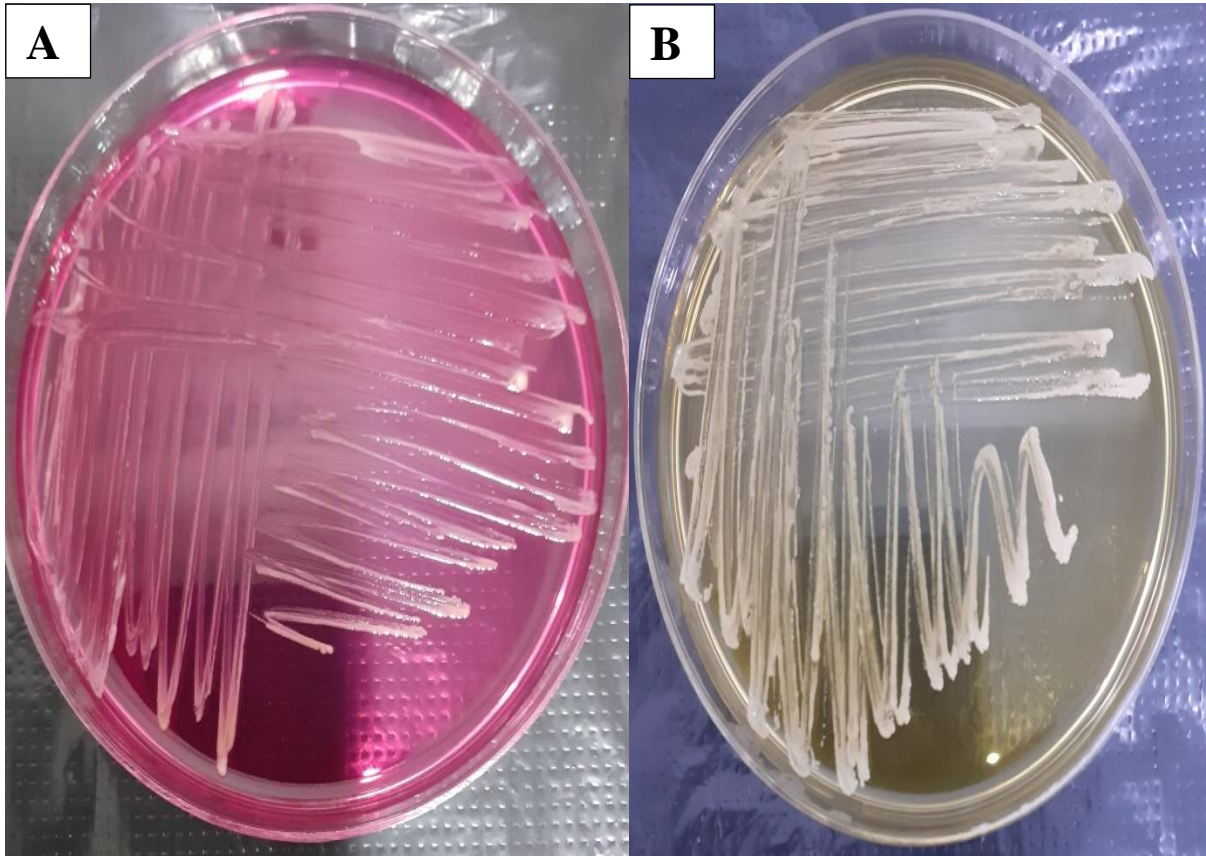


Figure 14: culture de *Staphylococcus* à coagulase négative sur milieu Chapman (A)

Figure 15: culture de *Staphylococcus* à coagulase positive sur milieu Chapman (B)

*Publications
scientífiques*

Article 1



REGULAR ARTICLE

Antimicrobial drug resistance of *Escherichia coli* strains isolated from urinary tract infection and raw beef meat in Oum El Bouaghi city of Algeria

Amina Rahmani^{*}, Laarem Meradi, Nour Chems el Houda Khennouchi

Department of Natural and Life Sciences, laboratory of Biotechnology of Natural Substances and Applications Larbi-Ben-M'hidi University of Oum El Bouaghi, Algeria

ARTICLE INFO

Article History:
Received: 30 Dec 2020
Revised: 14 Mar 2021
Accepted: 15 Mar 2021

*Corresponding Author:
Email: amina.rahmani@univ-ueb.dz
Telephone: +213 542898529

Keywords: *E. coli*, ESBL, antimicrobial resistance, UTI, raw beef meat

ABSTRACT

Antimicrobial resistance, especially in *Escherichia coli*, represents one of the most important human and animal health-threatening issues worldwide. The aim of this study was the characterization and the comparison of Antimicrobial drug resistance of *Escherichia coli* strains isolated from urinary tract infection (UTI) and food (raw beef meat) in Oum El Bouaghi city-Algeria. The determination of antibiotics susceptibility pattern was realized by using the agar disk diffusion method, according to the recommendations of the French Society for Microbiology (FSM, 2019). A total, 159 *E. coli* were obtained from both clinical and food samples, with a frequency of isolation of 100% from raw beef meat and 59% from UTI. ESBL phenotype was detected only in 17% of clinical isolates. Also, the results of this work reveal that there is a highly significant difference in antibiotic resistance between clinical and foodborne isolates except for gentamicin. This high prevalence is a warning sign to adopt new control policies to prevent the further spread of this antimicrobial resistance.

1. Introduction

Antibiotics are natural, semi-synthetic, or synthetic compounds with antimicrobial activity and are administered to both animals and humans for several reasons (D'Costa et al., 2011), used as well as for prophylaxis and growth promotion of food-producing animals (Kolár et al., 2001; Smith et al., 2002; Kelly et al., 2004). During the previous decades to show the relationships between antibiotic usage as growth promoters in animals and the emergence of antimicrobial-resistant bacteria in human and animal infections (Marshall and Levy, 2011). Nowadays, prolonged and/or unsuccessful exposure to antibiotic treatments has led to the evolution of antimicrobial resistance (Giedraitiene

et al., 2011; Perry et al., 2016), which is a serious public health problem worldwide (Bryce et al., 2016 ; Bhoomika et al., 2016) in human and veterinary medicine (Jacoby, 2009).

The emergence of *E. coli* isolates with multiple antibiotic-resistant phenotypes, is alarming (Sáenz et al., 2004), as suggested in several studies, *E. coli* is responsible for community-acquired urinary tract infections, and is able to transmit from retail meat to people (Hawthorn et al., 2018 ; Johnson et al., 2017). Because these germs are also normal inhabitants of the intestinal tracts of animals and humans (Ben Said et al., 2013a), it regarded as a representative indicator of antimicrobial resistance of Gram-negative bacteria (Gregova and Kmet, 2020)

and is associated with a wide variety of diseases in humans and animals (Verraes et al., 2013). In recent years, ESBL/AmpC-producing Enterobacteriaceae, especially *E. coli* isolates, have moved from the hospital to the environment and the community (Barguigua et al., 2013) isolated from the farm, domestic, wild animals, food, vegetables, and wastewater (Verraes et al., 2013). Several studies have underlined their global distribution in broiler production (Carattoli, 2008 ; Smet et al., 2008). Thus, the consumption of contaminated meat poses a potential health risk to the consumer (Vincent et al., 2010; Leverstein-van Hall et al., 2011), because the transfer of drug resistance within the gastrointestinal tract is still possible, and it could be an important source of resistance in fecal flora (Johnson et al., 2007).

Urinary tract infection (UTI) is one of the most commonly diagnosed infections both across all age groups and genders in the world (Magliano et al., 2012). Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) is classified among the most important microorganisms contributing to UTI (Yang et al., 2010) and patients with these infections are at high risk for treatment failure, high health care costs, high mortality, and long hospital stays (Kiratisin et al., 2008 ; Benner et al., 2014). The aim of the study was to evaluate the antibiotic susceptibility profiles of *E. coli* isolates obtained from food products (cow meat) and community urinary tract infection of human origin in Oum El Bouaghi, Algeria.

2. Material and methods

2.1. Sample collection and bacterial isolation

For clinical samples, several samples were collected between January and July 2020 from the urine of patients with community-acquired urinary tract infections belonging to different laboratories in the city of Oum El-bouaghi, Algeria. The samples were immediately transported to the laboratory for culture sampling and analysis. Only 59 *E. coli* isolates were randomly selected for the study. For cow meat samples, 100 samples were aseptically collected from several butcher shops in OEB, a sharp sterile knife was used to cut samples from surfaces in sterile trays and then packaged in sterile bags and transported to the laboratory under aseptic conditions at 4°C and analyzed within two hours of sampling.

2.2. Culture and identification of *E. coli*

For isolation of the clinical *E. coli*, in a sterile con-

tainer, a 10 ml of clean-catch midstream urine specimen was collected and were cultured on MacConkey agar. Densities of growth of *E. coli* greater than or equal to 10^4 CFU/ml (colony-forming units per milliliter) were interpreted as positive for urinary tract infection (Uranian and Moghadas, 2010). In 225ml of nutrient broth, Twenty-five grams (25g) of each sample (meat) were placed and shaken, incubated for 6-8 h at 37 °C, one milliliter of each sample was spread plated onto Mac Conkey agar for 24 hours at 37°C.

One colony with typical *E. coli* morphology was re-plated on Mac Conkey agar, were selected (one per sample) and they were confirmed using classical biochemical methods, standard bacteriological tests, which included: lactose fermenting colonies were picked and identified by gram stain, mobility, and standard biochemical tests, oxidase, catalase, fermentation of glucose and lactose using triple sugar iron agar, methyl red test, production of indole, urease test, Voges Proskauer test, utilization of citrate (Mac Faddin, 1999) and the identification of the isolates were confirmed using Api20E (Bio-Merieux, France). All *E. coli* isolates were stored at 4°C in nutrient broth containing 20% glycerol for further processing.

2.3. Antimicrobial drug susceptibility testing (AST)

All isolates growing on MacConkey agar were subjected to susceptibility testing against 10 antimicrobial agents by a disc diffusion method on Mueller-Hinton (MH) agar plates (Bio-Rad), according to the French Society for Microbiology (<http://www.sfm-microbiologie.org/>). The broth was diluted to a density of 0.5 McFarland turbidity standards, swabs were used to spread the bacterial suspension on the surface of the Mueller-Hinton agar medium. The antibiotics were as follows: ampicillin (10µg), amoxicillin-clavulanic acid (30µg), imipenem (10µg), cefotaxime (30µg), tetracycline (30 µg), trimethoprim-sulfamethoxazole (25µg), gentamicin (10µg), rifampicin (5µg), nalidixic acid (30µg), and ciprofloxacin (5µg) (FSM, 2019).

2.4. Phenotypic detection of ESBL production

For all isolates that were resistant to one of the third generation cephalosporins by AST were analyzed a double-disc synergy test (DDST) standard on MH agar for ESBL production (FSM, 2019). Amoxicillin/clavulanic acid (20/10µg) was placed in the center of the plate, and ceftazidime (30µg), ceftriaxone (30µg) and cefotaxime (30µg) discs

were placed 15 mm away from the central disc, plates were incubated 24 h at 37°C. An inhibition zone greater than 3 mm around the amoxiclav disc compared to cephalosporin discs alone was considered to be ESBL production. ESBL production was further confirmed by the phenotypic confirmatory test (PCT) (FSM, 2019).

2.5. Statistical analysis

By using SPSS version 20, the data analysis was done and Values were expressed as the percentages of the variables. Statistical analyses were performed using the Pearson's Chi-square (χ^2) test to assess the level of resistance of *E. coli* strains of clinical and foodborne origin to each antibiotic a confidence level of 95% and a P-value less than 5% were considered significant a confidence level of 95% and a P-value less than 5% were considered significant.

3. Results

A total of 139 strains obtained are biochemically confirmed isolates of *E. coli* were isolated from a total of 100 raw beef samples and 395 urine samples from patients with community infections and tested for their resistance profile against 10 different antimicrobial agents. Table 1 shows the results of the antibiotic susceptibility test.

Antibiotic susceptibility testing by disc diffusion

indicated a high prevalence of resistance to various antimicrobial agents, the dominant type of resistance in *E. coli* from raw beef meat samples was to trimethoprim-sulfamethoxazole and rifampicin identically detected in 100 (100%) isolates, followed by both ampicillin and nalidixic acid in 93 (93%), amoxicillin-clavulanic acid and ciprofloxacin in 90 (90%), tetracycline in 73 (73%), and gentamicin in 23 (23%) of each isolate. None of the isolates was found resistant to cefotaxime and carbapenem (imipenem). For *E. coli* from urinary infection samples the greatest resistance was revealed with amoxicillin in 47 (79,7%) isolates, followed by nalidixic acid in 34 (37,6%), trimethoprim-sulfamethoxazole in 32 (34,2%), amoxicillin-clavulanic-acid in 31 (32,3%), ciprofloxacin in 12 (20,3%), cefotaxime in 11 (18,6%) and 8 (13,6%) for gentamicin (Figure 1). The results revealed none of the *E. coli* strains were resistant to the imipenem, therefore it was the most effective antibiotic against *E. coli* isolates with 100% susceptibility in both origins (tableau 1). Almost the majority of foodborne and clinical *E. coli* isolates are multi-drug-resistant (resistance to more than three different families of antibiotics).

Thus, according to the conformational test of ESBL (PCDDT and DDST), none has been identified in raw beef samples but 10(17%) isolates showed enhanced susceptibility to ceftazidime and/or cefo-

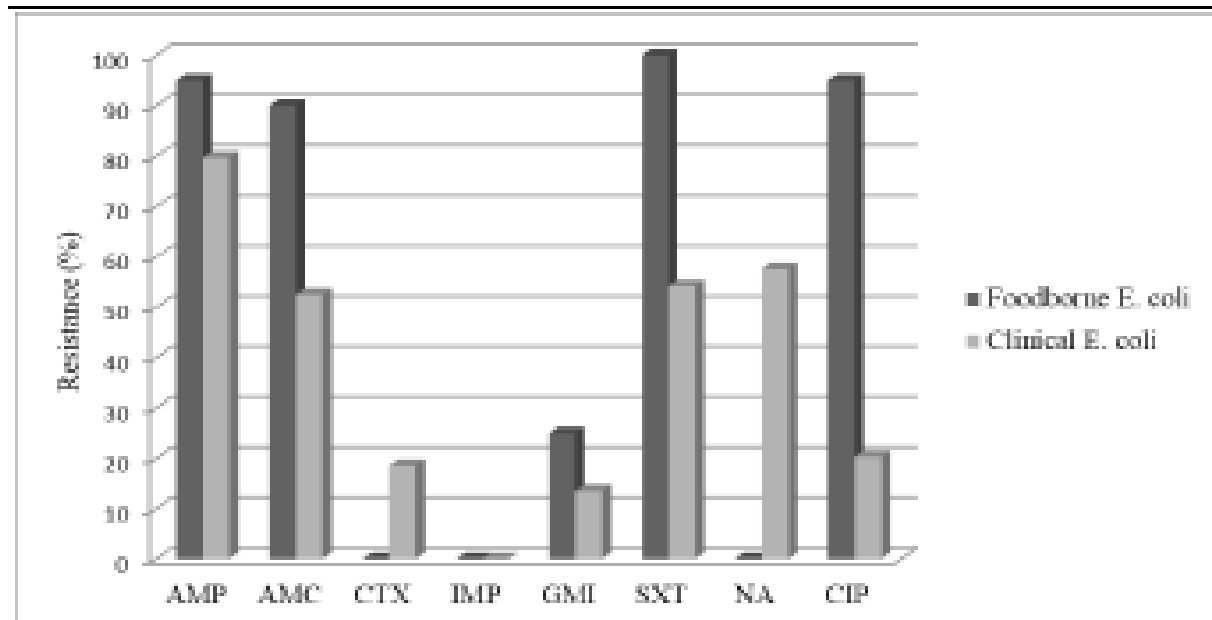


Figure 1: Rate of antibiotic resistance in foodborne and clinical *E. coli*
 AMP: Ampicillin, AMC: Amoxicillin/clavulanic, CTX: Cefotaxime, IMP: Imipenem, GMI: Gentamicin, SXT: Trimethoprim/sulfamethoxazole, NA: Nalidixic acid, CIP: Ciprofloxacin

Antimicrobial agents	Dosage (µg)	Phenotypic resistance N (%)	
		Foodborne <i>E. coli</i> , n=100	Clinical <i>E. coli</i> , n=59
Ampicillin	10	95 (95%)	47 (79,7%)
Amoxicillin-clavulanic acid	30	90 (90%)	31 (52,5%)
Cefotaxime	30	0 (0%)	11 (18,6%)
Imipenem	10	0 (0%)	0 (0%)
Gentamicin	10	25 (25%)	8 (13,6%)
Trimethoprim-sulfamethoxazole	25	100 (100%)	32 (54,2%)
Nalidixic acid	30	95 (95%)	34 (57,6%)
Ciprofloxacin	5	90 (90%)	12 (20,3%)
Rifampicin	5	100 (100%)	ND
Tetracycline	30	75 (75%)	ND

Table 1: Antibiotic Susceptibility pattern of clinical and foodborne *E. coli* with disk diffusion method. ND: Not Determined, µg: microgram, %: percentage, n: number of *E. coli* isolates

taxime in the presence of clavulanic acid are so ESBL-positive *E. coli* in urinary infection samples as shown in Table 2.

