

République algérienne démocratique et populaire

Ministère de l'enseignement supérieur

Et de la recherche scientifique



Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou

Faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master en sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Département : Biochimie et microbiologie

**Recherche et identification biochimique des entérocoques
dans les hémocultures au CHU Nedir Mohamed de Tizi
Ouzou : résistance des isolats aux antibiotiques**

Réalisé par :

M^{elle} CHERCHEM Samia et M^{elle} CHENDER Lina

Soutenu le : 23-06-2025, présenté devant le jury :

M ^{me} ASMANI K.	MCA	Présidente
Mr. TITOUCHE Y.	MCA	Promoteur
M ^{me} CHERIFI L.	MMAM	Co-promotrice
M ^{elle} DERMECHE S.	MCB	Examinatrice

Année universitaire : 2024 / 2025

Remerciements

Il y a des parcours que l'on n'accomplit jamais seules. Derrière chaque réussite, il y a des mains tendues, des regards bienveillants, des présences discrètes, et des voix qui, parfois dans l'ombre, nous ont portées. Ce mémoire est bien plus qu'un travail scientifique ; il est le fruit d'un chemin tissé de confiance, de patience et de liens humains forts.

Avant toute chose, nous rendons grâce à Dieu Tout-Puissant, pour Sa lumière dans les moments d'incertitude, pour la force qu'Il nous a insufflée dans les épreuves, et pour avoir veillé sur chacun de nos pas jusqu'à l'achèvement de ce travail.

Nos remerciements les plus sincères s'adressent à **Monsieur TITOUCHE**, notre encadrant, dont les conseils avisés et la rigueur intellectuelle ont jalonné chaque étape de ce mémoire. Merci pour votre patience, votre disponibilité, et votre confiance discrète mais constante.

Nous tenons également à exprimer notre gratitude aux membres du **jury** qui ont bien voulu évaluer notre travail.

Nos remerciements chaleureux vont à **Madame ASMANI**, présidente du jury, pour sa bienveillance et l'attention portée à ce travail.

Nous remercions aussi **Mademoiselle DERMECHE**, examinatrice, pour ses observations constructives et son intérêt pour notre étude.

Nous remercions sincèrement le personnel du **laboratoire de microbiologie du CHU Nedir Mohamed de Tizi-Ouzou**, pour leur accueil chaleureux, leur disponibilité et leur accompagnement durant notre stage.

Nos pensées vont également à **l'ensemble de nos enseignants du département de microbiologie**. Vous êtes ceux qui ont éveillé notre curiosité scientifique et cultivé notre rigueur intellectuelle.

À **nos familles**, et particulièrement à **nos parents**, merci pour votre amour, vos sacrifices et votre présence constante. Vous êtes notre force et notre ancrage.

Enfin, à **nos amis et camarades**, merci pour les moments partagés, les encouragements et les sourires complices. Ce parcours, nous l'avons traversé ensemble.

À chacun d'entre vous, **merci**. Ce mémoire vous appartient autant qu'à nous.

Dédicaces

À mes parents adorés, dont l'amour a été le socle sur lequel j'ai bâti mes rêves et mes ambitions. Vos sacrifices silencieux, vos encouragements infatigables et votre foi inébranlable en moi ont été mes plus précieux soutiens. Chaque page de ce mémoire porte l'empreinte de votre dévouement et de votre soutien inconditionnel. Cette réussite est le fruit de vos efforts autant que des miens, et je vous en suis éternellement reconnaissant.

À mes frères et à ma sœur, mes premiers amis, mes confidents de toujours. Votre présence à mes côtés, vos encouragements fraternels et votre soutien moral ont été une source de motivation inestimable. Partager cette étape avec vous rend cette réussite encore plus significative. Merci d'avoir cru en moi et d'avoir toujours été là.

Lina

Je dédie ce mémoire à :

*À mes chers parents, dont l'amour et la patience ont été les fondations
de mon parcours.*

À mon père, pour sa sagesse discrète et sa force tranquille.

*À ma mère, pour sa lumière, ses encouragements et sa foi en moi,
même dans mes silences.*

*À mes frères, mes complices de toujours, pour leurs rires, leur
présence et leur soutien sans faille.*

*À mes amis, pour leur bienveillance et leurs mots qui ont su apaiser
les doutes.*

À tous ceux qui ont, à leur manière, semé une graine dans ce chemin.

*Ce mémoire porte l'empreinte de ma gratitude pour votre présence,
votre amour et votre confiance.*

Samia

Résumé

La propagation des entérocoques multirésistants, bactéries opportunistes de la flore intestinale, représente un enjeu majeur de santé publique en raison des infections qu'ils peuvent provoquer et de leur difficulté d'éradication.

Cette étude, réalisée au sein du laboratoire de microbiologie du CHU Nedir Mohamed de Tizi-Ouzou, durant une période de six semaines, allant du 1er février au 15 mars 2025. Au cours de cette période, 600 prélèvements ont été enregistrés. Afin d'enrichir l'analyse et d'obtenir des résultats plus représentatifs de la réalité du terrain, une approche rétrospective a été adoptée, étendant ainsi la période d'étude à trois mois et portant le nombre total de prélèvements à 1600.

Le travail s'est concentré sur la prévalence et le profil de résistance des entérocoques isolés à partir d'hémocultures. Ceux-ci provenaient de différents services hospitaliers. Une fois recueillis, les échantillons ont été analysés en vue de détecter la présence d'entérocoques. Leur isolement a été réalisé sur gélose au sang (fraîche ou cuite), avant de procéder à une purification, puis à une identification biochimique des souches. Enfin, leur sensibilité aux antibiotiques a été évaluée à l'aide de la méthode de diffusion sur gélose Mueller-Hinton ou à l'aide du système automatisé VITEK.

L'identification biochimique a permis de détecter 25 souches d'*Enterococcus*, représentant une fréquence de 1,56 %, dont 63 % étaient des *E. faecalis* et 37 % des *E. faecium*. Les souches isolées ont montré une résistance totale (100 %) à plusieurs antibiotiques, notamment la céfotaxime, l'oxacilline, la clindamycine, le sulfaméthoxazole, le quinupristine et le dalfopristine. Une résistance élevée a également été observée à la pristinamycine (75 %), l'imipénème, l'érythromycine et la rifampicine (67 %). En revanche, des taux de résistance plus faibles ont été notés pour la gentamicine (27 %), la pénicilline et la streptomycine (18 %). Les souches se sont montrées sensibles à certains antibiotiques tels que la vancomycine, la linézolide, la nitrofurantoïne, la doxycycline, la tigécycline et la ceftazidime.

Ces résultats mettent en avant la nécessité d'un usage éclairé des antibiotiques et d'un renforcement des pratiques d'hygiène hospitalière pour limiter l'évolution des souches multirésistantes et préserver l'efficacité des agents antimicrobiens.

Mots clés : *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, antibiotiques, hémocultures, profil de résistance.

Abstract

The spread of multidrug-resistant enterococci, opportunistic bacteria in the intestinal flora, represents a major public health issue due to the infections they can cause and the difficulty of eradicating them.

This study was conducted in the microbiology laboratory of the Nedir Mohamed University Hospital in Tizi-Ouzou over a six-week period, from February 1 to March 15, 2025. During this period, 600 samples were collected. To enhance the analysis and obtain results more representative of the reality on the ground, a retrospective approach was adopted, extending the study period to three months and bringing the total number of samples to 1,600.

The study focused on the prevalence and resistance profile of enterococci isolated from blood cultures. These samples came from different hospital departments. Once collected, the samples were analyzed for the presence of enterococci. Their isolation was performed on blood agar (fresh or cooked), followed by purification and biochemical identification of the strains. Finally, their antibiotic susceptibility was assessed using the Mueller-Hinton agar diffusion method or the automated VITEK system.

Biochemical identification detected 25 *Enterococcus* strains, representing a frequency of 1.56%, of which 63% were *E. faecalis* and 37% were *E. faecium*. The isolated strains showed complete resistance (100%) to several antibiotics, including cefotaxime, oxacillin, clindamycin, sulfamethoxazole, quinupristin, and dalfopristin. High resistance was also observed to pristinamycin (75%), imipenem, erythromycin, and rifampicin (67%). In contrast, lower resistance rates were noted for gentamicin (27%), penicillin, and streptomycin (18%). The strains were sensitive to certain antibiotics such as vancomycin, linezolid, nitrofurantoin, doxycycline, tigecycline, and ceftazidime.