Origin	ESBL-positive <i>E. coli</i>	ESBL-negative <i>E. coli</i>
Raw beef	0%	100%
Urinary Infection	17%	83%

Table 2: Distribution of ESBL-*E. coli* according to two origins (raw beef and urinary infection).

In all the cases *p*-value was < 0.05 thus a highly significant difference in the resistant pattern was found between Foodborne and clinical *E. coli* for the following antibiotics: ampicillin, amoxicillin-clavulanic acid, cefotaxime, trimethoprim-sulfamethoxazole, nalidixic acid, and ciprofloxacin, except in the case of gentamicin where the *p*-value is greater than > 0.05 indicating that there is no significant difference in the *E. coli* strain resistance pattern between the two origins, these results are illustrated in table 3.

Antimicrobial agents	Dosage (µg)	<i>p</i> -value by Chi-square Test
Ampicillin	10	<i>p</i> > 0,002
Amoxicilline-clavulanic acid	30	<i>p</i> > 0,000
Cefotaxime	30	<i>p</i> > 0,000
Imipenem	10	*
Gentamycin	10	<i>p</i> < 0,086
Trimethoprim-sulmethoxazole	25	<i>p</i> > 0,000
Nalidixic acid	30	<i>p</i> > 0,000
Ciprofloxacin	5	<i>p</i> > 0,000

Table 3: Comparison of foodborne and clinical *E. coli* according to their resistance pattern to antibiotics by the Chi-square test.

*No statistics are calculated because the variable is constant, *p*-value< 0,05 = significant

Based on their origin, *E. coli* from animal (raw beef) were significantly more resistant to Rifampicin (100%), and trimethoprim-sulfamethoxazole (100%) and clinical *E. coli* were significantly resistant to ampicillin (79,7%), nalidixic acid (57,6%), and also trimethoprim-sulfamethoxazole (54,2%).

4. Discussion and Conclusion

The use of antibiotics has an impact on the distribution of antimicrobial resistance phenotypes (Aarestrup, 1999 ; Kulkarni et al., 2007). In this study, the rate of microbial contamination of raw beef meat with *Escherichia coli* was high (100 %), this rate is higher than that reported by Kassem et al. (2020) in Lebanon (76%), also Gabriela Gregova and Vladimir Kmet (2020) indicate that *E. coli* is frequently contaminated beef meat. Thus, during slaughter, there is a risk of transmission of *E. coli* to humans from the environment which is contaminated by the intestinal contents of cattle (Mead and Griffin, 1998; Philips, 1999).

Thi Thu Hao Van (2008) indicated that *E. coli* isolates from the beef show a lower degree of resistance than those from pork and chicken. Our data in table 1, shown there is no resistance for imipenem, results similar to the study conducted by Rebbah et al. (2017) in Algiers because, in Algeria, it's forbidden in the veterinary field. Also for cefotaxime 0% of resistance, surprising, despite in Algeria 3rd generation cephalosporins are prescribed as first-line treatment in livestock. In contrast, cephalosporin resistance is very common in *E. coli* strains isolated from raw beef in other studies (Teshager et al., 2000). We note total resistance for rifampicin and trimethoprim-sulfamethoxazole, the result of trimethoprim-sulfamethoxazole is may be due to the presence of dihydropterolate synthase (DHPS) and dihydrofolatereductase (DHFR)

genes in the integrons (Huovinen et al., 1995; White et al., 2001), and the result of resistance to rifampicin could be related to the presence of specific genes that code for this resistance, as confirmed by the following studies (Brinas et al., 2002; Guerra et al., 2003). The resistance of strains to beta-lactamines is observed for ampicillin with 93% and amoxicillin-clavulanic acid with 90%, others studies show that the resistance to beta-lactam is more than 50% from raw beef (Aitahli et al., 2010 ;Trongjit et al., 2016). The profiles of resistance of strains to quinolones and fluoroquinolones are 93% for nalidixic acid and 90% for ciprofloxacin. This resistance to quinolones and beta-lactamines is due probably to the overuse of these antibiotics as the first-line treatment. According to veterinarians in Algeria, this resistance is maybe due also to the non-respect of the waiting period before slaughter.

We observed a higher level of resistance to tetracycline (73%) than that shown in Ghana (18-44%) (Adzitey, 2013). The use of tetracycline as a treatment or food additive is prohibited in Algeria. However, it's still used illegally for treatment and for fattening (Cameron and McAllister, 2016; De Bruyne et al., 2014) of cattle, because it has a wide spectrum of action, and available in the pharmaceutical market at a low price. In our study, the level of resistance to gentamicin (25%) is lower than that described by Rahman et al. (2017) in Bangladesh (100%) because in Algeria it's prohibited in veterinary medicine. Also, other investigators reported that *E. coli* isolated from derived meats were more frequently resistant to tetracycline, ampicillin, and gentamicin (19% to 30%) compared with resistance to the other tested agents (1% to 8.4%) (Teshager et al., 2000 ; Sáenz et al., 2001 ; Schroeder et al., 2003 ; Johnson et al., 2005). The study of *E. coli* resistance to antibiotics from raw beef meat was developed for the first time in Algeria. Probably, there is a relationship between *E. coli* causing mastitis in cows and their appearance in meat as reported by Mariem Saidani et al. (2018) in Tunisia. Antibiotic resistance may be related to the overuse of antibiotics to treat infections in cattle, especially against *E. coli*. In Egypt, resistant *E. coli* has been found to be one of the main causative agents of mastitis in cattle after *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* (Abdel-Rady and Sayed, 2009). Interestingly, our data in table 2 show none ESBL producer was detected in the raw beef samples compared to the study in Algiers that reported the presence of 27.5% ESBL in raw ground

beef (Rebbah et al., 2018), even in the absence of antimicrobial selection pressure, the transmission of resistance genes of ESBL at other Enterobacteriaceae is possible (Smet et al., 2011) and is ensured by moving elements like plasmids (Schroeder et al., 2004).

The prevalence of *E. coli* isolated from urinary tract infections is 39,1%, almost similar to the rate obtained by Bentroki et al. (2012) in Guelma (60%). *E. coli* is the most isolated fecal germ that originates from the anus and can enter the urethral opening and contaminate the urinary system especially in women (Derakhshan et al., 2018), it frequently causes community urinary tract infection (UTH) in humans (Chervet et al., 2018 ;Mueller et al., 2019 ;Otter et al., 2019) as found by the study established in Morocco by El Hamzaoui et al. (2020) among 787 uropathogenic Enterobacteriaceae isolated from a community setting, 77.38% are *E. coli* isolates.

The data in table 1 indicate that all clinical isolates are sensitive to imipenem as by the study of Merzouki Yahiaoui et al. (2013) in Algiers because they are only used to treat serious infections caused by Enterobacterial ESBLs (Rattansumpawan et al., 2017 ; Ramasubramanian et al., 2018). However, some countries like Australia are beginning to find resistance to carbapenems in *E. coli* (Totsika et al., 2012). The phenotype of resistance of *E. coli* strains to other antibiotics has been observed with different rates, the higher rate is observed for beta-lactamines which is 79,7% for ampicillin as shown by data published in Spain (Aguier et al., 1992 ; Alos et al., 1997 ; Daza et al., 2001 ; Kahimeter, 2003), we found 52,5% of strains which were resistant to amoxicillin-clavulanic acid, this rate is higher than that reported by Bentroki et al. (2012) in Béjaia (43%), and 18,6% of *E. coli* were resistant to cefotaxime. This resistance could be explained by the use of beta-lactamines as a first-line antibiotic to treat bacterial infections in humans (Lei et al., 2010). Resistance to quinolones and fluoroquinolones is 57,6% for nalidixic acid, a lower percentage than that obtained by Yanat Betitra et al. (2014) in Béjaia (80%), and our data showed resistance of 20,3% for ciprofloxacin; in Algeria as in Europe, the rate of resistance to ciprofloxacin exceeds 20% in *E. coli* isolates from human clinical infections (Oteo et al., 2005). Resistance to quinolones is mainly chromosomal. However, in Algeria some plasmids have been shown to promote resistance to quinolones (Meradi et al., 2011), proba-

bly in adulthood, fluoroquinolones/quinolones are widely prescribed to treat urinary tract infections (Koyle et al., 2003). 54.2% of strains were resistant to trimethoprim-sulfamethoxazole, this rate is higher than shown by Merzouki Yahiaoui et al. (2015) in Algiers (36,7%), because it's the most common antibacterial drugs in UTI treatment, thus it induces co-selection for other drugs used, threatening human health (Schroeder et al., 2004). The lower resistance of strains is for gentamicin with 13.6%, a similar result was obtained from a study in Bejaia with a rate of 13,33%, probably the ESBL phenotypes were associated with resistance to aminoglycosides such as gentamicin (Kose et al., 2007), as shown in the data of table 2, the rate of beta-lactamase-producing *E. coli* from urine samples is 17%, this result is lower than cited by Zahra's Naziri et al. (2020) in Iran (34.6%). In several countries, the prevalence of ESBL-producing *E. coli* isolates from urinary tract infections was increased such as in France (3.3%), Italy (6.7%), Spain (23.6%), and Turkey (24%) (Lee et al., 2018). The extensive use and easy availability of antimicrobial drugs have been a contributing factor for the high selection pressure for resistant bacteria and the appearance of beta-lactamase-producing strains (Lamikanra and Ndep, 1988 ; Okeke et al., 1999 ; Okeke et al., 2000).

It was expected that resistance would be greater in the clinical isolates than in the food isolates, given the magnitude of treatments and multiple illnesses in humans, but it proved to be the opposite in our work. Research has shown that there is a relation between eating contaminated food and contracting a urinary tract infection, such as in Algeria, multi-drug-resistant *E. coli* isolated from chicken meat reveal the presence of virulence genes (*stx* and *ehxA*) which has the highest incidence of the hemolytic uremic syndrome and the hemorrhagic colitis in humans worldwide (Laarem et al., 2017). According to the Chi-square test, there was a highly significant difference in resistance rates to all antibiotics used, for clinical and foodborne isolates (p -value $<$ 0,05), except for gentamicin (p -value $>$ 0,05), this is probably due to the low use of this antibiotic in human and animal medicine, except in cases of severe infections caused by MDR organisms (Goodlet et al., 2018). Gentamicin resistance in *E. coli* has been associated with strains that have the ability to produce ESBL (Oteo et al., 2002 ; Kose et al., 2007). The detection of ESBL-producing *E. coli* strains in clinical samples (17%) and their total absence (0%) in the food samples (raw beef) is opposite to the

results of the study conducted in Iran by Ali Fourmohammad et al. (2020), differences in the results of the frequency of resistance in ESBL-producing *E. coli* can be explained by variation in the selection of the sample, geographical differences in the use of antimicrobial agents (Winokur et al., 2001).

Regular antimicrobial susceptibility surveillance is essential because the increase of antimicrobial resistance in humans and animals to most families of antibiotics, especially those used in the first-line, is alarming. Results show a high number of antibiotic-resistant *E. coli* derived from raw beef and urinary tract infection, and thus *E. coli* strains present in the food pose a major potential risk to consumers, and their persistence and dissemination in the food chain may be present an indirect risk to public health. For this reason, public health and the veterinary institution must more control the use of available antimicrobials in agriculture and medicine. The surveillance of antibiotic prescription in human and animal infections is necessary in order to conserve the efficacy of the antibiotics.

Acknowledgments

The authors would like to thank the Directorate General for Scientific Research and Technological Development (DGRSDT) of Algeria.

References

- Aarestrup FM (1999) Association between the consumption of antimicrobial agents in animal husbandry and the occurrence of resistant bacteria among food animals. *International Journal of Antimicrobial Agents* 12: 279-285
- Abdel-Rady A, and Sayed M (2009) Epidemiological studies on subclinical mastitis in dairy cows in Assiut Governorate. *Veterinary World* 3(10): 373-380
- Adzhey F (2015) Antibiotic resistance of *Escherichia coli* isolated from beef and its related samples in Techiman municipality of Ghana. *Asian Journal of Animal Sciences* 9(5): 233-240
- Aguar JM, Chacon J, Carbo'n R, Baquero F (1992) The emergence of highly fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli* in community-acquired urinary tract infections. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 29: 349-350
- Alos JL, Balas D, Gomez-Garcos JL (1997) Grupo de Estudio de Infección en Atención Primaria. Prevalencia de susceptibilidad a quinolonas y otros antibióticos en microorganismos aislados de bacteriurias extrahospitalarias de Madrid en 1995. *Revista Clínica Española* 197: 167-171
- Al Tahri AD, Gharbawy YA, Hassan SA (2010) Antibiotic resistance in *Escherichia coli* isolated from retail raw chicken meat in Taif, Saudi Arabia. *Foodborne Pathogens and Disease* 7(3): 281-285
- Barguigua A, El Otmani F, Talmi M, Bourjlat F, Haouzane F, Zerrouk K, et al. (2011) Characterization of extended-spectrum beta-

- lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from the community in Morocco. *Journal of Medical Microbiology* 60(9): 1344–1352
- Bargulguab A, El Otmani F, Taimi M, Zerouali K, and Timouni M (2013) Prevalence and types of extended spectrum β -lactamases among urinary *Escherichia coli* isolates in Moroccan community. *Microbial Pathogenesis* 61: 16-22
- Beener KW, Prabhakaran P, Lowrie AS (2014) Epidemiology of Infections due to extended-spectrum beta-lactamase producing bacteria in a pediatric intensive care unit. *The Journal of Pediatric Pharmacology and Therapeutics* 19(2): 83–90
- Ben Said I, Jouli A, Klibi N, Dairi R, Alonso CA, Boudabous A, et al. (2015a) Detection of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Enterobacteriaceae* in vegetables, soil and water from farm environment in Tunisia. *International Journal of Food Microbiology* 200: 86–92
- Bentroid AA, Gouri A, Yakhlef A, Touareg A, Guermoul A, Bensouda TO (2012) Antibiotic resistance of strains isolated from community acquired urinary tract infections between 2007 and 2011 in Guelma (Algeria). *Annales de Biologie Clinique* 70(5): 666-668
- Betta Y, Teresa V, Miguel V, Abdelaziz T (2014) Determinants of quinolone resistance in *Escherichia coli* causing community-acquired urinary tract infection in Bejala, Algeria. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 7(5): 462-467
- Bhoomika SS, Patyal A, Gade NE (2016) Occurrence and characteristics of extended-spectrum β -lactamases producing *Escherichia coli* in foods of animal origin and human clinical samples in Chhattisgarh, India. *Veterinary World* 9(9): 995-1000
- Brioso L, Zarazaga M, Saenz Y, Ruiz-Jarros F, Torres C (2002) Beta-lactamases in ampicillin-resistant *Escherichia coli* isolates from foods, humans, and healthy animals. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 46: 3156–3163
- Bryce A, Hay AD, Lane IF, Thornton HV, Woolton M, Costelloe C (2016) Global prevalence of antibiotic resistance in paediatric urinary tract infections caused by *Escherichia coli* and association with routine use of antibiotics in primary care: systematic review and meta-analysis. *British Medical Journal* 352: g939
- Cameron A, and McAllister TA (2016) Antimicrobial usage and resistance in beef production. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 7(1): 68
- Carroll A (2008) Animal reservoirs for extended spectrum β -lactamase producers. *Clinical Microbiology Infection*14: 117–123
- Cheruet D, Lortholary O, Zahar JR, Fougeray DU, Flimix A, Parrotte BH (2018) Antibiotic resistance in community-acquired urinary tract infections in Paris in 2015. *Médecine et Maladies Infectieuses* 48(3): 188-193
- Daza B, Gutierrez J, Piedrola G (2001) Antibiotic susceptibility of bacterial strains isolated from patients with community-acquired urinary tract infections. *International Journal of Antimicrobial Agents* 18: 211–215
- D’Costa VM, Kling CE, Kalan L, Morar M, Sung WW, Schwartz C, et al. (2011) Antibiotic resistance is ancient. *Nature* 477: 457–461
- De Bruyne N, Atkinson J, Pokludová I, and Borriello SP (2014) Antibiotics used most commonly to treat animals in Europe. *Veterinary Record* 175(13): 325
- Derakhshan S, Pourzare M, Roshni D (2018) Distribution of virulence factors according to antibiotic susceptibility among *Escherichia coli* isolated from urinary tract infection. *Indian Journal of Nephrology*28 (3): 191–197
- El Hamzaoui N, Bargulguab A, Nemec K, Mohamed S, Timouni M, Louzid L (2020) Prevalence of extended-spectrum beta-lactamases in uropathogenic *Enterobacteriaceae* isolated from a community setting, Meknes, Morocco. *Gene Reports* 19: 100652
- Faddin M, Jean F (1999) *Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria*. In Philadelphia (third Ed). Lippincott Williams and Wilkins, USA
- Giedraitis A, Rutkauskienė A, Naglinskiė B, Pavlovskis A (2011) Antibiotic resistance mechanisms of clinically important bacteria. *Medicina* 47: 137–146
- Goodlet KL, Benhalima FZ, Nalor MD (2018) A Systematic Review of Single-Dose Aminoglycoside Therapy for Urinary Tract Infection: Is It Time To Reurrect an Old Strategy?. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 62(1): 02165-18
- Gregova G, Kmet V (2020) Antibiotic resistance and virulence of *Escherichia coli* strains isolated from animal rendering plant. *Scientific reports* 10:17108
- Guerra B, Junker E, Schroeter A, Malorny B, Lehmann S, Helmuth B (2003) Phenotypic and genotypic characterization of antimicrobial resistance in German *Escherichia coli* isolates from cattle, swine and poultry. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 52: 489-492
- Hao Van TTa , Chin Jb , Chapman Tb, Tran LTr , Peter J. Coloea (2008) Safety of raw meat and shellfish in Vietnam: An analysis of *Escherichia coli* isolations for antibiotic resistance and virulence genes. *International Journal of Food Microbiology* 124: 217–220
- Hawthorn A, Kaldon T, Larsen E, March N, Marshall A, Ray-Barnuel G, Sinclair S, Slaughter E, St John A, Tallafiero K, et al. (2018) Peripheral Intravenous Catheter Protection. *British Journal of Nursing* 30: 38
- Huovinen P, Sundström L, Swedberg G, Sköld O (1995) Trimethoprim and sulfonamide resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 39: 379-389
- Jacoby GA (2009) AmpC beta-lactamases. *Clinical Microbiology Reviews* 22(1):163–182
- Johnson JR, Kuskowski MA, Smith K, O’Byrne TT, Tattai S (2005) Antimicrobial-resistant and extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* in retail foods. *Journal of Infectious Diseases* 191: 1040–1049
- Johnson JR, Porter SB, Johnston B, Thrus M, O’Clock S, Crupain M, Rangan U (2017) Extraintestinal pathogenic and antimicrobial resistant *Escherichia coli*, including sequence type 131 (ST131), from retail chicken breasts in the United States in 2013. *Applied Environmental Microbiology*83: 02956-16
- Johnson JR, Sannes MB, Croy C, Johnston B, Clabots C, Kuskowski MA, et al. (2007) Antimicrobial drug-resistant *Escherichia coli* from humans and poultry products, Minnesota and Wisconsin, 2002–2004. *Emerging Infectious Diseases* 13: 838-846
- Kahlmeter G (2003) Prevalence and antimicrobial susceptibility of pathogens in uncomplicated cystitis in Europe. The ECO-SENS study. *International Journal of Antimicrobial Agents* 22: 49-52
- Kahlmeter G (2003) An international survey of the antimicrobial susceptibility of pathogens from uncomplicated urinary tract infections: the ECO-SENS Project. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 51: 69–76
- Kassem H, Nasser NA and Salibi J (2020) Prevalence and Loads of fecal pollution indicators and the antibiotic resistance phenotypes of *Escherichia coli* in raw minced beef in Lebanon. *Food* 8(11): 1811–1821

1543

Kelly L, Smith DL, Suary EI, Jonson JA, Harris AD, Woodbridge M, and Morris JG (2004) Animal growth promoters: to ban or not to ban? A risk assessment approach. *International Journal of Antimicrobial Agents* 24: 205-212

Kiratisin P, Apkanthanana A, La Rupa C, Saffon P (2008) Molecular characterization and epidemiology of extended-spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates causing health care-associated infection in Thailand, where the CTX-M family is endemic. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 52(8): 2818-2824

Kjerulf A, Hansen DS, Sandvang D, Hansen F, Frimodt-Møller N (2008) The prevalence of ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* strains in the Copenhagen area of Denmark. *Acta Pathologica, Microbiologica and Immunologica Scandinavica* 116(2): 118-124

Kolár M, Urbánek K, Lítal T (2001) Antibiotic selective pressure and development of bacterial resistance. *International Journal of Antimicrobial Agents* 17: 357-363

Köse Y, Abaylanik MF, Saliş BA (2007) Antibiotic resistance of *Escherichia coli* urinary tract isolates in Rize province, Turkey. *Journal of Infection in Developing Countries* 1: 147-150

Koyle MA, Barqawi A, Wild J, Passamaniak M, Furness PD (2001) Pediatric urinary tract infections: the role of fluoroquinolones. *Pediatric Infectious Disease Journal* 22: 1133-1137

Kulkarni RK, Das GP, Dharmi S, Jamil K (2007) Evaluation of antibiotic sensitivity and resistance of *Klebsiella* species from humans respiratory and urinary tract infections. *Research Journal of Biotechnology* 2(4): 29-33

Laarem M, Bargulguis A, Name K, Akila A, Zerouali K, El Mdaghri N, Timinouei M (2017) Occurrence of plasmid-mediated quinolone resistance and virulence genes in avian *Escherichia coli* isolates from Algeria. *Journal of Infection in Developing Countries* 11(2): 143-151

Lamikanra A, Nidep RB (1989) Trimethoprim resistance in urinary tract pathogens in two Nigerian hospitals. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 23: 151-154

Lee DS, Lee SJ, Choe HS (2018) Community-acquired urinary tract infection by *Escherichia coli* in the era of antibiotic resistance. *BioMed Research International* 2018: 1-34

Lei T, Tian W, He L, Huang X-H, Sun Y-K, Deng Y-T, et al. (2010) Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolates from food animals, animal food products and companion animals in China. *Veterinary Microbiology* 146: 85-89

Leversteijn-van Hall MA, Diericks CM, Cohen Stuart J, Voets GM, van den Munckhof MP, van Doorn-Zandbergen A, et al. (2011) Dutch patients, retail chicken meat and poultry share the same ESBL genes, plasmids and strains. *Clinical Microbiology Infection* 17: 873-880

Magioranos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmell Y, Falagas ME, Gliko CG, et al. (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: 268-281

Magliano E, Gratioli V, Defforio L, Leodi AJ, Mattina B, Romano F, et al. (2012) Gender and age-dependent etiology of community-acquired urinary tract infections. *The Scientific World Journal* 2012: 1-6
Mead PS, Griffin PM (1998) *Escherichia coli* O157:H7.

Lancet 352: 1207-1212

Meradji I, Djahoudi A, Abdi A, Bouchakour M, Pamiel Gros Claude J-D, Timinouei M (2011) Oqr and aac (60)-IIb- or types quinolone resistance among *Enterobacteriaceae* isolated in Annaba, Algeria. *Pathologie Biologie* 59: 73-78

Marshall BM, and Levy SB (2011) Food animals and antimicrobials: Impacts on human health. *Clinical Microbiology Reviews* 24: 718-733

Mueller L, Olsen C, Poinel L, Descombes MC, Nordmann P (2019) Prevalence of fosfomycin resistance among ESBL-producing *Escherichia coli* isolates in the community, Switzerland. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 38(5): 945-949

Nazki Z, Derakhshandeh A, Borchani AA, Foor Malekian M, Azimzadeh N (2020) Treatment Failure in Urinary Tract Infections: A Warning Witness for Virulent Multi-Drug Resistant ESBL-Producing *Escherichia coli*. *Infection and Drug Resistance* 13: 1839-1850

Okeke IN, Fayinka ST, Lamikanra A (2000) Antibiotic Resistance in *Escherichia coli* from Nigerian Students, 1986-1998. *Emerging Infectious Diseases* 6: 393-396

Okeke IN, Lamikanra A, Edelstein R (1999) Socio Economic and behavioural factors leading to acquired bacterial resistance to antibiotics in developing countries. *Emerging Infectious Diseases* 5: 1-12

Oteo J, Campos J, Baquero F (2002) Antibiotic resistance in 1862 invasive isolates of *Escherichia coli* in 27 Spanish hospitals participating in the European Antimicrobial Resistance Surveillance System (2002). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 50: 945-952

Oteo JJ, Lizaso E, de Abajo FI, Baquero F, Campos J, and Spanish members of EARS (2005) Antimicrobial-resistant invasive *Escherichia coli*, Spain. *Emerging Infectious Diseases* 11(4): 546-553

Oster I, Natale A, Batra R, August OT, Dyakova E, Goldenberg S, Edgeworth J (2019) Individual and community-level risk factors for ESBL *Enterobacteriaceae* colonization identified by universal admission screening in London. *Clinical Microbiology and Infection* 25(10): 1259-1265

Perry J, Waglchner N, Wright G (2016) The prehistory of antibiotic resistance. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*: a025197

Phillips CA (1999) The epidemiology, detection and control of *Escherichia coli* O157. *Journal of Science of Food and Agriculture* 79: 1367-1381

Pourmohammad A, Javad Nazki M, Azimi T (2019) Prevalence of antibiotic resistance in *Escherichia coli* strains simultaneously isolated from humans, animals, food, and the environment: a systematic review and meta-analysis. *Infection and Drug Resistance* 12: 1183-1197

Rahman MA, Rahman ACMA, Islam MA, Alam MM (2017) Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli* isolated from milk, beef and chicken meat in Bangladesh. *Journal of Veterinary Medicine* 15(2): 141-146

Ramasubramanian V, Muralidharan P, Nambi S, et al. (2018) Efficacy and cost comparison of cefepime as outpatient parenteral antimicrobial therapy in acute pyelonephritis due to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae*. *Indian Journal of Nephrology* 28: 351-357

Rattanaumpawan P, Werasak P, Jitmuang A, et al. (2017) Efficacy and safety of deescalation therapy to cefepime for treatment of infections caused by extended spectrum-β-lactamase-producing *Enterobacteriaceae*: an open-label randomized controlled trial.

BioMed Central of Infectious Diseases 17(1): 183

Rebbah N, Mezal Y, Châtra F, Haenni M, Madec JY, and Bakour B (2018) Diversity of CTX-M Extended-Spectrum beta-Lactamases in *Escherichia coli* Isolates from retail raw ground beef: First Report of CTX-M-34 and CTX-M-32 in Algeria. *Microbial Drug Resistance* 00: 00

Sienzy Y, Briffas L, Dominguez E, Ruiz I, Zarazaga M, Vila I, Torres C (2004) Mechanisms of resistance in multiple-antibiotic-resistant *Escherichia coli* strains of human, animal, and food origins. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 48(10): 3996-4001

Sienzy Y, Zarazaga M, Briffas L, Lantero M, Ruiz-Larrea F, Torres C (2005) Antibiotic resistance in *Escherichia coli* isolates obtained from animals, foods, and humans in Spain. *International Journal of Antimicrobial Agents* 18: 353-358

Seldani M, Messadi I, Soudani A, Dailoul-Jedidi M, Faten Ben Chehida C, Mamlouk A, Mahjoub W, Madec JY and Haenni M (2018) Epidemiology, Antimicrobial Resistance, and Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae* in Clinical Bovine Mastitis in Tunisia. *Microbial drug resistance* 24(8):1242-1248.

Schroeder A, Hoog B, and Helmuth B (2004) Resistance of *Salmonella* isolates in Germany. *Journal of Veterinary Medicine* 51: 389-392

Schroeder CM, White DG, Gee B, Zhang Y, McDermott PF, Ayerib S, Zhao S, Meng J (2003) Isolation of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* from retail meats purchased in greater Washington, DC, USA. *International Journal of Food Microbiology* 85: 197-202

Schroeder CM, White DG, and Meng J (2004) Retail meat and poultry as a reservoir of antimicrobial-resistant *Escherichia coli*. *Food Microbiology* 21: 249-255

Smet A, Marbel A, Pencoens D, Dewulf J, Hendrickx M, Carry B, et al. (2008) Diversity of extended-spectrum beta-lactamases and class C beta-lactamases among cloacal *Escherichia coli* isolates in Belgian broiler farms. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 52 (4):1238-1243

Smet A, Raeschaert G, Martel A, Pencoens D, Dewulf J, Butaye P, et al. (2011) In situ ESBL conjugation from avian to human *Escherichia coli* during cefotaxime administration. *Journal of Applied Microbiology* 110: 541-549

Smith DL, Harris AD, Johnson JA, Silbergeld EK, and Morris JG (2002) Animal antibiotic use has an early but important impact on the emergence of antibiotic resistance in human commensal bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the*

United States of America 99: 6434-6439

Teshager T, et al. (2000) Surveillance of antimicrobial resistance in *Escherichia coli* strains isolated from pigs at Spanish slaughterhouses. *International Journal of Antimicrobial Agents* 15: 137-142

Totaka M, Gomes Moriel D, Idris A, Benjamin A, Rogem, Daniil I, Wurpel, Phan M-D, David L, Paterson, and Mark A (2012) Schembri Uropathogenic *Escherichia coli* Mediated Urinary Tract Infection. *Current Drug Targets* 13: 1386-1389

Trong B S, Angkittarakul S, Chuanchuen B (2016) Occurrence and molecular characteristics of antimicrobial resistance of *Escherichia coli* from broilers, pigs and meat products in Thailand and Cambodia provinces. *Microbiology and Immunology* 60(9): 575-585

Uranian G, Moghadas AJ (2010) Frequency of extended-spectrum beta-lactamase positive and multidrug resistance pattern in Gram-negative urinary isolates, Semnan, Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology* 3(2): 107-113

Verraes C, Van Boostael S, Van Meervenne E, Van Coillie E, Butaye P, Catry B, de Schaefer MA, Van Huffel X, Imbrechts H, Dierick K, et al. (2013) Antimicrobial resistance in the food chain: a review. *International Journal Environmental Research Public Health* 10(7): 2643-2669

Vincent C, Boerlin F, Delgneault D, Dozok CM, Dufl I, Galanakis C, et al. (2020) Food reservoir for *Escherichia coli* causing urinary tract infections. *Emerging Infectious Diseases* 16: 88-95

White PA, McIver CJ, Rawlinson WD (2001) Integrons and gene cassettes in the *Enterobacteriaceae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 45: 3658-3661

Winkler PL, Vonstein DL, Hoffman LJ, Uhlenhopp EE, Dour GV (2001) Evidence for transfer of CMY-2 AmpC beta-lactamase plasmids between *Escherichia coli* and *Salmonella* isolates from food animals and humans. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 45: 2716-2722

Yahliouli M, Robin F, Baker E, Hamidi M, Bonnet R, and Mezal Y (2015) Antibiotic resistance, virulence, and genetic background of community-acquired Uropathogenic *Escherichia coli* from Algeria. *Microbial Drug Resistance* Oct 2015: 516-526

Yang YS, Ku CH, Lin JC, Shang ST, Chiu CH, Yeh KM, et al. (2002) Impact of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* on the outcome of community-onset bacteremic urinary tract infections. *Journal of Microbiology Immunology Infection* 43(3): 194-199

ABOUT THE JOURNAL: SAJEB (eISSN: 2230-9799) is a peer-reviewed, open-access and online journal aimed at advancement and rapid dissemination of scientific knowledge generated by the highly motivated researchers in the field of biological sciences through publication of high-quality original research and critical up-to-date review articles covering all the aspects of biological sciences. Every year, it publishes six issues. SAJEB has received Global Impact Factor (GIF)-2015, 0.765; Index Copernicus Value-2015, 93.0 and NAAS (ICAR)-India 2017 rating, 4.79. SAJEB has been included in the ISI master list of journals of Thomson Reuters under Zoological Record. The SAJEB is also covered by CABI (UK), AGRICOLA, NLM catalogue, CAS (ACS, USA), DOAJ, Journal TOCs (ICBL, Edinburgh), Directory of research Journals Indexing (DRJI) and Indian Science Abstracts (ISA, NISCAIR). SAJEB is a member of CrossRef.