These results highlight the need for informed antibiotic use and strengthened hospital hygiene practices to limit the development of multidrug-resistant strains and preserve the efficacy of antimicrobial agents.

Keywords : *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, antibiotics, blood cultures, resistance profile.

Liste d'abréviations

- AARN** : Réseau national de surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques
- Ace** : Adhésine au collagène d'*Enterococcus*
- Acm** : Adhésine au collagène d'*Enterococcus faecium*
- Agg** : Substance d'agrégation
- CAC** : Centre d'accueil et de crise
- CMI** : Concentration minimale inhibitrice
- Cyl** : Cytolysine
- EBP** : Pili associé à l'endocardite et au biofilm
- EfaA** : Antigène spécifique de l'endocardite
- EPA** : Antigène polysaccharidique entérocoque
- ERV** : Entérocoques résistants à la vancomycine
- ESP** : Protéines extracellulaires de surface
- Fsr** : Système de régulation génétique
- GeIE** : Gélatinase
- GSC** : Gélose au sang cuit
- GSF** : Gélose au sang frais
- LAB** : Bactéries Lactiques
- LPS** : Lipopolysaccharide
- MFS** : Superfamille des transporteurs facilitateurs majeurs
- MRS** : Milieu de culture sélectif utilisé pour isoler et cultiver les bactéries lactiques, notamment les lactobacilles.
- MSCRAMM** : Composants de surface microbienne reconnaissant les molécules adhésives de la matrice
- NHSN** : Hôpital du réseau national de sécurité des soins de santé
- ORF** : Cadre de lecture ouvert
- PAI** : Ilots de pathogénicité
- PLB** : Les protéines liant les bêtalactamines
- PLP / PBP** : La protéine de liaison à la pénicilline
- QS** : Mécanisme de communication bactérienne qui régule l'expression de certains gènes en fonction de la densité cellulaire.
- SagA** : Antigène A sécrété
- Scm** : Deuxième adhésine au collagène d'*Enterococcus faecium*

SprE : Sérine protéase

THG : Transfert horizontal de gènes

TS : Gélose Trypticase-Soja enrichie en sang

UP : Undécaprénylphosphate.

Liste des figures

Figure 1: Morphologie en microscopie électronique à balayage d'une souche d' <i>Enterococcus faecalis</i>	4
Figure 2: Aspect macroscopique d' <i>E faecalis</i> sur gélose au sang	6
Figure 3: modèle d'expression de la cytolysine d' <i>Enterococcus faecalis</i>	14
Figure 4: Étapes de la formation et de la dispersion d'un biofilm d' <i>Enterococcus faecalis</i> .	18
Figure 5: Historique de la résistance des entérocoques aux antibiotiques	21
Figure 6: Mécanismes de résistance aux antibiotiques d' <i>Enterococcus faecium</i>	26
Figure 7: Représentation schématique des opérons de résistance aux glycopeptides : (A) opérons de type vanA, premier mécanisme décrit, et (B) opérons de type vanC impliqués dans la résistance à la vancomycine	28
Figure 8: Présentation du laboratoire de microbiologie du CHU Tizi-Ouzou.....	32
Figure 9: Flacons d'hémoculture réservés pour la méthode automatisée (A) et la méthode classique (B) (Photographies prises au laboratoire).....	33
Figure 10: BACTALERT 3D (photographie prise au laboratoire).....	34
Figure 11: Aspect macroscopique des colonies caractéristiques d' <i>Enterococcus faecium</i> sur la gélose GSF (photographie prise au laboratoire).....	45
Figure 12: Aspect macroscopique des colonies caractéristiques d' <i>Enterococcus faecalis</i> sur la gélose GSF (photographie prise au laboratoire).....	45
Figure 13: Répartition des espèces d' <i>Enterococcus faecalis</i> et d' <i>Enterococcus faecium</i> parmi les souches isolées	40
Figure 14: Nombre et pourcentage d'hémocultures positives selon le sexe des individus.....	41
Figure 15: Répartition des prélèvements d'hémocultures positives selon l'âge des individus.	41
Figure 16: Répartition des prélèvements d'hémocultures positifs selon les services de provenance	49
Figure 17: Profil de résistance d'une souche d' <i>Enterococcus faecalis</i> (A), et d' <i>Enterococcus faecium</i> (B) (photographie prise au laboratoire).	45

Liste des tableaux

Tableau I : Caractères utilisés pour différencier les bactéries à Gram positif appartenant à des germes proches des entérocoques.	6
Tableau II : Caractères d'identification de différentes espèces du genre <i>Enterococcus</i>	9
Tableau III : Résumé des facteurs de virulence en termes de caractéristiques et d'actions biologiques d' <i>E.faecalis</i>	18
Tableau IV : Principales familles antibiotiques et leurs modes d'actions	22
Tableau V : Les antibiotiques testés.....	37
Tableau VI : Nombre et pourcentage de prélèvements d'hémocultures positives et négatives par <i>Enterococcus</i> spp.	45
Tableau VII : Répartition des prélèvements positifs selon les services de provenance.	48
Tableau VIII : Résistances des souches d'entérocoques vis-à-vis des antibiotiques testés. ...	50
Tableau IX : Profil de résistance des souches d' <i>Enterococcus faecalis</i>	46
Tableau X : Profil de résistance d' <i>Enterococcus faecium</i>	47
Tableau XI : Nombre et Phénotypes des Souches multi-résistantes.....	48

Table de matière

Résumé	
Liste d'abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction.....	1

Partie bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les entérocoques

1. Historique.....	2
2. Classification et taxonomie.....	3
3. Habitat.....	3
4. Caractères bactériologiques	4
4.1. Caractères morphologiques	4
4.2. Caractères culturels	6
4.3. Caractères biochimiques.....	7
5. Rôles et applications des entérocoques	9

Chapitre II : Les Facteurs de virulences des entérocoques

1. Risques liés aux entérocoques.....	10
1.1. Épidémiologie des infections à entérocoques.....	11
1.1.1. Transmission nosocomiale.....	11
1.1.2. Impact clinique.....	12
2. Définition des Facteurs de virulence des entérocoques.....	12
3. Facteurs de virulence des entérocoques.....	13
3.1. Les facteurs sécrétés.....	13
3.1.1. Hémolysine-cytolysine.....	13
3.1.2. Antigène A sécrété.....	14
3.1.3. Gélatinase.....	14
3.1.4. Protéase à sérine.....	15
3.2. Les facteurs de virulence qui favorisent la colonisation.....	15
3.2.1. Substance d'agrégation (AS).....	15

3.2.2. Antigène spécifique de l'endocardite (EfaA).....	16
3.2.3. Protéine de surface des entérocoques (Esp).....	16
3.2.4. Protéines de liaison au collagène (Ace, Acm, Scm)	16
3.2.5. Le Pili associé à l'endocardite et au biofilm (Ebp)	17

Chapitre III : Résistance des entérocoques aux antibiotiques

1. Historique.....	20
2. Définition d'un antibiotique.....	21
3. Classification des antibiotiques.....	21
4. Résistance des bactéries aux antibiotiques.....	22
4.1. Définition de la résistance.....	22
4.1.1. Phénotype résistant.....	22
4.1.2. Phénotype sensible.....	23
4.2. Mécanismes de résistances des entérocoques.....	23
4.2.1. Imperméabilité des structures externes d'entérocoque.....	23
4.2.2. Modification de la cible des antibiotiques.....	23
4.2.3. Désactivation enzymatique des antibiotiques.....	24
4.2.4. Expulsion des antibiotiques par pompes à efflux actif.....	24
5. Mécanismes de résistance des entérocoques aux antibiotiques.....	25
5.1. Résistance aux β -lactamines.....	25
5.2. Résistance aux quinolones.....	26
5.3. Résistance aux aminoglycoside.....	26
5.4. Résistance aux glycopeptides.....	27
5.5. Résistance aux macrolides, lincosamides, streptogramines (MLS).....	28
5.6. Résistance aux tétracyclines.....	29
5.7. Autres résistances.....	29
5.7.1. Résistance au linézolide.....	29
5.7.2. Résistance au chloramphénicol.....	29
5.7.3. Résistance aux rifampicines.....	30
5.7.4. Résistance à la bacitracine.....	30