Article 2

Phenotypic characterization of antimicrobial drug resistance of *Staphylococcus aureus* and *S. epidermidis* strains isolated from various community infections in Oum El Bouaghi city, Algeria

AMINA RAHMANI*, LAAREM MERADI, KARIMA MALAWI, FATMA KHANFOUF

Department of Natural and Life Sciences, Laboratory of Biotechnology of Natural Substances and Applications Larbi-Ben-M'hidi University of Oum El Bouaghi 040000, Algeria, Tel.: +213-342898529, *email: aminarahmani311@gmail.com

Manuscript received: 16 February 2021. Revision accepted: 19 April 2021.

Abstract. Rahmani A, Meradi L, Malawi K, Khanfouf F. 2021. Phenotypic characterization of antimicrobial drug resistance of *Staphylococcus aureus* and *S. epidermidis* strains isolated from various community infections in Oum El Bouaghi city, Algeria. *Biodiversitas* 22: 2665-2671. In Algeria most community infections caused by *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus* present resistance to several antibiotics and induce therapeutic failures. The aim of this study is the characterization and the comparison of antimicrobial resistance of *Staphylococcus* strains isolated from community infection in Oum El Bouaghi city, Algeria. Species identification was realized by conventional biochemical tests and the determination of antibiotics susceptibility pattern was realized by using the agar disk diffusion method, according to the recommendations of the French Society for Microbiology (FSM, 2019). A total of 102 *Staphylococci* strains were obtained from clinical samples, with a frequency of isolation of 57,8% for *S. epidermidis* and 42,2% for *S. aureus*, both strains present a resistance for most used antibiotics, the higher resistance was found for oxacillin in both strains with 25,6% for *S. aureus* and 42,4% for *S. epidermidis*. Multidrug-Resistance (MDR) phenotype was detected in 37,3% of *S. epidermidis* and 14% in *S. aureus* strains. In Algeria, new control policies should be adopted to prevent the further spread of antimicrobial-resistant strains, especially in the community.

Keywords: Antimicrobial resistance, community-infection, MDR, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*

INTRODUCTION

Overuse of antibiotics in human medicine is the contributor of the apparition of antimicrobial resistance, it's now recognized as a global health problem and has enormous economic and health impacts (Li and Webster 2018) and has led to the emergence of resistant bacterial strains (Safirpoor et al. 2017). *Staphylococcus* isolates are opportunistic facultative pathogens widely distributed worldwide, ubiquitous, found as normal flora of the skin, nasopharynx, anterior nares, and mucous membranes of humans (Ceballos et al. 2019) and also in several environments. Based on their coagulase plasma, staphylococci is divided into two main groups, coagulase-positive *Staphylococci* (CoPS) include *Staphylococcus aureus* and the coagulase-negative *Staphylococci* (CoNS) (more than 30 species) such as: *Staphylococcus haemolyticus* and *S. epidermidis* (Becker et al. 2014).

The increasing prevalence of antimicrobial-resistant *S. aureus* has received much attention, in recent decades (Castro et al. 2016), it constitutes a serious public health problem because of its high colonizing and infectious capacity to cause a wide variety of suppurative infections in humans (Bassetti et al. 2017). Diseases caused by *S. aureus* depend on the host's immunity, age, normal flora and drug consumption (Kandi 2018). Nearly 30% of the human population is asymptotically colonized with *S. aureus* (Saleem et al. 2016). The CoNS were considered harmless skin commensal bacteria prior to the 1970s

(Contreras et al. 2003) but in recent years, CoNS have been recognized as important opportunistic pathogens including: *Staphylococcus epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. haemolyticus*, and *S. lugdunensis* (Becker et al. 2014). While traditionally, CoNS considered as less pathogen than CoPS (Fitarova et al. 2019). The dissemination of multidrug resistance in *Staphylococcus* spp. (Virdis et al. 2010) and Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) is a serious health concern (Castro et al. 2016). It has acquired resistance to several families of antibiotics, often detected in hospitals and communities (John et al. 2019). The evaluation of the antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus* spp. isolates determine which antibiotics should be administrated for monitoring the spread of resistant strains in community (Morency-Potvin et al. 2017).

In Algeria antimicrobial resistance, especially in *S. aureus*, represents one of the most important human health-threatening, in addition, investigations on the resistant patterns of *S. epidermidis* are very limited, for these reasons the aim of this study is to determine phenotypic characterization of antimicrobial drug resistance of *S. aureus* and *S. epidermidis* strains isolated from various community infections in Oum El Bouaghi city, Algeria.

MATERIAL AND METHODS

Sources of clinical samples

The investigation of *Staphylococcus* strains included 980 clinical samples, during January-October 2020 in Oum

El Bouaghi (Algeria). A total of 102 strains were isolated from many pathological samples (blood, pus, vaginal swab, sperm culture, skin sample, urine, breast sampling, and vulvar puncture) in the community medical analysis laboratory at Oum El Bouaghi (Algeria). All samples were transported to the laboratory in iceboxes at 4°C and were analyzed within 1 to 2 hours after sampling.

Microbiological isolation and identifications

To isolate strains, clinical samples were cultured 24H on Mannitol salt-agar (Chapman Agar) at 37°C. Isolates were grown and confirmed after culture as *Staphylococcus aureus* and *S. epidermidis* by microscopic characters such as bacterial morphology, mobility, Gram-stain and biochemical tests: catalase, oxidase, coagulase, hemolysis, DNase, mannitol fermentation tests (Quinn et al. 1994), and API STAPH-IDENT System (Wesley et al. 1982).

Antibiotic susceptibility tests

A total of 102 isolates were tested, after 24H at 37°C of incubation, and antibiotic susceptibility testing was performed using the standard disk diffusion method according to the recommendations of the Antibiogram Committee of the French Microbiology Society (<http://www.sfm-microbiologie.org/>). From each isolate, bacterial inoculums (~0,5 Mac Farland) were swabbed on Muller-Hinton agar.

The 12 drugs tested and their concentrations are cefoxitin (30µg), oxacillin (1µg), imipenem (10µg), vancomycin (30µg), ciprofloxacin (5µg), gentamycin (10µg), cotrimoxazole (25µg), erythromycin (15µg), linezolid (2µg), spiramycin (15µg), pristinamycin (15µg) and fosfomycin (200µg). The plates were incubated at 37°C for 24H. The zone of growth inhibition around antibiotic discs was evaluated according to FSM (2019). Isolates were designated as resistant, sensitive, or inter-mediate after the measured zone of inhibition around antibiotic discs according to FSM (2019). The isolates were distinguished as MRSA (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) and MSSA (Methicillin sensitive *Staphylococcus aureus*) respectively by Oxacillin Disk Diffusion Method, and strains exhibiting resistance to three or more classes of antibiotics were defined as multidrug-resistant (MDR).

Statistical analysis

The data analysis was done using SPSS version 20, and Values were expressed as the percentages of the variables. In order to evaluate the difference in antibiotic resistance of the clinical strains obtained (*S. aureus* and *S. epidermidis*) the Pearson's Chi-square (χ^2) test was performed, with 95% as confidence intervals, so a *P*-value less than 5% were considered statistically significant.

RESULTS AND DISCUSSION

Staphylococcus aureus is a gram-positive bacterium that has a greater impact on human health by causing various diseases (Mahendra et al. 2020). In this study, a total of 102 *Staphylococcus* isolates obtained from 980 samples were identified giving an overall prevalence of

10.4% (102/980) which is almost similar to the results of a study by Gahamanyi et al. (2017) in Rwanda with a prevalence of 10%, but lower than that observed in Nigeria (24.5%) (Chijioke et al. 2016). Among the 102 *Staphylococcus* infections, the prevalence of *S. aureus* was 42.2%, which is higher than the rate obtained in Algerians 38% (Antri et al. 2011) and in Eastern Algeria 19.6% (Alicou et al. 2014). *S. epidermidis* is the most commonly reported CoNS species implicated in infections (Asante et al. 2020; Zatout et al. 2020). In worldwide, the prevalence of *S. epidermidis* in human infections varied from 6% to 68% (Asante et al. 2020), in this study this prevalence presents a rate of 57.8%, which is higher than that found in another study conducted in Algeria 43.9% (Zatout et al. 2020), in Iran 46% (Chabi and Momtaz 2019), and in Nigeria 1.1% (Shittu et al. 2012).

Data of Table 1 showed that *S. epidermidis* is more frequently isolated from infections than *S. aureus*, as demonstrated by other studies (Oliveira et al. 2017), this high occurrence of *S. epidermidis* is may be due to the presence of various virulence factors which can be considered as the main reasons to cause infections (Otto 2009), and probably persistent carriage of this germ could act as a reservoir for infection (Archana et al. 2014), contrary to other results obtained in several countries showing that *S. aureus* is more frequent than *S. epidermidis* such as in Nigeria (Shittu et al. 2012) and in China (Yang et al. 2020).

Staphylococcus aureus is one of the most common causes of infections and it's also a normal flora of skin that can enter the body through abrasion, cracks, burn, surgical incisions, cuts and causes pyogenic infections (Sangita et al. 2019). This study has revealed that *S. aureus* is the most predominant micro-organism from pus samples, as earlier studies have indicated (Onemu and Ophori 2013), with the occurrence of 72.7% which is almost similar to the finding in the study conducted in Algeria 64.28 % (Berryagoub et al. 2020), but its higher than results obtained in Egypt 38% (Abdeen et al. 2021) and in Maroc 19% (Benoudia and Elhamzoui 2009). For *S. epidermidis* the highest occurrence was identified from urine with the rate of 91.4%, probably this is primarily related to the contamination of urine by the commensal flora (Frédéric et al. 2008), and according to Longauerova (2006) CoNS have emerged as a principal cause of UTIs, especially *S. epidermidis* (Nanoukon et al. 2017).

Table 1. *Staphylococcus aureus* and *S. epidermidis* prevalence according to samples types

Samples	Prevalence of <i>Staphylococcus</i> strains according origin n (%)	<i>S. aureus</i> prevalence n (%)	<i>S. epidermidis</i> prevalence n (%)
Urine	35 (34.3%)	3 (8.6%)	32 (91.4%)
Skin	1 (1%)	0 (0%)	1 (100%)
Vaginal	3 (3%)	0 (0%)	3 (100%)
Pus	44 (43.1%)	32 (72.7%)	12 (27.3%)
Mammary	8 (7.8%)	2 (25%)	6 (75%)
Sperm culture	9 (8.8%)	5 (55.6%)	4 (44.4%)
Blood	1 (1%)	1 (100%)	0 (0%)
Vulvar	1 (1%)	0 (0%)	1 (100%)
Total	102	43 (42.2%)	59 (57.8%)

Data in Table 2 show the variation of the prevalence of *S. epidermidis* and *S. aureus* according to the gender of patients. According to the Chi-square test, there is a significant difference in the distribution of *S. epidermidis* and *S. aureus* between males and females (p -value <0.05). The rate of isolation in *S. epidermidis* is higher in females (66.1%) than in males (33.9%), contrary to *S. aureus* which is more frequent in males (55.8%) than in females (44.2%), according to a study by Gahamanyi et al. (2017) in Rwanda males (63.3%) had more *S. aureus* than females (36.7%). The Chi-square test shows that there is no difference between the two strains at each age group (p -value >0.05) (Table 3). The highest isolation rate of *S. aureus* and *S. epidermidis* are in the age category between 30-59 years old. The result for *S. aureus* is also in agreement with another Algerian study (Benyagoub et al. 2020), probably the factors associated with colonization by *S. aureus* were age group (Archana et al. 2014).

Overuse and misuse of antibiotics in clinical setups have led to the emergence of resistance in bacteria (Ji et al. 2018) in the community. Much less is known about the epidemiology of CoNs in health care facilities compared to MRSA (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) (Becker et al. 2014). Methicillin resistance among *Staphylococci* is may be due to the expression of the *mecA* gene (Zong et al. 2011). This study provides important data on methicillin resistance, we found 68% the rate of resistance of methicillin (oxacillin), including 42.4% in *S. epidermidis* and 25.6% in *S. aureus*, the rate of MRSA is higher than that shown by Alicou et al. (2014) in Algeria (7.6%), but its lower than the rate observed in another study in Algeria 40.5% (Anzi et al. 2010), and as reported by the World Health Organization (WHO) that in some African regions, 80% of *S. aureus* and *S. spp* infections are methicillin-resistant (Kausch et al. 2014). In developed countries, the prevalence of MRSA has reached a disturbing level within the past few years (Altaf et al. 2019).

Table 3. Distribution of *Staphylococcus aureus* and *S. epidermidis* according to age groups

Organisms	≤ 14 years	15-29 years	30-59 years	≥ 60 years
<i>Staphylococcus aureus</i>	2 (33.3%)	7 (38.9%)	19 (45.2%)	15 (41.7%)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	4 (66.7%)	11 (61.1%)	23 (54.8%)	21 (58.3%)
p -value	0.632	0.757	0.598	0.941

Table 4. Comparison of antibiotic susceptibility pattern of *Staphylococcus aureus* and *S. epidermidis* using the Chi-square test

Antibiotics	<i>Staphylococcus aureus</i> (n=43)		<i>Staphylococcus epidermidis</i> (n=59)	p -value
	MSSA (n=32)	MRSA (n=11)		
Cefoxitin	32 (74.4%)	11 (25.6%)	25 (42.4%)	0.080
Oxacillin	32 (74.4%)	11 (25.6%)	25 (42.4%)	0.080
Imipenem	42 (97.7%)	1 (2.3%)	0 (0%)	0.000
Vancomycin	43 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	*
Ciprofloxacin	38 (88.4%)	5 (11.6%)	11 (18.6%)	0.336
Gentamicin	41 (95.3%)	2 (4.7%)	13 (22.0%)	0.014
Cotrimoxazole	38 (88.4%)	5 (11.6%)	21 (35.6%)	0.006
Erythromycin	34 (79.1%)	9 (20.9%)	19 (32.2%)	0.208
Lincomycin	38 (88.4%)	5 (11.6%)	16 (27.1%)	0.056
Spiramycin	40 (93.0%)	3 (7%)	11 (18.6%)	0.091
Pristinamycin	40 (93.0%)	3 (7%)	6 (10.2%)	0.575
Fosfomicin	39 (90.7%)	4 (9.3%)	9 (15.3%)	0.373

Note: MSSA: Methicillin Sensitive *Staphylococcus aureus*, MRSA: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, p -value < 0.05 = significant

Based on the antimicrobial susceptibility patterns thirty two *Staphylococcus* strains were MSSA (Table 4), most of MSSA isolates were susceptible to nearly all antimicrobial agents used in this study, in contrast, for the MRSA strains, the most prevalent resistances were for cefoxitin and oxacillin (25.6%) respectively, others studies showed that the resistance to β -lactam is more than 50% in *S. aureus* strains (John et al. 2019). Among the MRSA obtained, one strain (9.1%) presents resistance to lincosamides associated with macrolides susceptibility (ERY^r LIN^r phenotype) which is more frequent among MRSA isolates of animal origin but is very unusual among MRSA of human origin (Schwarz et al. 2018). We found only 2.3% of MRSA are resistant to imipenem and 11.6% were resistant to fluoroquinolones and lincosamides this resistance is probably due to the use of these antibiotics to treat several community infections caused by *S. aureus* (Massuari et al. 1988), thus this resistance may induce clinical failure as has been reported by Siberry et al. (2003). But these resistance rates are lower than the results obtained in the study conducted by Ceballos et al. (2019) in Spanish hospitals which indicates that resistance to fluoroquinolones is 67% and 50% for lincosamides. The antibiotic resistance pattern of MRSA showed lower resistance rates to some family of antibiotics including aminoglycosides (4.7%), antifolates (11.6%), and macrolide (20.9%) compared to results of a previous study in Algeria (Acheh et al. 2018).