Partie pratique

I. Matériel et méthodes

1. Objectifs de l'étude.....	31
2. Présentation du lieu de stage.....	31
3. Nature du prélèvement.....	32
4. Enregistrement des échantillons.....	32
5. Incubation des hémocultures.....	32
5.1. Hémocultures destinées à un automate.....	32
5.2. Hémocultures classiques.....	33
6. Analyse bactériologique.....	33
6.1. Isolement et purification des entérocoques.....	33
6.2. Etude microscopique et identification biochimique des isolats.....	34
7. Résistance des souches aux antibiotiques.....	35
7.1. Antibiogramme standard.....	35
7.2. Antibiogramme automatisé.....	37

II. Résultats et discussion

1. Résultats.....	38
1.1. Prévalence des entérocoques.....	38
1.2. Répartition des espèces d'entérocoques parmi les souches isolées.....	39
1.3. Répartition des prélèvements d'hémocultures positives.....	39
1.3.1. selon le sexe.....	39
1.3.2. Selon l'âge des patients.....	40
1.3.3. Selon le service de provenance.....	41
1.4. Antibiorésistance des souches d'entérocoques isolées.....	42
2. Discussion.....	48
Conclusion.....	50

Références bibliographiques

Annexes

Introduction générale

Les entérocoques sont des bactéries lactiques omniprésentes, naturellement présentes dans le microbiote intestinal des mammifères à sang chaud, y compris les humains et les animaux d'élevage (Franz et al., 2011 ; Nowakiewicz et al., 2016). Ils jouent un rôle essentiel dans le maintien de l'homéostasie intestinale, notamment en régulant le pH, en produisant certaines vitamines et en métabolisant divers nutriments essentiels (Giraffa, 2002 ; Galvez et al., 2012). De plus, leur capacité à inhiber les bactéries pathogènes contribue à renforcer la barrière intestinale, jouant ainsi un rôle protecteur contre diverses infections (Arias et al., 2012).

Cependant, certaines espèces, en particulier *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium*, présentent un potentiel pathogène opportuniste (Monticelli et al., 2018). Ces bactéries sont impliquées dans des infections variées chez l'homme, telles que les bactériémies, les infections urinaires, les endocardites et les infections de plaies chirurgicales (Sakka et al., 2008). Leur capacité croissante à développer une résistance aux antibiotiques, notamment aux glycopeptides comme la vancomycine, constitue aujourd'hui une préoccupation majeure pour la santé publique (Garcia et al., 2019).

En milieu hospitalier, les entérocoques sont particulièrement redoutés en raison de leur implication dans les infections nosocomiales. Leur grande plasticité génétique leur permet d'acquérir et d'échanger des gènes de résistance et de virulence, rendant leur prise en charge thérapeutique de plus en plus complexe (Garcia et al., 2019). Leur persistance sur les surfaces inertes, les dispositifs médicaux, ainsi que leur capacité à former des biofilms, renforcent leur résistance aux traitements antimicrobiens (Monticelli et al., 2018 ; Ramos et al., 2020).

Face à ces enjeux, une meilleure compréhension des entérocoques dans le contexte hospitalier est indispensable pour suivre leur évolution, anticiper les résistances émergentes et adapter les stratégies thérapeutiques.

Le présent mémoire s'inscrit dans cette perspective. Il est structuré en deux grandes parties : une partie bibliographique, composée de trois chapitres. Le premier chapitre est consacré aux généralités sur les entérocoques, leur classification, leurs caractéristiques biologiques et leur rôle dans le microbiote. Le deuxième chapitre aborde les facteurs de virulence propres à ces bactéries, mettant en lumière les mécanismes leur permettant de devenir pathogènes. Le troisième chapitre, enfin, traite de leur résistance aux antibiotiques, un aspect central dans la problématique actuelle des infections nosocomiales, et une partie pratique, articulée autour de deux volets : le matériel et les méthodes utilisées pour l'isolement, l'identification et l'étude de la sensibilité des souches ; puis les résultats et leur interprétation, portant sur les entérocoques

isolés à partir d'hémocultures provenant des différents services du CHU de Tizi-Ouzou, avec une analyse de leur profil de résistance.

Cette étude vise, à travers une approche rétrospective, à mieux cerner la prévalence des entérocoques dans les infections sanguines et à contribuer à l'amélioration des stratégies de prévention et de traitement adaptées aux réalités du terrain.



Partie bibliographique

Chapitre 01 : Généralités sur les entérocoques

1.1 Historique

L'histoire des entérocoques débute en 1899 avec la découverte de ces bactéries par Thiercelin. Ce chercheur a été le premier à les décrire comme des commensales intestinales, tout en présentant leur potentiel pathogène. Initialement classées parmi les streptocoques, notamment *Streptococcus faecalis* et *Streptococcus faecium* décrites respectivement en 1906 et 1919, leur statut taxonomique a évolué au fil du temps. Ce n'est qu'en 1984, grâce à des analyses comparatives approfondies de l'ARN ribosomique 16S et des expériences d'hybridation ADN-ADN, que leur singularité génétique a été reconnue (Facklam et al., 2002). Ces études ont révélé des différences significatives avec les streptocoques, justifiant la création du genre *Enterococcus*, tel que nous le connaissons aujourd'hui. Depuis, la taxonomie du genre a connu une considérable extension, telle que les progrès technologiques et les avancées scientifiques. Le genre *Enterococcus* compte actuellement plus de 60 espèces décrites. On en parle même de plus de 70 espèces si l'on considère des espèces proposées mais pas encore validées. Cette diversité prouve leur exceptionnelle faculté d'adaptation à des milieux divers (Gänzle et al., 2014).

Les entérocoques se distinguent par plusieurs caractéristiques uniques. Leur aptitude à échanger du matériel génétique, combinée à une plasticité génomique élevée, favorise une évolution rapide et une adaptation à des niches variées. Ces mécanismes leur permettent notamment de développer des résistances aux antibiotiques, posant un défi majeur dans le domaine médical. La famille des Enterococcaceae, établie en 2009, englobe d'autres genres tels que *Vagococcus*, *Tetragenococcus* et *Melissococcus* (Willems et al., 2012). Bien que distincts, ces genres partagent certaines caractéristiques avec les entérocoques, notamment leur appartenance à l'ordre des Lactobacillales. Cet ordre regroupe des bactéries ayant des propriétés fonctionnelles essentielles, retrouvées dans d'autres familles d'importance médicale et économique. L'analyse des génomes d'entérocoques a révélé une complexité fonctionnelle et adaptative remarquable. La présence de 567 groupes orthologues prédits témoigne de cette richesse génétique, soulignant leur capacité à interagir avec divers environnements et à développer des stratégies de survie sophistiquées (Lebreton et al., 2014).

1.2. Classification et taxonomie

Pendant une longue période, les entérocoques ont été classés au sein du genre *Streptococcus*. Cependant, en 1970, Kalina a proposé de les reclasser dans un nouveau genre distinct, *Enterococcus*. Cette proposition a été largement acceptée suite à la confirmation des différences entre les entérocoques et les autres streptocoques par des études moléculaires et chimio taxonomiques (Schleifer et al., 1984). La séparation du genre *Enterococcus* du genre *Streptococcus* a entraîné le transfert de plusieurs espèces, qui appartenaient auparavant au genre *Streptococcus*, vers le genre *Enterococcus*. Ce transfert a été basé sur des données de biologie moléculaire et de nouvelles techniques telles que :

- La détermination des pourcentages de bases Guanine + Cytosine (C+G) ;
- Le séquençage de l'ARN 16S (Ludwig et al., 1987) ;
- L'hybridation ADN-ADN (Schleifer et al., 1984).

Selon le Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (2009), le genre *Enterococcus* est classé comme suit ;

- Domaine : Bacteria (ou Eubacteria).
- Division : Firmicutes.
- Classe : Bacilli.
- Ordre : Lactobacillales.
- Famille : Enterococcaceae.
- Genre : *Enterococcus*.

1.3. Habitat

Les entérocoques sont des bactéries lactiques (LAB) ubiquistes, principalement localisées dans le tractus gastro-intestinal des humains et des animaux à sang chaud, où elles représentent environ 1 % de la flore intestinale (Hanachi, 2018 ; Galvez et al., 2012 ; Sghir et al., 2000). Leur forte capacité d'adaptation leur permet de coloniser divers milieux, y compris les sols, les plantes, les eaux et les environnements hospitaliers (Klein, 2003 ; Gilmore et al., 2013). *Enterococcus faecalis* est l'espèce la plus fréquemment isolée en clinique, suivi de *E. faecium* et *E. durans* (Kayse, 2003).

Leur persistance sur les surfaces inertes et les dispositifs médicaux, ainsi que leur aptitude à former des biofilms et à acquérir des gènes de résistance, compliquent leur gestion en milieu hospitalier (Giraffa, 2002 ; Roberts et al., 2016 ; Pimenta et al., 2007). En plus du tractus digestif, ces bactéries peuvent coloniser d'autres sites corporels comme la bouche, les voies respiratoires ou le système urogénital (Schloissnig et al., 2016), et leur dissémination fécale, associée à leur résistance naturelle, représente un défi majeur pour le contrôle des infections nosocomiales (Roberts et al., 2016).

1.4. Caractères bactériologiques

1.4.1. Caractères morphologiques

Les entérocoques sont des cocci Gram positif, catalase négative, aéro-anaérobies facultatifs, généralement observés en diplocoques, en courtes chaînettes ou isolés (Figure1). Ils sont immobiles (à l'exception de *E. casseliflavus* et *E. gallinarum*, mobiles à 30 °C) et dépourvus de capsule. Leur morphologie microscopique, proche de celle des streptocoques et lactocoques, ne permet pas de les différencier des autres cocci à Gram positif comme *Leuconostoc*, *Pediococcus* ou *Peptostreptococcus*. Les principales espèces pathogènes, *E. faecalis* et *E. faecium*, présentent une température optimale de croissance autour de 35 °C (Horaud et al., 1990).

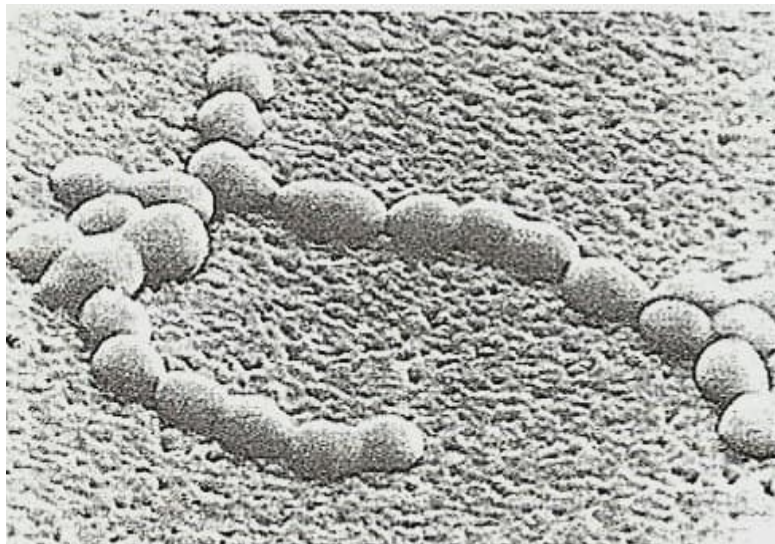


Figure 1: Morphologie en microscopie électronique à balayage d'une souche d'*Enterococcus faecalis* (singleton, 2005).

Les principaux caractères de différenciation de ces différents genres sont résumés dans le tableau I.

Généralités sur les entérocoques ▬

Tableau I : Caractères utilisés pour différencier les bactéries à Gram positif appartenant à des genres proches des entérocoques (Horaud et al., 1990).

Test	<i>Enterococcus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Lactococcus</i>	<i>Aerococcus</i>	<i>Gemella</i>	<i>Lactobacillus</i>
Morphologie (b)	+	+	+	+	+	+
Coccobacilles	-	-	-	-	-	-
Bacilles	-	-	-	-	-	-
Groupement	+	+	+	+	+	+
Chaînes	-	-	-	-	-	-
Paires	-	-	-	-	-	(c)
Tétrades et amas	+	-	-	-	-	+
Croissance en milieu 6.5% NaCl	+	-	-	-	-	-
Bile esculine	+	-	-	-	-	-
Production de gaz en milieu MRS	-	-	-	-	-	R
Vancomycine	S	S	S	S	S	RS
Groupe de Lancefield	D	D	D	A-V (d)	N	-
Production de Pseudouridimycérase	+(e)	-	-	-	-	-

(a) : Modifié d'après Facklam et coll. Abréviations : + positif, - négatif, réaction variable, S sensibilité à la vancomycine (présence d'une zone d'inhibition), R résistance à la vancomycine (absence de zone d'inhibition)
 (b) : Déterminée après incubation de 24 à 48 h en bouillon thioglycolate
 (c) : Rares exceptions
 (d) : Groupes de Lancefield A à V
 (e) : Positif pour : *Streptococcus pyogenes*, *S. adjacens* et *S. defectivus* et *Lactococcus garviae* et négatif pour toutes les autres espèces.

1.4.2. Caractères cultureux

Les bactéries du genre *Enterococcus* sont peu exigeantes en termes de facteurs de croissance et se développent facilement sur des milieux nutritifs ordinaires, tels que la gélose Trypticase-Soja (TS) enrichie en sang. Mésophiles, elles croissent dans une plage de température comprise entre 10 et 45°C, avec une température optimale de 35°C. Elles sont particulièrement résistantes, survivant à des traitements thermiques de 60°C pendant 30 minutes, ce qui contribue à leur persistance dans l'environnement (Jawetz et al., 2016). Les entérocoques peuvent se développer dans diverses conditions respiratoires : anaérobies, aérobies ou microaérophiles (avec l'ajout de 5 % de CO₂). Leur pH optimal de croissance se situe entre 7,2 et 7,4 (Vancanneyt et al., 2004). Les colonies des entérocoques sont généralement de taille moyenne (Figure 2), variant de 0,5 à 1,5 mm de diamètre, légèrement bombées, et de couleur blanche à grise (Aguilar-Galvez, 2012). La plupart des souches d'entérocoques sont non hémolytiques, bien qu'une légère hémolyse puisse être observée après 48 à 72 heures d'incubation. Certaines espèces, comme *E. faecalis* et *E. durans*, peuvent occasionnellement produire une faible hémolyse de type β (Denis, 2011). Pour la sélection des entérocoques à partir de prélèvements polymicrobiens, certains milieux sélectifs sont utilisés tels que la gélose bile esculine azide et la gélose ChromID™ VRE (Murray et al., 2020).

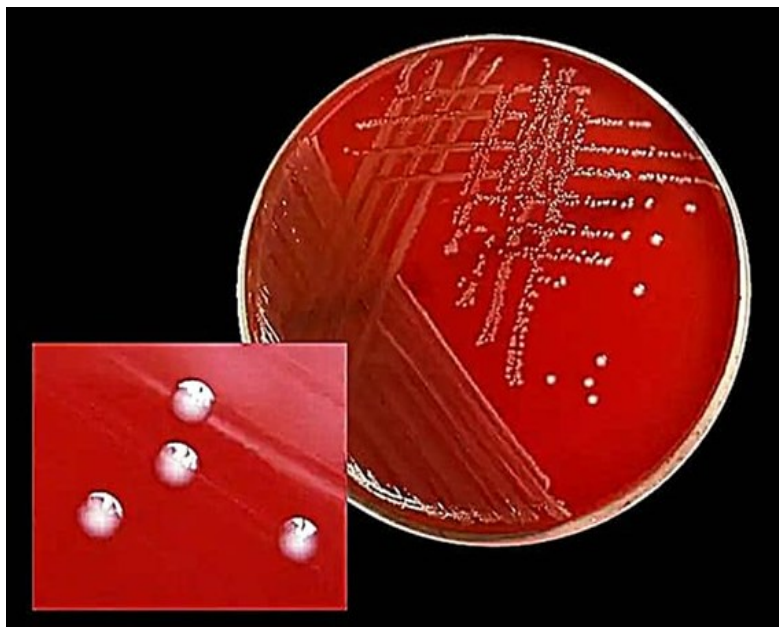


Figure 2: Aspect macroscopique d'*E faecalis* sur gélose au sang (Swetha et al., 2021).