Table 2. Distribution of *Staphylococcus aureus* and *S. epidermidis* according to gender

Sex	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. aureus</i>	p -value
Male	20 (33.9%)	24 (55.8%)	0.027
Female	39 (66.1%)	19 (44.2%)	0.027

The finding of multiple antimicrobial resistance in CoNs is alarming (Nascimento et al. 2015). Data in Table 4 shows that in *S. epidermidis*, the highest resistance is being to both oxacillin and cefositin (42.4%), this work demonstrated that resistance to aminoglycosides is to 22%, macrolides (32.2%), and antifolates (35.6%). Our results are higher than those found by Achek et al. (2018). According to literature, aminoglycoside resistance is also frequent in Staphylococcal species (Nemeghaire et al. 2014), these species can harbored *aacA-D* gene-encoded resistance to aminoglycosides, which is more prevalent and diffused in staphylococci of human origin (Jobler et al. 2011), and probably the strains may express enzymes mediating gentamicin resistance, such as gentamicin phosphotransferase and aminoglycoside 60-N-acetyltransferase (Eladli et al. 2019). *S. epidermidis* strains have acquired resistance to other antibiotics such as rifamycin, fluoroquinolones, gentamicin, tetracycline, chloramphenicol, erythromycin, clindamycin, sulfonamides, and streptogramins because the overuse of antibiotics has led to the emergence of infectious bacteria resistant to a wide antimicrobial agent (Oto 2009; Rogers et al. 2009).

None of the strains has presented resistance to vancomycin, which is widely accepted as the most effective drug to treat staphylococcal infections (Holmes and Jorgensen 2008). Gentamicin, imipenem, and cotrimoxazole have preserved their activities; this is probably due to the low use of these antibiotics only in cases of severe infections caused by MDR organisms in human medicine (Kellie et al. 2019). The Chi-square test has indicated that there is no significant difference in resistance rates to all antibiotics used (p -value>0,05) between *S. aureus* and *S. epidermidis*, except for

imipenem, gentamicin, and cotrimoxazole (p -value< 0,05), these findings suggest that both strains can harbor antibiotic resistance genes but not expressing these genes (Martineau et al. 2000; Duran et al. 2012). Overall, we found in this study that 22% of *S. epidermidis* were resistant to gentamicin compared to *S. aureus* with 4,7%. These observations are also in agreement with the findings of Martineau et al. (2000). Resistance to aminoglycosides such as gentamicin has increasingly been reported in CoNS species (Dubin et al. 1999).

Data of Tables 5, 6, and 7 delivers important information on current antimicrobial resistance, including multi-drug resistance (MDR) and Methicillin-Resistance (MR) for a collection of clinical isolates of *S. aureus* and *S. epidermidis* from community infections. It is alarming to have a high rate of MDR *Staphylococcus* in the community, especially in *S. epidermidis*, which is one of the CoNs recognized as a cause of nosocomial infections (Becker et al. 2014). Both strains present resistance between 3 to 7 different families of antibiotics (Table 6). However, the resistance mechanisms in CoNs are less well defined (Srinivasan et al. 2002), but multiresistant *S. epidermidis* is a potential source for transferring the *mec* gene and several genes encoding resistance to antibiotics between pathogenic Staphylococcal species (Shitta et al. 2012). So, this multi-resistance in developing countries is may be due to the not controlled use of antibiotics because several antibiotics are available without a doctor's prescription (Kakai and Wanola 2002). The rise of resistance phenotype can be associated with auto-medication without prescription, lack of awareness in most of the people who stop antibiotics mid-way from fever, and a decline in the apparent symptoms (Saeed et al. 2020).

Table 5. Phenotype of MDR *Staphylococcus aureus* and *S. epidermidis*

Type of strains	n (%)	Phenotype of bacteria MDR
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (n=22)	1 (4.5%)	CIP, GEN, SXT, ERY, LIN, PRI, FOS
	1 (4.5%)	FOX, OXA, GEN, SXT, ERY, LIN, SPI, PRI, FOS
	1 (4.5%)	FOX, OXA, CIP, GEN, SXT, ERY, SPI, PRI, FOS
	2 (9.1%)	FOX, OXA, CIP, GEN
	2 (9.1%)	FOX, OXA, SXT, ERY
	1 (4.5%)	FOX, OXA, GEN, ERY, LIN, SPI, FOS
	1 (4.5%)	FOX, OXA, ERY, LIN
	1 (4.5%)	FOX, OXA, CIP, GEN, SXT, ERY
	1 (4.5%)	SXT, ERY, LIN, SPI, PRI, FOS
	2 (9.1%)	FOX, OXA, SXT, ERY, LIN, SPI
	1 (4.5%)	FOX, OXA, CIP, SXT, ERY, PRI
	2 (9.1%)	FOX, OXA, CIP, GEN, SXT, ERY, LIN, PRI, FOS
	1 (4.5%)	FOX, OXA, GEN, SXT, LIN
	1 (4.5%)	FOX, OXA, SXT, ERY, LIN, SPI
	2 (9.1%)	FOX, OXA, CIP, GEN, SXT, ERY, LIN, PRI, FOS
	1 (4.5%)	FOX, OXA, CIP, SXT, ERY, LIN, SPI
	1 (4.5%)	LIN, SPI, FOS
<i>Staphylococcus aureus</i> (n=6)	1 (16.7%)	FOX, OXA, IMP, CIP, SXT, ERY, LIN, SPI, PRI, FOS
	1 (16.7%)	FOX, OXA, SXT, ERY, LIN, SPI, PRI, FOS
	1 (16.7%)	FOX, OXA, CIP, GEN, SXT, LIN
	1 (16.7%)	FOX, OXA, CIP, SXT
	1 (16.7%)	FOX, OXA, CIP, GEN, SXT, ERY, LIN, SPI, FOS
	1 (16.7%)	ERY, LIN, FOS

Table 6: Strains MDR to several of families of antibiotics

Strains	Number (n) and percentage (%) of isolates MDR to several families											
	Three		Four		Five		Six		Seven		Eight	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>S. aureus</i> (n=43)	2	33.3	0	0	1	16.7	1	16.7	2	33.3	0	0
<i>S. epidermidis</i> (n=59)	6	27.3	0	0	9	40.9	0	0	5	22.7	2	9.1

Table 7. resistance to methicillin and multi-drug resistance profile of *S. aureus* and *S. epidermidis* according to samples types

Samples	<i>S. aureus</i>		<i>S. epidermidis</i>	
	MRSA	MDR	R to meth	MDR
Urine	1 (9.1%)	1 (16.7%)	14 (56%)	13 (59.1%)
Skin	0 (0%)	0 (0%)	1 (4%)	1 (4.5%)
Vaginal	0 (0%)	0 (0%)	1 (4%)	1 (4.5%)
Pus	7 (63.6%)	4 (66.7%)	5 (20%)	5 (22.7%)
Mammary	2 (18.2%)	0 (0%)	2 (8%)	1 (4.5%)
Sperm culture	1 (9.1%)	1 (16.7%)	2 (8%)	1 (4.5%)
Blood	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Vulvar	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Total	11 (25.6%)	6 (13.9%)	25 (42.4%)	22 (37.3%)

Results show that the rate of MDR and MR in *S. epidermidis* is higher than found among *S. aureus*, according to Cercenado (2010) and Morgenstern et al. (2016) most MR-CoNs isolates were multi-drug resistant, and that the rate of antibiotic resistance of CoNs isolated from different clinical infections is generally higher than CoFs-related infections. Thus, treatment of methicillin-resistant CoNs related infections is difficult to challenge (Bianvasco et al. 2000).

From pus, the prevalence of MDR and Methicillin Resistance (MR) among *S. aureus* is to (66.7%; 63.6%) respectively, these rates are higher than that observed in *S. epidermidis*. However, from urine the antibiotic resistance of *S. epidermidis* is higher than that shown among *S. aureus* (Table 7), according to Muder et al. (2006) which indicate that *S. aureus* is a rare cause of urinary tract infections, accounting for only 0.5% to 6% of all positive urine cultures.

The present study determines the phenotypic analysis of antibiotic resistance of 43 *S. aureus* and 59 *S. epidermidis* strains isolated from human community infections samples in Oum El Bouaghi city (Algeria) and it indicates that *S. epidermidis* is more prevalent in community infection than *S. aureus* with high levels of resistance to commonly used antibacterials except for vancomycin. The presence of MDR in some *S. epidermidis* and *S. aureus* strains is due to the misuse of antibiotics in Algeria and should be considered as a serious health concern. In Algeria, regular surveillance of antibiotic prescriptions for human infections is essential in order to conserve the efficacy of the antibiotics and reduce the emergence of multi-drug resistant strains.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank the Directorate General for Scientific Research and Technological Development (DGRSDT) of Algeria.

REFERENCES

Abden EI, Mousa WS, Abdelhaleem SY, Helal HS, Sharwah RR, Nooruzzaman M, Soliman MM, Tarifa GE, Hamad A, Abden A. 2021. Prevalence and characterization of coagulase-positive *Staphylococci* from food products and human specimens in Egypt. *Antibiotics* 10 (7): 75. DOI: 10.3390/antib1007075.

Ahok B, Hotal H, Cerdas Z, Nahi I, Harouf TM, Neuhauer H, El-Adawy H. 2018. Emerging of antimicrobial resistance in staphylococci isolated from clinical and food samples in Algeria. *BMC Res Notes* 11: 663. DOI: 10.1186/s13104-018-3762-2.

Alloua M, Labid A, Amoura K, Bertoin M, Giacomi-Cinco D, Dekhil M. 2014. Emergence of the European ST80 clone of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a cause of healthcare-associated infections in Eastern Algeria. *Médecine et Maladies Infectieuses* 44: 180-183. DOI: 10.1016/j.medmal.2014.01.006.

Altaf M, Jaz M, Iqbal MK, Rehman A, Awan M, Chaffar A, Ayyub RM. 2019. Molecular characterization of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and associated risk factors with the occurrence of goat mastitis. *Pak Vet J* 40 (1): 1-6. DOI: 10.29261/pakvetj.2019.079.

Anzi K, Bouzik N, Darsoular O, Boubakri I, Ben M, Lina G, Vandecastel F, Tacir M, Ramdani-Bouagassa N, Elhanna J. 2011. High prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clone ST80-IV in hospital and community settings in Algeria. *Clin Microbiol Infect* 17: 526-532. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2010.03273.x.

Arsham Faw, Taha Karamouni, Esmat Arhar, Ellis Barbour, Steve Hamish. 2014. High incidence rate of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) among healthcare workers in Saudi Arabia. *J Infect Dev Crisis* 8 (3): 372-378. DOI: 10.3855/jidc.3389.

Azawi Jonathan, Daniel GA, Akuba LKA, Anon MS, Usha G, Linda AD, and Sabita YE. 2020. Review of Clinically and Epidemiologically Relevant Coagulase-Negative *Staphylococci* in Africa. *Microb Drug Resist* 26 (8): 951-970. DOI: 10.1007/s12019-020-0381.

Bassett M, Poulakou G, Ruppé E, Bouca E, Van Hal SJ, Hitek A. 2017. Antimicrobial resistance in the next 30 years, human kind, bugs and drugs: a visionary approach. *Intensive Care Med* 42: 1464-1475. DOI: 10.1007/s00134-017-4878-x.

Becker K, Hellmann C, Peters G. 2014. Coagulase-negative *Staphylococci*. *Clin Microbiol Rev* 27: 870-925. DOI: 10.1128/CMR.00109-13.

Benouda A, Elharrouzi S. 2009. *Staphylococcus aureus*: épidémiologie et prévalence des souches résistantes à la méthicilline (SARM) au Maroc. *Revue Tunisienne d'Infectiologie* 3 (8): 15-20.

Baryagoub E, Baryagoub E, Barbaoui H, Rahmani C, Baryagoub F. 2020. Identification and study of the emergence of antibiotic

- resistance of microorganisms responsible for urinary tract infections in Bechar (Algeria). *Bangladesh J Med Sci* 19 (3): 404-413. DOI: 10.3329/bjms.v19i3.45856.
- Hiravasu P, Vignarelli C, Varaldo PE. 2000. Glycopeptide resistance in coagulase-negative *Staphylococci*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 19: 403-417. DOI: 10.1007/s100960000299.
- Castro A, C Santos, H Matralas, Silva J, and Teixeira P. 2016. Food handlers as potential sources of dissemination of virulent strains of *Staphylococcus aureus* in the community. *J Infect Publ Health* 9: 153-160. DOI: 10.1016/j.jiph.2015.08.001.
- Caballero S, Aspízco C, Ruiz-Ripa L, Reynaga E, Arzoz-Gutiérrez JM, Rozas A, Sorá C, Antolanzas F, Torres L, López C, López-Casero I, Coronado E, Zamanga M, Torres C. 2019. Study Group of clinical LA-MRSA epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in hospitals located in Spanish regions with different pig farming densities: a multicentre study. *J Antimicrob Chemother* 74: 2157-2161. DOI: 10.1093/jac/dkz180.
- Coronado E. 2010. Update of antimicrobial resistance in Gram-positive microorganisms. *Med Clin Suppl* 3: 10-15.
- Chabi R, Montar H. 2019. Virulence factors and antibiotic resistance properties of the *Staphylococcus epidermidis* strains isolated from hospital infections in Alvor, Iran. *Trop Med Health* 47: 56. DOI: 10.1186/s41182-019-0180-7.
- Chijioke A, Vivian NN, Christian UO. 2016. Prevalence and antibiotic susceptibility pattern of *Staphylococcus aureus* isolated from various clinical specimens in northeast Nigeria. *MO J Cell Sci Rep* 3 (2): 60-63. DOI: 10.15406/mojcr.2016.03.00054.
- Contreras A, Luengo C, Sanchez A, Comas JC. 2003. The role of intramammary pathogens in dairy goats. *Livest Prod Sci* 79 (2-3): 273-283. DOI: 10.1016/S0001-6226(02)00172-0.
- Dubin DT, Fitzgibbon JE, Nahvi MD, John JF. 1999. Topoisomerase sequences of coagulase-negative staphylococcal isolates resistant to ciprofloxacin or trovafloxacin. *Antimicrob Agents Chemother* 43: 1631-1637. DOI: 10.1128/AAC.43.7.1631.
- Demir N, Ocar B, Demir OO, Orlan Y, Demir C. 2012. Antibiotic resistance genes and susceptibility patterns in staphylococci. *Indian J Med Res* 135 (3): 389-396.
- Eladi MD, Alharbi NS, Khalid JM, Kafaluzzaman S, Alshaidi AS, Alyahya SA. 2019. Antibiotic-resistant *Staphylococcus epidermidis* isolated from patients and healthy students comparing with antibiotic-resistant bacteria isolated from pasteurized milk. *Saudi J Biol Sci* 26: 1285-1290. DOI: 10.1016/j.sjbs.2018.05.008.
- Filarevi L, Fantišak R, Boška T, Doljak J. 2019. Variability of resistance plasmids in coagulase-negative staphylococci and their importance as a reservoir of antimicrobial resistance. *Res Microbiol* 170: 105-111. DOI: 10.1016/j.resmic.2018.11.004.
- Fridéric J, Elviri MK, Mirón A, Cavallo JD. 2008. Les difficultés d'interprétation de l'examen cyto-bactériologique des urines. *Revue Francophone des Laboratoires* 38: 51-59. DOI: 10.1016/S1773-0750(08)74525-8.
- Gubamanyi N, Ditarho B, Mshiro V. 2017. Prevalence of *Staphylococcus aureus* among clinical isolates and their responses to selected antibiotics at Centre Hospitalier Universitaire de Kigali (CHUK). *J Microbiol Exp* 5 (4): 00158. DOI: 10.15406/jme.2017.05.00158.
- Holmes RL, Jørgensen H. 2008. Inhibitory activities of 11 antimicrobial agents and bactericidal activities of vancomycin and daptomycin against invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates obtained from 1999 through 2006. *Antimicrob Agents Chemother* 52: 757-760. DOI: 10.1128/AAC.00945-07.
- Ji Q, Chen Q, Gong X, Zhang F, Li S, Liu Y. 2018. Topoisomerase mutations are associated with high-level ciprofloxacin resistance in *Staphylococcus agalactiae*, *Stenococcus faecalis* and *Enterobacter coli* isolated from ducks. *Polk Vet J* 38: 39-45. DOI: 10.29261/polvetj/2018.008.
- Johler S, Leyer F, Stephan R. 2011. Comparison of virulence and antibiotic resistance genes of food poisoning outbreak isolates of *Staphylococcus aureus* with isolates obtained from bovine mastitis milk and pig carcasses. *J Food Prot* 74 (11): 1852-1859. DOI: 10.4315/J0362-028X-JFP-11-192.
- John J, George S, Noel SRC, and Nelson-Sathi S. 2019. Phylogenomic analysis reveals the evolutionary roots of resistant genes in *Staphylococcus aureus*. *Genome Biol Evol* 11 (10): 2917-2926. DOI: 10.1093/gbe/evz213.
- Kaush AJ, Barlow G, Edgeworth JD, Fowler VC Jr, Hallmich M, Hopkins S, Kam WV, Lavesque MD, Rieg S, Rodriguez-Baño J, Scarborough M, Seifert H, Soriano A, Tilley R, Tórk ME, Wall V, Wilson AP, Thwaites GE. 2018. *Staphylococcus aureus* bloodstream infection. *J Infect* 68: 242-251. DOI: 10.1016/j.jinf.2018.10.015.
- Kabal R, Wanola IA. 2002. Minimizing antibiotic resistance to *Staphylococcus aureus* in developing countries East. *Am J Med J* 79: 574-579. DOI: 10.4314/ajm.v79i11.8801.
- Kandl V. 2018. Coral dermatitis or infectious dermatitis: Report of a case of *Staphylococcus aureus* infection of skin after scuba diving. *Cutis* 10 (2): e2196. DOI: 10.7759/cutis.2196.
- Kallis J, Goodlet, Fatima Z, Ranthallina, Michael D, Nalor. 2019. A systematic review of single-dose aminoglycoside therapy for urinary tract infection: Is it time to resurrect an old strategy? *Antimicrob Agents Chemother* 63 (1): e02165-18. DOI: 10.1128/AAC.02165-18.
- Li B, Webster TJ. 2018. Bacteria antibiotic resistance: New challenges and opportunities for implant-associated orthopedic infections. *J Orthop Res* 36: 22-32.
- Logunova A. 2006. Coagulase-negative staphylococci and their participation in pathogenesis of human infections. *Biostat Lek Lary* 107 (11-12): 448-452.
- Mahendra P, Ganesha BK, Laxho MM, Venkateswara K. 2020. Epidemiology, pathogenicity, animal infections, antibiotic resistance, public health significance, and economic impact of *Staphylococcus aureus*: a comprehensive review. *Am J Publ Health Res* 1 (1): 14-21.
- Martinez F, François JP, Nicolas L, Christian MN, Paul BR, Marc O, MICHEL. GB. 2000. Correlation between the resistance genotype determined by Multiplex PCR assays and the antibiotic susceptibility patterns of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *Antimicrob Agents Chemother*. DOI: 10.1128/AAC.44.2.231-238.2000.
- Masanzari RM, Philer MA, Wakefield DS. 1988. Implication of acquired oxacillin resistance in the management and control of *Staphylococcus aureus* infections. *J Infect Dis* 158: 702-709. DOI: 10.1093/infdis/158.4.702.
- Minney-Povis P, Schwartz DN, Weinstein EA. 2017. Antimicrobial stewardship: how the microbiology laboratory can right the ship. *Clin Microbiol Rev* 30: 381-407. DOI: 10.1128/CMR.00066-16.
- Morganstern M, Erichsen C, Haack S, Mily J, Miller M, Friederichs J, Hengeler S, Böhren V, Moriarty TP, Post V, Richards RG, Kainz SL. 2016. Antibiotic resistance of commensal *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci in an international cohort of surgeons: A prospective point-prevalence study. *PLoS One* 11 (2): e0148437. DOI: 10.1371/journal.pone.0148437.
- Muder RR, Brunson C, Rife JD, Wagner MM, Ohman A, Strat JE, Yu VL. 2006. Isolation of *Staphylococcus aureus* from the urinary tract: association of isolation with asymptomatic urinary tract infection and subsequent staphylococcal bacteremia. *Clin Infect Dis* 42: 46-50. DOI: 10.1093/cid/crl118.
- Nasekova C, Argenti X, Sogho F, Ombach J, Keller D, Affiliati D, Schramm F, Ringel F, Baba-Mousaev I, Prévost G. 2017. Pathogenic features of clinically significant coagulase-negative *Staphylococci* in hospital and community infections in Berlin. *Int J Med Microbiol* 307 (1): 75-82. DOI: 10.1016/j.ijmm.2016.11.001.
- Nascimento TC, da Silva VI, Ferreira-Machado AR, Diniz CO. 2015. Potential spread of multidrug-resistant coagulase-negative *Staphylococci* through healthcare waste. *J Infect Dev Ctries* 9 (1): 629-634. DOI: 10.2895/ijdc.4563.
- Nemaghairi S, Arguda's MA, Feller AT, Hauschild T, Schwarz S, Datsys F. 2014. The ecological importance of the *Staphylococcus sciuri* species group as a reservoir for resistance and virulence genes. *Vet Microbiol*. DOI:10.1093/jac/dkt268.
- Oliveira WP, Silva PM, Silva EC, Silva GM, Machado G, Coelho LC, Correia MT. 2017. *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* infections on implants. *J Hosp Infect* 98 (2): 111-117. DOI: 10.1016/j.jhin.2017.11.008.
- Omar OS and Ophori EA. 2013. Prevalence of Multi-Drug Resistant *Staphylococcus aureus* in clinical specimens obtained from patients attending the University of Benin Teaching Hospital, Benin City, Nigeria. *J Nat Sci Res* 3 (5): 154-159.
- Oto M. 2009. *Staphylococcus epidermidis* – the 'accidental pathogen'. *Nat Rev Microbiol* 7 (8): 555-567. DOI: 10.1038/nrmicro2182.
- Quinn PJ, Carter ME, Markay BK, Carter GR. 1994. *Clinical veterinary microbiology*. 5th edn. Elsevier, Philadelphia, PA.
- Rogers KL, Fey PD, Rupp ME. 2009. Coagulase-negative staphylococcal infections. *Infect Dis Clin North Am* 23: 73-98. DOI: 10.1016/j.idc.2008.10.001.
- Saad A, Ahsan F, Nasar M, Iqbal K, Ur Rahman K, Ijaz T. 2020. Incidence of vancomycin-resistant phenotype of the Methicillin-

- Resistant *Staphylococcus aureus* isolated from a Tertiary Care Hospital in Lahore. *Antibiotics* 9 (1): 3. DOI: 10.3390/antib9010003.
- Safarpour D, Clandoni F, Bassi H, Mirzahi AA, Rahimi E. 2017. Phenotypic and genotypic characterization of antibiotic resistance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from hospital food. *Antimicrob Resist Infect Control* 6: 1-11. DOI: 10.1186/s13756-017-0257-1.
- Saleem N, Nawar M, Ghaffar A, Javed A, Mustafa A, Younis MR, Khan I. 2018. Phenotypic and molecular analysis of antibiotic resistance in Lactobacilli of poultry origin from Lahore, Pakistan. *Pak Vet J* 38 (4): 409-413. DOI: 10.29261/pakvetj/2018.084.
- Sangita T, Lokendra BS. 2019. Changing trend of neonatal septicemia and antibiotic susceptibility pattern of isolates in Nepal. *Int J Pediatr*. DOI: 10.1155/2019/3784529.
- Schwartz S, Feller AT, Loncaric I, Wu C, Kadlec K, Wang Y, Shen J. 2018. Antimicrobial resistance among staphylococci of animal origin. *Microbiol Spectrum* 6 (4): ARBA-0010-2017. DOI: 10.1128/microbiolspec.ARBA-0010-2017.
- Shitta A, Oyedara O, Abagunrin F, Okeon K, Raji A, Taiwo S, Ogunola F, Oyejide K, Elisha G. 2012. Characterization of methicillin-susceptible and -resistant staphylococci in the clinical setting: a multicentre study in Nigeria. *BMC Infect Dis* 12: 285. DOI: 10.1186/1471-2334-12-285.
- Siberry GK, Takeda T, Carroll K, Dick J. 2005. Failure of clindamycin treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* expressing inducible clindamycin resistance in vitro. *Clin Infect Dis* 37: 1257-1260. DOI: 10.1093/cid/c377501.
- Srinivasan A, Dick JJ, Perl TM. 2002. Vancomycin resistance in staphylococci. *Clin Microbiol Rev* 15: 430-438. DOI: 10.1128/CMR.15.3.430-438.2002.
- Virdis S, Scarano C, Cosmi F, Spanu V, Spanu C, Sarris EPL. 2010. Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative *Staphylococci* isolated from goats with subclinical mastitis. *Vet Med* 105: 517060. DOI: 10.4061/2010/517060.
- Wesley S, Kloos, Wolfshohl JF. 1982. Identification of *Staphylococcus* species with the API STAPH-IDENT system. *J Clin Microbiol* 16 (3): 509-516. DOI: 10.1128/JCM.16.3.509-516.1982.
- Yang Q, Li X, Ju P, Ginks C, Kabilmster G, Turnidge J, Yu Y, Lv Y, Wang M, Sun Z, Liu J, Li Y, Zhang H, Hu F, Qian Y, Chen Z, Li H, Zhang G, Zhang J, Kang W, Duan S, Wang T, Jing R and Xu Y. 2020. On behalf of the Chinese Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (ChCAST). Determination of vancomycin epidemiological cut-off values (ECOFFs) for *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus* and *Staphylococcus lentus*. *J Antimicrob Chemother*. DOI: 10.1093/jac/dkz464.
- Zatout A, Djibouti R, Kasab-Lacour A, Benbrahim C. 2020. Coagulase-negative staphylococci in Anti-Cancer Center, Batna, Algeria: antibiotic resistance pattern, biofilm formation, and detection of *mecA* and *icaAD* genes. *Am J Clin Exp Microbiol* 21 (1): 21-29. DOI: 10.4034/ajcem.v21i1.3.
- Zong Z, Changhong P, Xiaojin L. 2011. Diversity of SCCmec Elements in Methicillin-Resistant Coagulase-Negative *Staphylococci* Clinical Isolates. *PLoS ONE* 6 (5): e20191. DOI: 10.1371/journal.pone.0020191.

Article 3

Original Article

Molecular characterization of the whole genome in clinical multidrug-resistant strains of *Klebsiella pneumoniae*

Amina Rahmani¹, Laarem Meradi¹, Rudolph Piris²

¹ Department of Natural and Life Sciences, Laboratory of Biotechnology of Natural Substances and Applications, Larbi-Ben-Mhidi University of Oum El Bouaghi, Algeria

² National Reference Center for resistance of Enterobacteria to beta-lactamase (ESBL) in Clermont-Ferrand, France

Abstract

Introduction: Antimicrobial resistance (AMR) is a major public health concern. The spread of AMR-encoding genes between enterobacteria, especially in *Klebsiella pneumoniae* strains, lead to failure in the treatment of most individuals. The aim of this study was to characterize multi-drug resistant (MDR) clinical *K. pneumoniae* isolates that produce extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) from Algeria.

Methodology: The isolates were identified using biochemical tests, and the identification was confirmed by mass spectrometry using VITEK® MS (BioMérieux, Marcy l'Étoile, France). Antibiotic susceptibility testing was assessed by the disk diffusion method. Molecular characterization was performed by whole genome sequencing (WGS) using Illumina technology. Sequenced raw reads were processed using bioinformatics parameters: FastQC, ARIBA, and Shovill-Spades. Multilocus sequence typing (MLST) was used to estimate the evolutionary relationship between isolate strains.

Results: Molecular analysis resulted in the first detection of bla_{NDM-5} encoding *K. pneumoniae* in Algeria. Other resistance genes were bla_{TEM}, bla_{SHV}, bla_{CTX-M}, aac(6)-Ib-cr, qnrB1, qnrB4, qnrB19, qnrS1, gyrA and parC variants.

Conclusions: Our data demonstrated a very high level of resistance in clinical *K. pneumoniae* strains which were resistant to most common antibiotic families. This was the first detection of *K. pneumoniae* with the bla_{NDM-5} gene in Algeria. Surveillance of antibiotic use and measures for control should be implemented to reduce occurrence of AMR in clinical bacteria.

Key words: antimicrobial resistance, extended-spectrum β -lactamases, *Klebsiella pneumoniae*, multi-drug resistant, New Delhi metallo- β -lactamase -5, sequenceType -307.

J Infect Dev Ctries 0000; 0(00):000-000. doi:10.3855/jidc.17168

(Received 27 July 2022 – Accepted 14 November 2022)

Copyright © 2023 Rahmani et al. This is an open-access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Introduction

Prolonged exposure of Enterobacteriaceae to antibiotics and the selective pressure resulting from the excessive, clinically unnecessary, use of antibiotics contributes to the emergence of antibiotic resistance (AMR) that is a growing global health concern. The spread of infections resistant to the currently available antibiotics could contribute to a death every three seconds globally by 2050 [1]. Currently patients with infections caused by antibiotic-resistant bacteria are at high risk of long hospital stays, treatment failure, high mortality, and high health care costs [2].

The prevalence of multi drug resistant (MDR) Enterobacteriaceae, especially those which are resistant to β -lactams, has been increasing worldwide because these antibiotics are important therapeutic choices for treating infections in humans [3].

K. pneumoniae is a notorious bacterium, and by acquiring additional antimicrobial resistance, it could

be the origin of increasing nosocomial infections. This species is known to be prone to MDR and hypervirulent strain emergence [18].

K. pneumoniae cause severe infections including liver abscess, pneumonia, and sepsis by the production of enzymes such as extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) or plasmid-mediated AmpC β -lactamases (pAmpC) that are enzymes commonly isolated from Enterobacteriaceae [4]. Nowadays, enterobacteria producing ESBLs and β -lactamase enzymes are frequently isolated from nosocomial and community-acquired infections [5]. Therefore, acquired carbapenemase-encoding genes in enterobacteria constitute a real clinical concern for antimicrobial management. ESBL, pAmpC and the carbapenemases are largely produced by MDR enterobacteria such as *Klebsiella* spp isolates. The corresponding genes are located on plasmids and other mobile genetic elements [6]. This is alarming because these plasmids frequently

carry genes encoding resistance to other classes of drugs such as aminoglycosides, trimethoprim-sulfamethoxazole, fluoroquinolones, and can move horizontally among bacteria [7]. This is especially the case with *Klebsiella* spp which is one of the bacteria in need of development of new therapeutic compounds [8]. The objective of this study was to evaluate the level of antibiotic resistance and to perform the molecular characterization of clinical *K. pneumoniae* strains isolated from out-patients and in-patients admitted to different wards of the hospital in Oum El Bouaghi, Algeria.

Methodology

Samples collection

30 Bacterial isolates were provided by the laboratory of Microbiology of the hospital at Oum El Bouaghi, Algeria. They were isolated between December 2021-February 2022 from various clinical samples (urinary tract infections, hemoculture and pus) collected from out-patients and in-patients admitted to different wards of the hospital.