1.4.3 Caractères biochimiques

Les entérocoques, bactéries Gram positif aéro-anaérobies facultatives, sont des hôtes habituels du microbiote intestinal humain, où leur concentration varie typiquement entre 10^5 à 10^8 ufc/g de contenu intestinal (LE BLANC, 2006). Le diagnostic des entérocoques repose sur plusieurs caractéristiques biochimiques distinctives. Ces bactéries sont chimio-organotrophes, utilisant des composés organiques comme source d'énergie. Elles sont généralement négatives pour la catalase, une enzyme qui décompose le peroxyde d'hydrogène, bien que certaines espèces possèdent une activité pseudo-catalase. De plus, elles sont négatives pour l'oxydase, une enzyme impliquée dans la respiration aérobie. Sur le plan métabolique, elles ne produisent ni indole, ni sulfure d'hydrogène H_2S . Leur test de Voges-Proskauer est positif, indiquant la production d'acétoïne, un métabolite de fermentation. Elles sont homofermentaires, produisant majoritairement de l'acide lactique lors de la fermentation des sucres (Le Blanc, 2006).

Les principaux caractères d'identification de différentes espèces du genre *Enterococcus* sont résumés dans le tableau II.

Généralités sur les entérocoques

Tableau II: Caractères d'identification de différentes espèces du genre *Enterococcus* (Freney et al., 1992).

Test	<i>E. faecalis</i> (a)	<i>E.</i> <i>gallinarum</i>	<i>E. faecium</i> (b)	<i>E.</i> <i>casseliflavus</i>	<i>E. mundtii</i>	<i>E.</i> <i>durans</i>	<i>E. avium</i>
Mobilité	-	-	-	+	-	-	-
Pigmentation jaune	-	-	-	+	-	-	-
Résistance au tellurite de potassium	-	+	-	-	-	-	-
Production d'acétoïne	-	V	V	V	+	+	V
Hydrolyse de l'arginine	+	+	+	-	-	-	-
Fermentation du Mannitol	+	+	+	+	V	+	+
Fermentation du Sorbitol	+	+	+	-	V	-	+
Fermentation de l'Arabinose	-	-	-	-	-	-	-
Fermentation du Raffinose	-	-	+	+	V	-	-
Fermentation du Saccharose	+	-	V	+	+	-	-
Fermentation du Lactose	+	+	V	+	+	-	+
Présence d'antigène du groupe D	+	V	+	V	V	V	V
Présence d'antigène du groupe Q	-	-	-	-	-	-	-
+ : ≥85% de souches positives ; - : ≤15% de souches positives V : 16 à 84% de souches positives (a) : variant asaccharolytique de <i>E. faecalis</i> (tous les tests sont négatifs, sauf l'hydrolyse de l'arginine et la présence inconstante d'antigène du groupe D) (b) : variant raffinose + de <i>E. faecium</i> (mêmes caractères sauf fermentation + du raffinose et fermentation du saccharose et du lactose.							

1.5. Rôles et applications des entérocoques

Certaines souches spécifiques d'entérocoques, telles que *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium*, jouent un rôle crucial dans le maintien de l'homéostasie intestinale. Ces bactéries bénéfiques agissent en régulant plusieurs processus physiologiques essentiels. Elles participent notamment à la régulation du pH intestinal, en produisant de l'acide lactique lors de la fermentation des glucides, ce qui acidifie l'environnement intestinal. Cette acidification crée des conditions défavorables pour les bactéries pathogènes, tout en favorisant la croissance des micro-organismes bénéfiques (Gänzle et al., 2014).

Les entérocoques contribuent également à la production de vitamines essentielles, notamment les vitamines du groupe B (comme la B₁₂ et l'acide folique), qui sont cruciales pour divers processus métaboliques chez l'hôte humain. Ces vitamines jouent un rôle important dans la production d'énergie, la régulation du système nerveux et la formation de cellules sanguines. De plus, certaines souches d'entérocoques participent au métabolisme de divers nutriments, en facilitant la dégradation des fibres alimentaires et l'absorption de minéraux vitaux tels que le calcium et le magnésium (Müller et al., 2021). En outre, ces bactéries ont une fonction protectrice contre les agents pathogènes. Elles occupent des niches écologiques dans l'intestin, créant ainsi une barrière physique contre les bactéries indésirables.

De plus, en produisant des substances antimicrobiennes telles que les bactériocines, elles inhibent la prolifération de micro-organismes nuisibles, contribuant ainsi à la prévention des infections intestinales. Ce rôle de défense est particulièrement important dans la lutte contre les inflammations chroniques et les infections nosocomiales, où certaines souches pathogènes d'entérocoques peuvent être impliquées, en particulier chez les patients immunodéprimés (Liu et al., 2020). Ainsi, ces bactéries bénéfiques participent activement à l'équilibre du microbiote intestinal et à la protection de l'organisme, en régulant l'environnement intestinal, en produisant des nutriments essentiels et en protégeant contre l'invasion de pathogènes (Bertucci et al., 2020).

Chapitre 02 : Facteurs de virulences des entérocoques

Introduction

Les entérocoques sont des bactéries impliquées dans diverses infections humaines, principalement dues à *Enterococcus faecalis* (80 à 90 % des cas) et *Enterococcus faecium* (5 à 10 % des cas), tandis que d'autres espèces comme *E. gallinarum*, *E. casseliflavus*, *E. durans*, *E. avium* et *E. hirae* sont rarement impliquées (Murray, 1990). Bien qu'ils soient moins virulents que d'autres bactéries à Gram positif, leur résistance et leur persistance en milieu hospitalier posent un sérieux problème de santé publique (Aguilar-Galvez et al., 2012 ; Stucki et al., 2014).

Ces bactéries sont responsables d'infections variées, notamment les endocardites, les infections urinaires, les infections intra-abdominales, les plaies et les bactériémies, souvent associées à d'autres pathogènes (Ghosh et Zurek, 2015). Leur résistance naturelle à plusieurs antibiotiques, leur capacité à acquérir de nouveaux mécanismes de résistance et la présence de facteurs de virulence compliquent considérablement leur traitement (Strateva et al., 2016).

Bien que leur rôle dans les infections nosocomiales soit bien documenté, leur implication dans les maladies d'origine alimentaire reste peu connue (Giraffa, 2002). Les recherches récentes se concentrent sur la caractérisation des facteurs permettant aux entérocoques de coloniser l'hôte et de contourner le système immunitaire (Chajceka-Wierzchowska et al., 2017).

La pathogénèse des entérocoques repose sur deux principaux mécanismes : l'adhésion aux cellules de l'hôte et la production de substances toxiques qui endommagent les tissus (Sava et al., 2010). Ces mécanismes jouent un rôle crucial dans la persistance et la propagation des infections, justifiant l'importance des études sur leur virulence pour orienter les stratégies thérapeutiques.

2.1. Risques liés aux entérocoques

Les microorganismes appartenant au genre *entérocoque*, sont depuis longtemps reconnus comme d'importants commensaux du tube digestif humain. Malgré cette hypothèse, leur capacité à persister dans l'environnement et à résister aux procédures de désinfection a conduit à leur large diffusion dans les milieux cliniques (Lebreton et al., 2017). Particulièrement, *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* sont connus pour causer des problèmes de gestion considérables en raison d'épisodes de résistance aux antimicrobiens. Leurs interactions avec l'hôte, y compris les altérations des voies de signalisation des cellules hôtes et l'évasion aux réponses immunitaires, augmentent encore leur pathogénicité et leur capacité à provoquer

des infections de longue durée (Lupia et al., 2022). Ces bactéries sont responsables d'un large éventail d'infections, notamment d'infections des voies urinaires, d'infections intraabdominales et d'infections du site chirurgical. En outre, l'importance clinique des espèces d'entérocoque est renforcée par leur capacité à provoquer des maladies acquises dans la communauté et associées aux soins de santé (Ruksakiet et al., 2020 ; Berge et al., 2021). L'émergence et la propagation de ses souches multi-résistantes, constituent une menace importante pour la santé publique, ce qui augmente le risque d'échec du traitement et souligne le besoin urgent de procédures efficaces de gestion des antimicrobiens (Rathod et al., 2022 ; Torres et al., 2018).

2.1.1. Épidémiologie des infections à entérocoques

Les infections à entérocoques, notamment celles causées par *E. faecalis* et *E. faecium*, représentent un défi clinique important en raison de leur capacité à provoquer des infections graves, en particulier chez les patients vulnérables. Les taux de mortalité de ces infections varient considérablement, allant de 14,3 % à 32,3 % (Brinkwirth et al., 2021). L'implication des entérocoques dans ces infections montre également des variations significatives entre les pays européens, avec des taux plus faibles dans certains pays scandinaves et des taux plus élevés dans d'autres régions comme les Balkans. *E. faecium* est particulièrement préoccupant en Italie, où il est souvent associé aux soins de santé et présente une tendance à la multirésistance. La pandémie de COVID-19 a contribué à une augmentation des infections à entérocoques, probablement en raison de changements dans les pratiques de soins de santé. Bien que *E. faecalis* et *E. faecium* soient les espèces les plus courantes, d'autres espèces d'entérocoques peuvent également provoquer des infections, soulignant la complexité de la gestion de ces infections (Toc et al., 2022).

2.1.1.1. Transmission nosocomiale

La colonisation dense du tractus gastro-intestinal est un facteur initial clé des infections à entérocoques nosocomiaux (Donskey et al., 2000). Les entérocoques, passant de l'intestin au foie puis à la circulation sanguine, peuvent atteindre le cœur et provoquer une endocardite infectieuse. La propagation fécale dans l'environnement et la colonisation cutanée représentent des vecteurs importants de transmission des entérocoques, contribuant à la survenue d'infections urinaires et d'infections liées aux dispositifs médicaux, notamment les cathéters intraveineux (Úbeda et al., 2010).

Ces derniers favorisent la dominance des entérocoques résistants à la vancomycine (ERV) dans l'intestin. Les risques de colonisation et d'infection par l'ERV augmentent avec la

proximité de patients infectés, l'hospitalisation prolongée, les séjours en soins de longue durée ou intensifs, le cathétérisme urinaire et l'usage répété des antibiotiques. Les antibiotiques augmentent la densité des ERV dans l'intestin, facilitant leur propagation par contamination fécale dans l'environnement hospitalier. La résistance des entérocoques aux conditions environnementales, comme la chaleur et certains désinfectants, favorise leur survie et leur transmission (Bradley et al., 1996).

2.1.1.2. Impact clinique

Les entérocoques sont une cause majeure d'infections nosocomiales, provoquant des bactériémies, endocardites, infections intra-abdominales et pelviennes, infections cutanées et infections du système nerveux central. Les infections intra-abdominales, pelviennes et post-opératoires sont les plus fréquentes, suivies par les infections sanguines et l'endocardite (Zasowski et al., 2016). Les infections sanguines à entérocoques représentent environ 10 % des bactériémies. Les entérocoques sont responsables d'environ 30 % des endocardites nosocomiales, après les staphylocoques. *E. faecalis* est la principale cause d'infections sanguines et urinaires, suivie par *E. coli* (Lee et al., 2020). La propagation des souches multirésistantes limite les options de traitement. Les entérocoques sont également impliqués dans les infections cutanées et occasionnellement, dans l'ostéomyélite, l'arthrite septique et la méningite. Les infections à entérocoques, en particulier celles causées par les ERV, sont associées à des taux de mortalité élevés (25-50 %), surtout chez les patients immunodéprimés (Cattaneo et al., 2021).

Bien qu'initialement considérés comme des bactéries commensales intestinales, ils sont de plus en plus reconnus comme des agents pathogènes systémiques graves, en particulier chez les patients immunodéprimés, y compris ceux atteints de cancer hématologique. Les affections hématologiques, telles que la leucémie myéloïde aiguë et le lymphome, augmentent le risque d'infections à entérocoques. Les patients neutropéniques et ceux ayant subi une transplantation de cellules souches hématopoïétiques sont particulièrement vulnérables (Carvalho et al., 2020 ; Friedman et al., 2020).

2.2. Définition des Facteurs de virulence des entérocoques

Il est désormais admis que la virulence d'un organisme est régulée par des gènes présents sur le génome, situé dans des régions spéciales appelées îlots de pathogénicité (PAI). Le PAI d'*Enterococcus* était la première identification dans le génome d'une souche multirésistante aux antibiotiques. La taille du gène est d'environ 150 kb et il code pour 129 cadres de lecture

ouverts (ORF). La teneur en G+C s'est avérée être de 32,2 %. Certains gènes codent pour des transposases, des régulateurs transcriptionnels et des protéines, dont on sait qu'ils jouent un rôle potentiel dans la virulence (Hacker et al., 2000). Des Traits de virulence codés dans le *Enterococcus faecalis* ont été observés, à savoir la protéine de surface entérocoque (ESP), la toxine sécrétée cytolysine et la substance d'agrégation (Gilmore et al., 2014).

2.3. Facteurs de virulence des entérocoques

2.3.1. Facteurs sécrétés

2.3.1.1. Hémolysine- cytolysine

L'un des premiers facteurs de virulence décrits chez les entérocoques est la cytolysine, codée par les gènes *cyl* (Figure 3) (Segarra et al., 1991), et nommée ainsi en raison de sa double action bactéricide et cytolytique (Gilmore et al., 1990). La cytolysine semble avoir une activité contre les globules rouges et blancs de souris (Miyazaki et al., 1993) et contribuer à l'endophtalmie (Jett et al., 1992) et à l'endocardite (Chow et al., 1993). Bien qu'une étude sur un modèle de lapin ait suggéré une association entre les entérocoques producteurs de cytolysine et l'endophtalmie, des études plus récentes ne semblent pas confirmer ce lien. L'hémolysine entérocoque, quant à elle, est codée sur le plasmide pAD1, un plasmide conjugatif de grande taille retrouvée chez *Enterococcus faecalis*, qui code à la fois la cytolysine et la réponse aux phéromones de conjugaison, favorisant ainsi la transmission des gènes de virulence (Jett et al., 1992).