The isolates were grown on MacConkey agar (BioMerieux, Marcy l'Etoile, France) for 24 hrs at 37 ± 1 °C. The isolates were identified using biochemical tests, and the identification was confirmed by mass spectrometry using VITEK® MS (BioMerieux, Marcy l'Etoile, France). VITEK® MS PRIME is a Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight (MALDI-TOF) mass spectrometer. The instrument analyzes material from microbial cultures to identify the microorganism. The samples were exposed to multiple laser shots inside VITEK® MS PRIME [1], and this was designed to incorporate additional benefits and enhance the use of MALDI-TOF technology [1].

Antibiotic susceptibility testing

Antimicrobial drug susceptibility was determined using the disc diffusion method on Mueller-Hinton agar and interpreted according to the recommendations of Antibiogram Committee French Society for Microbiology (<http://www.sfm-microbiologie.org>). The antimicrobial agents tested were: β -lactams (10 μ g of ampicillin, 30 μ g of amoxicillin-clavulanic acid, 10 μ g of imipenem and 30 μ g of cefotaxime), cyclines (30 μ g of tetracycline), sulfonamides (25 μ g of tri-methoprim-sulfamethoxazole), aminoglycosides (10 μ g of gentamicin), rifamycines (5 μ g of rifampicin), and quinolones (30 μ g of nalidixic acid and 5 μ g of ciprofloxacin).

The screening of ESBL production was performed by the double-disc synergy test (DDST) between

clavulanic acid and third generation cephalosporins (cefotaxime, ceftazidime, aztreonam and ceftipime) [9]. The test was considered positive when a "champagne cork" aspect was observed.

DNA sequencing

Genomic DNA was extracted using a QIAextractor (Qiagen, Valencia, CA), and library preparation was performed by using a Nextera XT DNA sample preparation kit (Illumina, San Diego, CA) according to the Illumina protocol. The libraries were sequenced with the Illumina MiSeq platform (2x 300-bp paired-end reads) with a minimum of mapped-reads depth of 40-fold.

Contaminant searches and molecular identification were performed for each sample using the centrifuge. This method performs abundance analyses at all taxonomic levels (e.g. strain, species, genus) [10]. Quality control metrics were examined across the whole collection as a batch report to ensure a mean read base-pair quality score of $Q \geq 20$ and a read length of 70% of the original read length. Quality-filtered Illumina reads were assembled using Unicycler [11]. Contigs were annotated using Bakta.

Gene annotation

To define the presence of specific genes and their alleles, we used ARIBA [12], DIAMOND [13], and the following databases: Multilocus sequence typing MLST database, serotypeFinder O:H typing database, the fimH typing database, and curated databases of AMR genes/Single Nucleotide Polymorphism (SNPs) including Res-Finder, NDARO, and CARD.

Comparative genomic analysis

The filtered whole genome sequencing (WGS) reads were aligned against *K. pneumoniae* core genome (<https://www.cgmlst.org>) to call SNPs using BactSNP [14]. A maximum-likelihood phylogeny was then generated by RAxML-ng v 0.9 [15] based on the resulting core genome alignment filtered for recombination using Gubbins v 2.2. [16]

Results

Multilocus sequence typing (MLST) and clonality analysis

According to data of MLST, all isolates belonged to the sequence type ST307. Clonality analysis performed by cgMLST on mean 2145635 bases (<https://microreact.org/project/gekjDYwFLTkanVvTG> Bzwoi-confite) showed that the most similar isolates 03 and 13 (ST307) differ by 39 SNPs. The isolates did not

therefore emerge as a recent clonal spread but probably correspond to an endemic reservoir of ST307.

Discussion

The World Health Organization (WHO) has recommended that countries should develop AMR surveillance programs to collect and integrate antimicrobial use.

Our genomic data analysis, presented in Table 1, confirmed that all *K. pneumoniae* strains (n = 4) are ESBLs. A co-existence of three ESBL genes (*CTX-M*, *TEM*, and *SHV*) was found in two strains (S03 and S13), and this was already reported in Algeria [19], and in other countries [20]. Association of ESBL genes lead to selection of resistance genes in hospitals as well as in other sectors. In addition, the presence of multiple β -lactamase genes with several variants in *K. pneumoniae* isolates would also be the cause of MDR and other extremely drug resistant (XDR) strains emergence [21]. These may lead to high human mortality rates when it comes to clinical infections due to failures of antimicrobial therapies [22]. Both *blaSHV* and *blaCTX-M* genes are present in the two strains (S01 and S09) analyzed in *K. pneumoniae*. The coexistence of *blaSHV* and *blaCTX-M* genes was also observed in previous studies conducted in Algeria [23].

Through this investigation, the *CTX-M* genes have been identified in all *K. pneumoniae* (S01, S03, S09, and S13); *blaCTX-M-15* type variant (CTX-M-1 group) in particular is a well distributed strain throughout the world, including Algeria [24].

A *blaSHV-II* gene was found in S01 and S09 strains that procures a broad-spectrum resistance to antibiotics in the *K. pneumoniae* strain. Two strains (S03 and S13) harboring the *blaSHV/28* and the *blaTEM-1* genes have been identified, and have already been a subject of study in Algeria [23]. No data was

available on the functional aspect of variant gene *blaTEM-1*. Hyperproduction of TEM-1 β -lactamase mediated by the promoter *Pa/Pb* which was detected in two *K. pneumoniae* strains (S03 and S13) has never been addressed in Algeria, and according to other studies *blaTEM-1(PaPb)* is only responsible of high resistance to piperacillin-tazobactam (TZP) [25].

The *OXA* gene was found present in three strains of *K. pneumoniae*. The *OXA-1* gene was also detected in Algeria [26]. *OXA-1* variant gene was discovered in co-existence with ESBL genes. This result is consistent with previous studies that showed that these genes are commonly present in combination with *CTX-M-15*, *SHV-1*, *TEM-1* β -lactamases, PMQR (plasmid mediated quinolones resistance) determinants, and *aac(6)-Ib-cr* in a community of *K. pneumoniae* strain [27].

Previous studies have demonstrated that *NDM-5* offer greater resistance than *NDM-1* genes [34]. From what we observed, the detection of New Delhi Metallo- β -lactamases genes of type NDM-5 in *K. pneumoniae* (S09) strains is considered as a first in Algeria, However the blaNDM-5 gene has been reported only in other clinical isolates such as *Acinetobacter baumannii* [28], *Escherichia coli* [29], and *Enterobacter cloacae* [30].

In contrast, in other countries the *blaNDM-5* gene has been identified mainly in clinical Enterobacteriaceae. The carbapenems represent the latest threat to public health especially in the case of nosocomial transmission of the *blaNDM* gene which has occurred in many countries [31]. However, in Algeria, *NDM-5* gene was detected in *K. pneumoniae* from animal origins such as white storks [32]. This finding confirms that wildlife in Algeria could serve as reservoirs of MDR *K. pneumoniae*, in addition to its presence in fecal samples of companion animals [33].

Table 1. Antibiotic resistance-encoding genes found in clinical *K. pneumoniae* strains.

Strain	β -lactam resistance	β -lactam gene(s)	Aminoglycosid de gene(s)	Quinolone gene(s)	Sulfonamide gene(s)	Trimethoprim r gene(s)	Cycline gene(s)	Phenicol gene(s)	Fosfomicyl gene(s)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (S0)	ESBL ND-L RP	<i>blaCTX-M-15</i> <i>blaSHV-II</i> <i>blaTEM-1</i>	<i>aac(3)-Ib</i> <i>aac(6)-Ib-cr</i> <i>aacA11</i>	<i>qnrB1</i> <i>gyrA(S03)</i>	<i>cat1</i> <i>cat2</i>	<i>dhfr1</i> <i>dhfr1</i>	<i>catG</i>	<i>floR</i> <i>catB2</i>	<i>fosA</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (S2)	P ESBL RP ND-L	<i>blaCTX-M-15</i> <i>blaSHV-I</i> <i>blaTEM-1</i> <i>blaSHV-28</i>	<i>aph(7)-Ia</i> <i>aph(6)-Id</i> <i>aph(3'')-Ib</i>	<i>qnrB1</i> <i>gyrA(S03)</i>	<i>cat2</i>	<i>dhfr14</i>	<i>catA</i> <i>TetR</i>	-	<i>fosA</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (S9)	ESBL ND-L Cr	<i>blaCTX-M-15</i> <i>blaSHV-I</i> <i>blaTEM-1</i>	<i>aph(3'')-Ib</i> <i>aph(7)-Ia</i> <i>aph(6)-Id</i>	<i>qnrS1</i>	<i>cat2</i>	-	-	-	<i>fosA</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (S13)	ESBL RP ND-L P	<i>blaCTX-M-15</i> <i>blaSHV-I</i> <i>blaTEM-1</i> <i>blaSHV-28</i>	<i>aac(3)-Ib</i> <i>aac(6)-Ib-cr</i> <i>aph(6)-Id</i> <i>aph(3'')-Ib</i>	<i>qnrB1</i> <i>gyrA(S03)</i>	<i>cat2</i>	<i>dhfr14</i>	<i>cat(A)</i> <i>TetR</i>	-	<i>fosA</i>

RP: inhibitor-resistant penicillinase, ND-L: Natural-beta lactamase, P: penicillinase, C: cephalosporinase, Cr: carbapenemase, NC: Natural-cephalosporinase, ESBL: extended-spectrum β -lactamase.

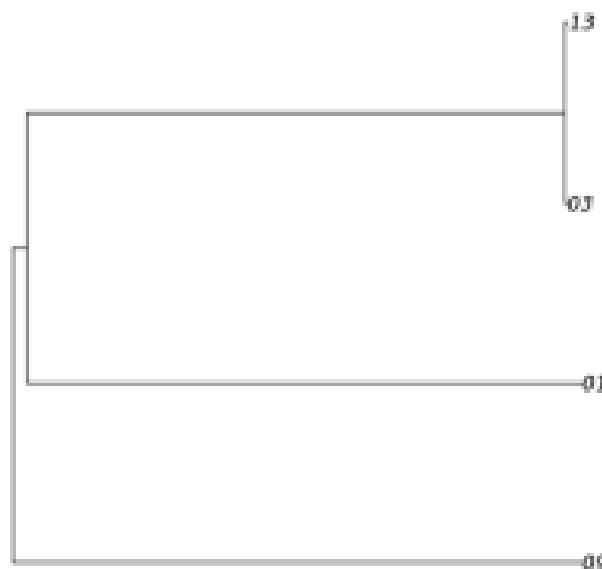


One finding of the present study is the existence of fluoroquinolone-resistant strain of *K. pneumoniae* carrying two plasmid mechanisms of resistance to quinolones: the *aac(6)-Ib-cr* variant gene harbored by two strains (S01 and S13) and the *qnrB1* gene present in three strains (S01, S03, and S13); these were also previously identified in Algeria [35]. One strain (S09) had acquired the *qnrS1* gene. This is the second report of *qnrS1* in ESBL-*K. pneumoniae* in Algeria [26]. It was previously described that *qnrB* was predominant among strains from Africa that *qnrS*. An association has been found between the production of *blaCTX-M-15*, *qnrB1* and/or *qnrS1* gene in all strains of *K. pneumoniae*, based on data from studies in Algeria [36] and in other countries [37] which report cases of *K. pneumoniae* harboring *blaCTX-M-15* and *aac(6)-Ib-cr* [38].

Based on studies conducted in Algeria, we report for the first time the chromosomal mechanism of resistance to quinolones in three *K. pneumoniae* strains (S01, S03, and S13) mediated by the Ser83Leu (S83L) substitution in *gyrA* gene, which is consistent with previous studies from several countries [39]. The *gyrA* (S83L) gene has been identified in strains of *K. pneumoniae* carrying plasmid mechanisms especially the *qnrB1* gene. Thus, the appearance of chromosomal mutations in the genes encoding DNA gyrase can increase the level of resistance of the bacteria to quinolones [40].

Our *qnr* positive strains show resistance to aminoglycosides, cotrimoxazole, sulfonamide

Figure 1. Phylogenetic tree of multilocus sequence typing (MLST) clinical MDR *K. pneumoniae* isolates.



Numbers (01, 03, 09 and 13) correspond to the number of each strain of *Klebsiella pneumoniae*.

trimethoprim, fosfomycin, and cycline. This could be explained by the fact that the plasmid support of quinolone resistance is present in a cassette as part of an integron carrying the other PMQR genes like *blaCTX-M-15*, *qnrB* and the multiresistance genes to other antibiotics [41].

Few studies in Algeria have identified the detailed expression of resistance to aminoglycosides. Our data show that all the strains were resistant to aminoglycosides but with different gene expression levels, and this includes *aph(6)-Id*, *aac(3)-Ile*, *aac(6)-Ib-cr*, *aph(3)-Ia*, and *aph(3'')-Ib* genes. One strain (S01) of *K. pneumoniae* harbored genes of the type *aadA11*, and this was first detected in Algeria from clinical strains of *K. pneumoniae*. Among these identified genes, the most concerning is the *aac(6)-Ib-cr* variant gene [42]. All of aminoglycosides resistant genes discovered in this study have not been studied in Algeria, especially since most of them have been located in mobile elements (plasmids, integron, transposon and integrative conjugative element) [43].

This study is the first investigation in Algeria analyzing resistance to sulfonamides and tetracycline in clinical strains of *K. pneumoniae*. Resistance to sulfonamides in all *K. pneumoniae* strains ($n = 4$) is due to *sul1* and *sul2* genes. In addition, we identified resistance to trimethoprim by *dfrA1*, *A7*, *dfrA14*, and *dfrB1*. All the strains showed resistance to fosfomycin and carried a *fosA* gene. There were three strains that carried *tetA*, *terG*, and *tetR* genes that lead to resistance to cyclines. The acquisition of resistance to fosfomycin and tetracycline by clinical isolates of *K. pneumoniae* sharing ESBL and/or carbapenemases represents a new threat that complicates the situation and shows that *K. pneumoniae* remains a very serious causative agent of therapy failure [44].

The most similar isolates S03 and S13 (ST307) differed only by 39 SNPs and both carried the ESBLs genes: *blaTEM-1*, *blaCTX-M-15*, *blaOXA-1*, *blaSHV-28*, and *blaTEM* (PaPb). They belong to the same strain ST-307 as indicated in Figure 1 that demonstrates the phylogenetic tree of multilocus sequence typing (MLST) of *K. pneumoniae*. The ST307 clone has been previously detected in Algeria by [45]. Our results show that this clone was associated with three ESBLs (*blaCTX-M-15*), *qnrB* and other genes. Several reports have showed that the origin of MDR ST307 *K. pneumoniae* was from clinical samples, as well as from other sources [57]. The WHO recently declared that the ST307 strain poses critical threat to public health It has also been concluded that ST307 *K. pneumoniae* can often carry transferable resistance-conferring genes

Act
Acc

against carbapenems and a variety of additional resistance and virulence determinants, in addition to integrative and conjugative elements, and phages. As a result, ST307 *K. pneumoniae* is emerging globally as an important vehicle for the dissemination of AMR determinants [58], and has been responsible for several global nosocomial and long-term care center outbreaks [59]. The MLST analysis indicated that ST307 consisted of one deep-branching lineage which contained the *gyrA* S831 mutation in the quinolone resistance determinant region (QRDR) that had global distribution [60].

Conclusions

The present study reports the first analysis and identification of the bacterial resistome of MDR clinical strains belonging to *Klebsiella pneumoniae* in Oum Bouaghi, Algeria. Our data demonstrate multiple clinical *K. pneumoniae* strains resistant to most common antibiotic families. This is also the first reported detection of *K. pneumoniae* producing *bla*NDM-5 gene in Algeria. Control of antimicrobial resistance requires monitoring and surveillance of the level of emergence of resistant bacteria, as well as the resistance genes and their location. These measures can limit the presence of new diverse AMR encoding genes that could be a source of emergence of new human pathogens in the future.

Acknowledgements

We thank the members of national research center for extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *Enterobacteria* in Clermont-Ferrand (France) for providing help with molecular characterization of strains.

References

1. Jim ON (2016) Tackling drug resistant infections globally: final report and recommendations; the review on antimicrobial resistance. Government of the United Kingdom: London, UK.
2. Goyal D, Dean N, Neill S, Jones P, Dascomb K (2019) Risk factors for community acquired extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae infections – a retrospective study of symptomatic urinary tract infections, open forum infectious diseases. Oxford University US. In Press. 357p.
3. Bush K (2010) Bench-to bedside review: the role of β -lactamases in antibiotic-resistant gram-negative infections. Crit Care 14 Suppl 3: 224.
4. Coque TM, Baquero F, Cantón R (2008) Increasing prevalence of ESBL-producing Enterobacteriaceae in Europe. Euro Surveill 13 Suppl 47: 19044.
5. Padmini N, Ajilda AAK, Sivakumar N, Selvakumar G (2017) Extended spectrum β -lactamase producing *Escherichia coli*

and *Klebsiella pneumoniae*: critical tools for antibiotic resistance pattern. J Basic Microbiol 57: 460–470.

6. Carattoli A (2013) Plasmids and the spread of resistance. Int J Med Microbiol 303: 298–304.
7. Melmes RS, McCallum GE, Lamberte LE, van Schaik W (2020) Horizontal transfer of antibiotic resistance genes in the human gut microbiome. Curr Opin Microbiol 53: 35–43.
8. Ranjbar R, Memariani H, Sorouri R (2017) Molecular epidemiology of extended spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from children with urinary tract infections. Arch Pediatr Infect 5 Suppl 2: e39000.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute (2015) Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, twenty-fifth informational supplement M100-S25. The recommendations of Antibiogram Committee French Society for Microbiology (CA-SFM, 2019). Available: <http://www.sfm-microbiologie.org/>. Accessed: 1 April 2020.
10. Kim D, Song L, Breitwieser FP, Salzberg SL (2016) Centrifuge: rapid and sensitive classification of metagenomic sequences. Genome Res 26: 1721–1729.
11. Wick RR, Judd LM, Gorrie CL, Holt KE (2017) Unicycler: resolving bacterial genome assemblies from short and long sequencing reads. PLoS Comput Biol 13: e1005595.
12. Hurt M, Mather AE, Sánchez-Basó L, Page AJ, Parkhill J, Keane JA, Harris SR (2017) ARIBA: rapid antimicrobial resistance genotyping directly from sequencing reads. Microb Genom 3: e000131.
13. Buchfink B, Xie C, Huson DH (2015) Fast and sensitive protein alignment using DIAMOND. Nat Methods 12: 59–60.
14. Yoshimura D, Kajitani R, Gotob Y, Katakira K, Okuno M, Ogura Y, Hayashi T, Itoh T (2019) Evaluation of SNP calling methods for closely related bacterial isolates and a novel high-accuracy pipeline: BactSNP. Microb Genom 5: e000261.
15. Koslov AM, Darriba D, Flouri T, Morel B, Stamatakis A (2019) RAxML-NG: a fast, scalable and user-friendly tool for maximum likelihood phylogenetic inference. Bioinformatics 35: 4453–4455.
16. Croucher NJ, Page AJ, Connor TR, Delaney AJ, Keane JA, Bentley SD, Parkhill J, Harris SR (2015) Rapid phylogenetic analysis of large samples of recombinant bacterial whole-genome sequences using Gubbins. Nucleic Acids Res 43: e15.
17. Beghain J, Bridier-Nahmias A, Le Nagard H, Deromir E, Clermont O (2018) Clermon typing: an easy-to-use and accurate in silico method for *Escherichia* genus strain phylotyping. Microb Genom 4: e000192.
18. Rolain JM (2013) Food and human gut as reservoirs of transferable antibiotic resistance encoding genes. Front Microbiol 4 Suppl 173: 1–10.
19. Merino S, Camprubí S, Albert S, Benedi VJ, Tomas JM (1992) Mechanisms of *Klebsiella pneumoniae* resistance to complement-mediated killing. Infect Immun 60 Suppl 6: 2529–2535.
20. Belbel Z, Chettibi H, Dekhil M, Ladjama A, Nedjai S, Rolain JM (2014) Outbreak of an *arnA* methyl transferase-producing ST39 *Klebsiella pneumoniae* clone in a pediatric Algerian Hospital. Microb Drug Resist 20: 310–315.
21. Rodríguez-Martínez JM, Cano ME, Velasco C, Martínez-Martínez L, Pascual A (2011) Plasmid mediated quinolone resistance: an update. J Infect Chemother 17: 149–182.
22. Woodford N, Tarron JF, Livermore DM (2011) Multiresistant Gram-negative bacteria: the role of high-risk clones in the dissemination of antibiotic resistance. FEMS Microbiol Rev 35 Suppl 5: 736–55.

23. Merah-Fergani O, Sebailia M, Berrazeg M, Amraoui R, M. Diene S, Rolain JM (2022) Occurrence and diversity of extended-spectrum β -lactamases in clinical isolates of Enterobacteriaceae in a tertiary care hospital in Algeria. *J Infect Dis Antimicrob Agents* 39 Suppl 1: 1-14.
24. Abderrahim A, Djahni N, Loucif L, Nodjai S, Chelaghma W, Gameci-Kirane D, Dekhal M, Lavigne JP, Pantel A (2022) Dissemination of OXA-48 and NDM-1 producing Enterobacterales isolates in an Algerian hospital. *Antibiotics* 11: 750.
25. Babafela B, Awosile, Michael A, Oluwawemimo A, Oluwabenga K, Ezekiel O (2022) Beta-lactamase resistance genes in Enterobacteriaceae from Nigeria. *Afr J Lab Med* 11 Suppl 1: a1371.
26. Zemmour A, Dali-Yahia R, Mustallah M, Saïdi-Ouahran N, Rahmani B, Benhamouche N, Al-Farsi HM, Giske CG (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: e0254805.
27. Zahid SA (2015) Identification of *blaOXA-1* genes in *Klebsiella* isolated from urinary tract infections. *International Journal of Advanced Research* 3 Suppl 3: 947-950.
28. Mesli E, Berrazeg M, Drissi M, Bekkhoucha SN, Rolain JM (2013) Prevalence of carbapenemase-encoding genes including New Delhi metallo-lactamase in *Acinetobacter* species, Algeria. *Int J Infect Dis* 17: 739–743.
29. Asma S, Lotfi L, Gupta SK, Mazouz D, Houria C, Jean-Marc R (2014) NDM-5 carbapenemase-encoding gene in multidrug-resistant clinical isolates of *Escherichia coli* from Algeria. *Antimicrobial Agents Chemother* 58 Suppl 9: 5606-5608.
30. Nabti LZ, Sahli F, Okrou-OA, Benslama A, Harrar A, Lupande-MD, Diene SM, and Rolain JM (2022) Molecular characterization of clinical carbapenem-resistant Enterobacteriaceae isolates from Sétif, Algeria. *Microb Drug Resist* 28: 274-279.
31. Dagher TN, Azar E, Al-Bayssari C, Chamieh SA, and Rolain JM (2019) First detection of colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae* in association with NDM-5 carbapenemase isolated from clinical Lebanese patients. *Microb Drug Resist* 25: 925-930.
32. Loucif L, Chelaghma W, Cherak Z, Bendiana E, Beroual F, Rolain JM (2022) Detection of NDM-5 and MCR-1 antibiotic resistance encoding genes in Enterobacterales in long-distance migratory bird species *Ciconia ciconia*, Algeria. *Sci Total Environ* 814: 152861.
33. Youafi M, Mairi A, Bakour S, Touati A, Hassissen L, Hadjadj L, Rolain JM (2015) First report of NDM-5-producing *Escherichia coli* ST1284 isolated from dog in Bejaia, Algeria. *New Microbes New Infect* 8: 17–18.
34. Horsley M, Phee L, Wareham DW (2011) A novel variant, NDM-5, of the New Delhi metallo- β -lactamase in a multidrug-resistant *Escherichia coli* ST648 isolate recovered from a patient in the United Kingdom. *Antimicrob Agents Chemother* 55: 5952–5954.
35. Meradi L, Djahoudi A, Abdi A, Bouchakour M, Perrier Gros Claude JD, Timinouni M (2011) *Qnr* and *aac* (β)-*lb-cr* types quinolone resistance among Enterobacteriaceae isolated in Annaba, Algeria. *Pathol Biol* 59: e73-78.
36. Touati A, Braïme L, Benalloua S, Gharout A, Madoux J, De Champs C (2008) First report of *qnrB*-producing *Enterobacter cloacae* and *qnrA*-producing *Acinetobacter baumannii* recovered from Algerian hospitals. *Diagn Microbiol Infect Dis* 60: 287–290.
37. Poirel L, Gutiérrez C, Levaudier C, Nordmann P, Cordeir NF, Pirez LA, Seij V, Bazet C, Rieppi G, Vignoli R (2006) prevalence and genetic analysis of plasmid mediated quinolone resistance determinants *Qnr A* and *Qnr S* in Enterobacteriaceae isolates from a French university hospital. *Antimicrob Agents Chemother* 50: 3992–3997.
38. Bado I, Gutiérrez C, Garcia-Fulgueiras V, Garcia-Fulgueiras V, Coscino NF, Pirez LA, Veronica Seija, Bazet C, Rieppi G, Vignoli R (2016) *CTX-M-15* in combination with *aac(6)-Ib-cr* is the most prevalent mechanism of resistance both in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*, including *K. pneumoniae* ST258, in an ICU in Uruguay. *J Glob Antimicrob Resist* 6: 5–9.
39. Yakout MA, Ghada HA (2022) A novel *parC* mutation potentiating fluoroquinolone resistance in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* clinical isolates. *J Infect Dev Ctries* 16 Suppl 2: 314-319. doi: 10.3855/jidc.15142.
40. Gu Y, Zhang J, Yu Y, Zhou Z, Du X (2004) Drug-resistant mechanisms and prevalence of *Enterobacter cloacae* resistant to multi-antibiotics. *Chin J Nosocomiol* 14: 1321–1324.
41. Yanat B, Machuca J, Díaz-De-Alba P, Mezoud H, Touati A, Pascual Á (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. *Microb Drug Resist* 23: 90-97.
42. Yanat B, Rodríguez-Martínez JM, Touati A (2017) Plasmid-mediated quinolone resistance in Enterobacteriaceae: a systematic review with a focus on Mediterranean countries. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 36: 421-435.
43. Ioannis K, Eleni V, Zoi DP, and Athanasios T (2021) *Acinetobacter baumannii* antibiotic resistance mechanisms. *Pathogens* 10: 373.
44. Aggoune N, Tali-Maamar H, Assaouf F, Benamrouche N, Naim M, Rahal K (2014) Emergence of plasmid mediated carbapenemase OXA-48 in a *Klebsiella pneumoniae* strain in Algeria. *J Glob Antimicrob Resist* 2: 327-329.
45. Cheng G, Hu Y, Yin Y, Yang X, Xiang C, Wang B, Chen Y, Yang F, Lei F, Wu N, Lu N, Li J, Chen Q, Li L, Zhu B (2012) Functional screening of antibiotic resistance genes from human gut microbiota reveals a novel gene fusion. *FEMS Microbiol Lett* 336: 11–16.
46. Habeeb MA, Haque A, Nematzadeh S, Iversen A, Giske CG (2013) High prevalence of 16S rRNA methylase *RmtB* among CTX-M extended spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* from Islamabad, Pakistan. *Int J Antimicrob Agents* 41: 524–526.
47. Castanheira M, Farrell SE, Wanger A, Robston KV, Jones RN, Mendes RE (2013) Rapid expansion of KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in two Texas hospitals due to clonal spread of ST258 and ST307 lineages. *Microb Drug Resist* 19: 295–297.
48. Bonura C, Giuffrè M, Aleo A, Fasciana T, Di Bernardo F, Stampone T, Giannanco A, Palma DM, Maramba C, MDR-GN Working Group (2015) An update of the evolving epidemic of *blaKPC* carrying *Klebsiella pneumoniae* in Sicily, Italy, 2014: emergence of multiple non-ST258 clones. *PLoS One* 10: e0132936.
49. Park DI, Yu JK, Park EG, Park YI (2015) Genotypes of ciprofloxacin resistant *Klebsiella pneumoniae* in Korea and their characteristics according to the genetic lineages. *Microb Drug Resist* 21: 622–630.

50. Mansour W, Grami R, Ben Haj Khalifa A, Dahmen S, Chatre P, Haenni M, Aouni M, Madec JY (2015) Dissemination of multidrug-resistant *bla*_{CTXM-15}/*IncFIIk* plasmids in *Klebsiella pneumoniae* isolates from hospital and community-acquired human infections in Tunisia. *Diagn Microbiol Infect Dis* 83: 298–304.
51. Ocampo AM, Chen L, Cienfuegos AV, Roncancio G, Chavda KD, Kreiswirth BN, Jimenez JN (2016) A two-year surveillance in five Colombian tertiary care hospitals reveals high frequency of non-CG258 clones of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* with distinct clinical characteristics. *Antimicrob Agents Chemother* 60: 332–342.
52. Ruiz-Garbajosa P, Hernández-García M, Beatobe L, Tato M, Méndez MI, Grandal M, Aranzábal L, Alonso S, López MÁ, Astray J, Cantón R (2016) A single-day point-prevalence study of faecal carriers in long-term care hospitals in Madrid (Spain) depicts a complex clonal and polyclonal dissemination of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother* 71: 348–352.
53. Lazareva IV, Ageevets VA, Ershova TA, Zueva LP, Goncharov AE, Darina MG, Svetlichnaya YS, Uskov AN, Sidorenko SV (2016) Prevalence and antibiotic resistance of carbapenemase-producing Gram-negative bacteria in Saint Petersburg and some other regions of the Russian federation. *Antibiot Khimioter* 61: 28–38.
54. Dropa M, Lincopan N, Balsalobre LC, Oliveira DE, Moura RA, Fernandes MR, da Silva QM, Matté GR, Sato MIZ, Matté MH (2016) Genetic background of novel sequence types of CTX-M-8- and CTX-M-15-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* from public wastewater treatment plants in Sao Paulo, Brazil. *Environ Sci Pollut Res Int* 23: 4953–4958.
55. Harada K, Shimizu T, Mukai Y, Kuwajima K, Sato T, Usui M, Tamura Y, Kimura Y, Miyamoto T, Tsuyuki Y, Ohki A, Kataoka Y (2016) Phenotypic and molecular characterization of antimicrobial resistance in *Klebsiella* spp. isolates from companion animals in Japan: clonal dissemination of multidrug-resistant extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Front Microbiol* 7: 1021.
56. Schauler K, Nowak K, Dux A, Semmler T, Villa L, Kourouma L, Bangoura K, Wieler LH, Leendertz FH and Guenther S (2018) Clinically relevant ESBL-producing *K. pneumoniae* ST307 and *E. coli* ST38 in an urban West African rat population. *Front Microbiol* 9: 150.
57. Loncaric I, Cabal Rosel A, Szostak MP, Licka T, Allerberger F, Ruppitsch W, Spargser J (2020) Broad-spectrum cephalosporin-resistant *Klebsiella* spp isolated from diseased horses in Austria. *Animals* 10: 332.
58. Pitout JDD, Finn TJ (2020) The evolutionary puzzle of *Escherichia coli* ST131. *Infect Genet Evol* 81: 104265.
59. Strydom KA, Chen L, Kock MM, Stoltz AC, Peirano G, Nobrega DB, Lowe M, Ehlers MM, Mbelle NM, Kreiswirth BN, Pitout JDD (2020) *Klebsiella pneumoniae* ST307 with OXA-181: threat of a high-risk clone and promiscuous plasmid in a resource-constrained healthcare setting. *J Antimicrob Chemother* 75: 896–902.
60. Gisele Peirano, Liang Chen, Barry N. Kreiswirth, Johann D, D Pitouta (2020) Emerging antimicrobial-resistant high-risk *Klebsiella pneumoniae* clones ST307 and ST147. *Antimicrob Agents Chemother* 64 Suppl 10: e01148-20.

Corresponding author

Dr Amina Rahmani

7 Rue Hih El Mekki, Ain Beida, Algeria

Tel.: +213-542898529

Email: aminarahmani311@gmail.com; amina.rahmani@univ-oeb.dz

Conflict of interests: No conflict of interests is declared.