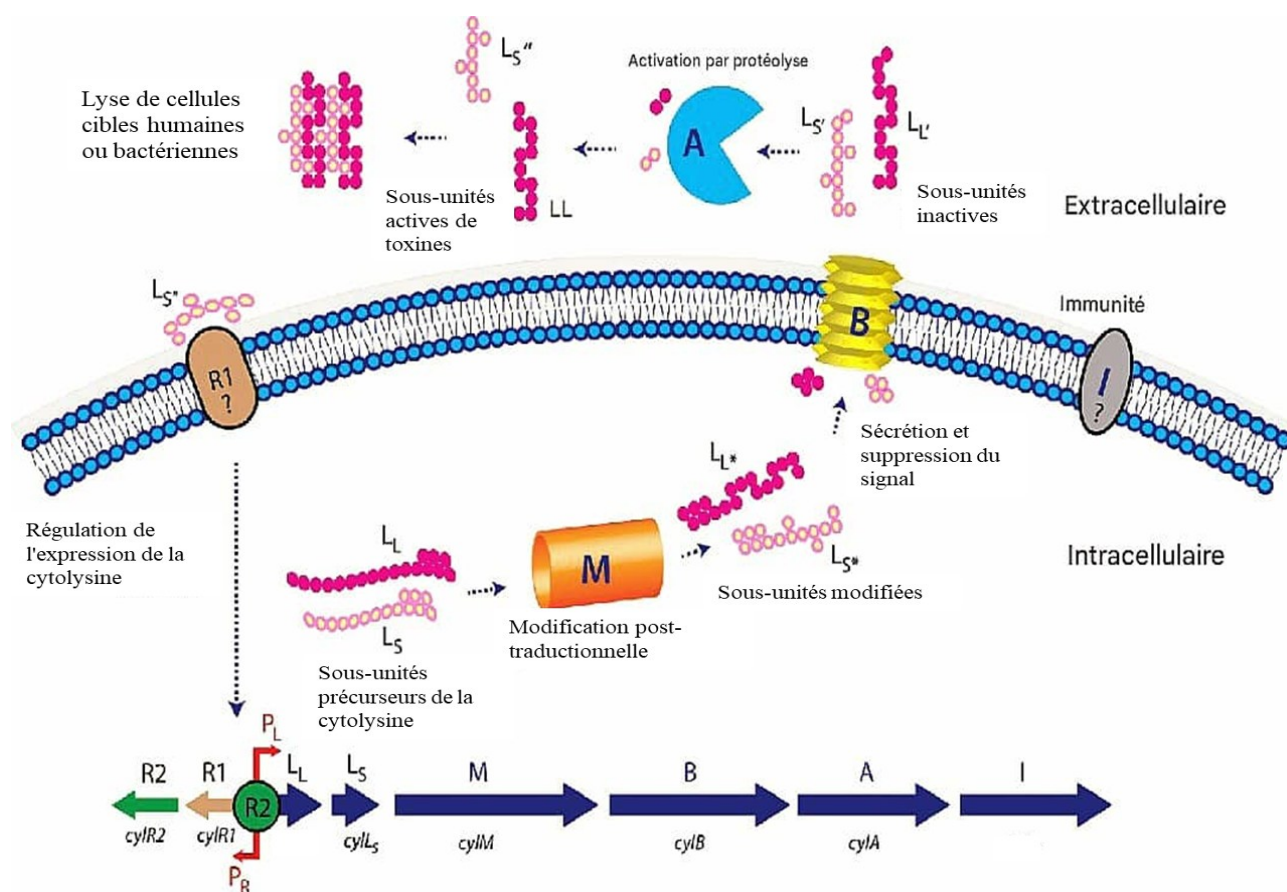


Figure 3: modèle d'expression de la cytolysine d'*Enterococcus faecalis* (Garsin et al., 2014)

2.3.1.2. Antigène A sécrété

Exclusivement présent chez les isolats d'*E. faecium* (Solheim et al., 2009), l'antigène A sécrété (SagA) est une protéine liée au stress (Muller et al., 2006), qui jouerait également un rôle dans la croissance cellulaire, probablement en raison d'interactions avec le métabolisme de la paroi cellulaire (Teng et al., 2003). Il peut, en outre, se lier à une série de protéines de la matrice extracellulaire (Pedicord et al., 2016). D'autre part, cette protéine a également été corrélée à un meilleur fonctionnement de la barrière intestinale et à une tolérance accrue contre d'autres agents pathogènes entériques tels que *Salmonella Typhimurium* et *Clostridium difficile*, probablement en raison de l'activation du système immunitaire inné de l'hôte (Kim et al., 2019). SagA a également été associé à la formation de biofilm, mais uniquement en relation avec les entérocoques appartenant au clade A1 (Paganeli et al., 2015).

2.3.1.3. Gélatinase

Cette protéine hydrolyse la gélatine et le collagène, le fibrinogène, la fibrine et les composants du complément (Parket et al., 2007), mais semble également contribuer au développement de l'endocardite infectieuse a *E. faecalis* (Thurlow et al., 2022). *GelE* est

cotranscrit avec *SprE*, une sérine protéase, par le système FSR (Qin et al., 2001), qui semble également réguler d'autres types de protéines, dont certaines sont associées à la formation de biofilms (Bourgonne et al., 2006). *GeIE* semble réduire l'incidence de l'Ace, un autre facteur de virulence présent à la surface cellulaire, probablement en raison d'un clivage dépendant de la GeIE et de la protéine Ace, qui réduit la capacité des entérocoques à se lier au collagène 56 (Pinkston et al., 2011).

2.3.1.4. Protéase à sérine

La protéase à sérine, souvent co-exprimée avec la gélatinase, est une enzyme qui clive diverses protéines de l'hôte, contribuant ainsi à la virulence des entérocoques. Elle participe également à la modulation de la réponse immunitaire de l'hôte et à la maturation des autres facteurs de virulence. Des études scientifiques ont montré que la protéase à sérine, joue un rôle dans le contrôle de la libération d'ADN extracellulaire. Cet ADN libéré hors des cellules est très important car il contribue au développement et au maintien de la structure du biofilm (Chuang et al., 2018).

2.3.2. Facteurs de virulence qui favorisent la colonisation

Bien que les entérocoques colonisent le tube digestif en tant qu'organismes commensaux, certaines conditions prédisposantes peuvent permettre à ces organismes d'envahir des régions extra-intestinales et de provoquer des infections. La capacité de ce microorganisme à acquérir de nouvelles caractéristiques le rend plus virulent, ce qui lui permet de coloniser de nouvelles zones de l'hôte et de provoquer une infection (Shankar Net al., 2002). Ce n'est pas un seul facteur qui est responsable de la virulence de l'organisme. Des études ont montré l'existence de plusieurs types de facteurs de virulence.

2.3.2.1. Substance d'agrégation

Le premier groupe de protéines de surface cellulaire décrit comprenait les substances d'agrégation (également appelées AS ou Agg), qui représentent un groupe de trois adhésines : Asp1, Asc10 (parfois aussi appelée PrgB) et Asa1. Ces protéines sont codées par trois plasmides conjugatifs distincts, respectivement pPD1, pCF10 et pAD1, et présentent une séquence d'acides aminés très similaire (Hendrickx et al., 2009). Les AS ont été considérés responsables de l'adhésion des entérocoques aux intestins (Sartingen et al., 2000) et les cellules tubulaires rénales (Kreft et al., 1992), cela est probablement associé à leur capacité à provoquer des infections systémiques (Sartingen et al., 2000), car l'adhésion est généralement la première

étape nécessaire à l'infection. Cela est d'autant plus important que l'Asa1 qui adhère aux protéines de la matrice extracellulaire, ce qui facilite également le développement de l'infection (Süßmuth et al., 2000). De plus, les AS ont également été corrélés avec l'adhésion aux cellules du système immunitaire (en particulier Asa1 et Asc10) et la survie à la phagocytose (Rakita et al., 1999).

2.3.2.2. Antigène spécifique de l'endocardite

EfaA est une protéine membranaire appartenant à la famille des transporteurs ABC. Son expression est induite en présence de concentrations élevées de manganèse, suggérant un rôle dans le métabolisme des métaux et la virulence. EfaA est impliquée dans l'adhésion aux cellules endothéliales et est essentielle pour la colonisation des valves cardiaques, contribuant ainsi au développement de l'endocardite infectieuse (Teng et al., 2003).

2.3.2.3. Protéines extracellulaires de surface

Esp est une autre protéine de surface cellulaire, présente chez les deux espèces *E. faecium* et *E. faecalis*, qui semble être principalement présente dans les isolats cliniques (Shankar et al., 1999 ; Eaton et al., 2002). Il a été prouvé que cette protéine est importante dans la formation du biofilm (Heikens et al., 2007), probablement par un mécanisme basé sur l'amyloïde (Taglialegna et al., 2020), mais a également été impliqué dans l'endocardite infectieuse (Heikens et al., 2011) et le développement d'une infection des voies urinaires (Shankar et al., 2001). De plus, une étude publiée par Meredith en 2009 a également indiqué une relation possible entre la présence de cette protéine et la sensibilité d'*E. faecium* aux β -lactamines, qui a également été corroborée par une étude plus récente (Weng et al., 2019).

2.3.2.4. Protéines de liaison au collagène

Il existe trois principaux MSCRAMM, qui sont une sous-famille d'adhésines bactériennes qui reconnaissent et se lient aux éléments de la matrice extracellulaire, décrits chez les entérocoques : Ace (adhésine au collagène d'*Enterococcus faecalis*) (Rich et al., 1999), Acm (adhésine au collagène d'*Enterococcus faecium*) (Nallapareddy et al., 2022) et Scm (deuxième adhésine au collagène d'*Enterococcus faecium*). Ace a été le premier MSCRAMM identifié chez les entérocoques (Rich et al., 1999), suivi de Acm (Nallapareddy et al., 2022) et enfin de Scm (Sillanpää et al., 2008). Bien qu'ils favorisent tous l'adhésion au collagène, l'Ace a également été caractérisé par sa capacité à adhérer à d'autres composants tels que la laminine et la dentine (Kowalski et al., 2006), tandis que Scm se lie également au fibrinogène. Ace et Acm

semblent tous deux jouer un rôle dans le développement d'une endocardite infectieuse causée par des entérocoques (Sing et al., 2018). Bien que les trois protéines soient présentes dans les isolats cliniques et non cliniques, l'Acm semble être principalement distribué parmi les isolats cliniques d'*E. faecium*, avec une incidence plus élevée parmi le complexe clonal CC17, ce qui pourrait être l'une des raisons pour lesquelles ce complexe a acquis une telle importance en tant que pathogène nosocomial (Nallapareddy et al., 2008).

2.3.2.5. Pili associés à l'Ebp, à l'endocardite et au biofilm

Les pili sont un autre facteur de virulence important. Ils sont constitués de fibres multimériques composées de sous-unités de piline qui s'étendent en longs filaments à la surface des cellules. Chez les entérocoques, ces fibres sont codées par un opéron composé d'un ensemble de gènes différents, communément appelés groupes de gènes pili (PGC). Le génome d'*E. faecalis* contient deux PGC distincts : EBP (Pili associé à l'endocardite et au biofilm, composé de trois gènes distincts : *ebpA*, *ebpB* et *ebpC* ; et BEE (activateur de biofilm chez les entérocoques composé de trois gènes codant des pili, *abeille-1*, *abeille-2* et *abeille-3*, et deux gènes codant pour une enzyme de type sortase, *srt-1* et *srt-2*). Alors que l'EBP semble être omniprésent parmi *E. faecalis*, le BEE PGC est moins fréquemment trouvé (Tendolkar et al., 2006). Ces deux groupes semblent être importants dans la formation du biofilm (Figure 4) (Tendolkar et al., 2006).

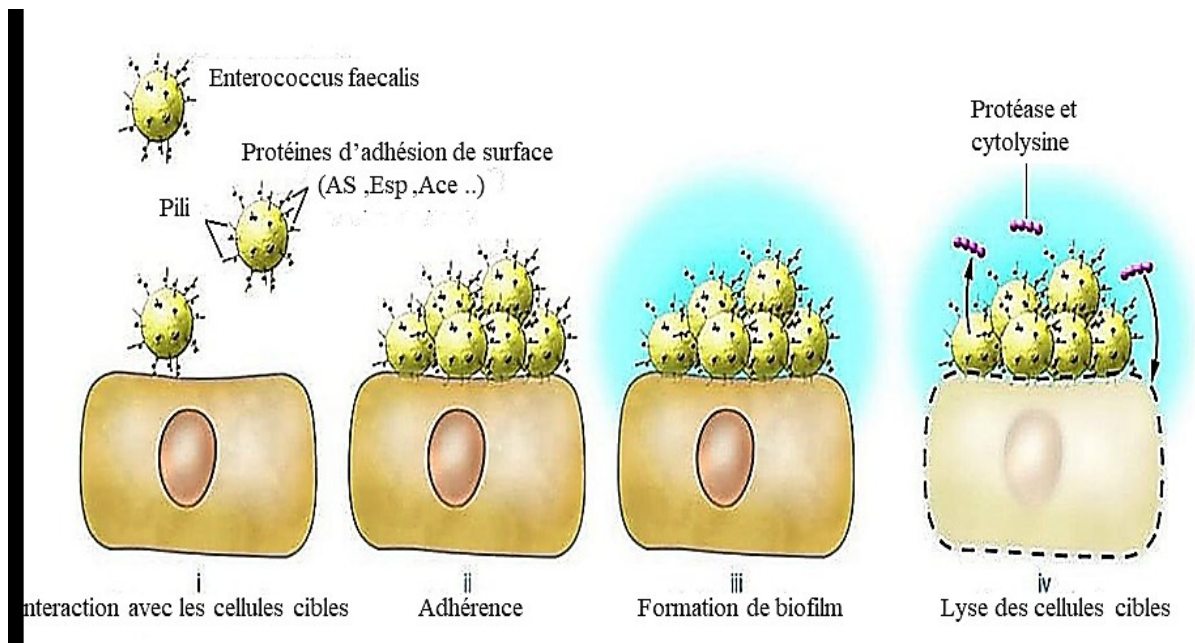


Figure 4: Étapes de la formation et de la dispersion d'un biofilm d'*Enterococcus faecalis* (Del papa et al., 2007).

Tableau III: Facteurs de virulence d'*E. faecalis* (Sangiorgio et al., 2024).

Facteurs de virulences	Description	Références
Facteurs de virulences secrétées		
Cyl, hémolysine-cytolysine	- Contribue à la formation de biofilm et à la lyse des globules rouges, des macrophages et des polynucléaires neutrophiles	(Eaton et al., 2001)
SagA, antigène A sécrété	- Joue un rôle dans la virulence dans les modèles animaux d'endocardite, de péritonite et d'endophtalmie	(Kim, B et al., 2019)
GelE, gélatinase	- Régulé par le système de détection de quorum Fsr.	(Willett et al., 2022)
SprE, sérine protéase	- Protéase à sérine qui permet au pathogène de se propager aux cellules et de dégrader les composants conjonctifs des matrices tissulaires.	(Gök et al., 2020)
Déterminants de la surface cellulaire et leur formation		
EfaA, antigène A	-Adhésines de la paroi cellulaire exprimées dans le sérum par <i>Enterococcus faecalis</i> .	(Kafil et al., 2013)
Esp, protéine de surface des entérocoques	- Protéine associée à la paroi cellulaire impliquée dans l'évasion immunitaire.	(Sillanpää et al., 2010)
Ace et Acm, protéines de liaison au collagène	- Assure l'adhérence au collagène (Acm) et au collagène et à la laminine (Ace) - Se lie à divers ligands de la matrice extracellulaire	

Facteurs de virulences	Description	Références
SgrA, EcbA	<ul style="list-style-type: none"> - Les deux servent de marqueurs pour les lymphocytes - Affecte la formation et la translocation du biofilm à travers les cellules épithéliales intestinales 	<p>(Sillanpää et al., 2010)</p> <p>(Hendrickx et al., 2009)</p>
Scm, deuxième adhésine de collagène d' <i>E. faecium</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Adhésines de liaison de surface - Impliquée dans la formation du biofilm 	<p>(Sillanpää et al., 2010)</p> <p>(Sillanpää et al., 2009)</p>
EPA, antigène polysaccharidique entérococcique	<ul style="list-style-type: none"> - Favorise l'adhérence aux plaquettes, au fibrinogène et au collagène 	<p>(Teng et al., 2009)</p>

Chapitre 03 : Résistance des entérocoques aux antibiotiques.

Les entérocoques, habituellement commensaux de la flore intestinale humaine, représentent une menace en microbiologie clinique en raison de leur capacité à acquérir et transmettre des résistances aux antibiotiques. Leur transformation en pathogènes opportunistes, notamment *E. faecalis* et *E. faecium*, en fait un enjeu de santé publique, particulièrement dans le contexte des infections nosocomiales (Aminov et al., 2010).

3.1. Historique

La résistance aux antibiotiques des entérocoques reflète un phénomène évoqué à l’occasion de l’introduction des antibiotiques. La pénicilline, découverte en 1929 par Alexander Fleming, a bouleversé la curative des infections. À partir de 1945, Fleming parlait d’apparition de souches résistantes, telles que *Staphylococcus aureus* (Aminov et al., 2010), les entérocoques les ont suivis (Figure 5). Naturellement présente bien avant l'utilisation des antibiotiques (D’Costa et al., 2011 ; Finley et al., 2013), la résistance a été accumulée sous le l’effet d’un emploi excessif d’antibiotiques en médecine humaine et vétérinaire, ainsi agricole (Background et al., 2022). Cette pression sélective, accélérée par la disponibilité des antibiotiques dans l’environnement, a favorisé l’émergence et l’évolution de souches multi-résistantes, rendant les entérocoques un modèle privilégié pour la recherche de la résistance aux antimicrobiens.

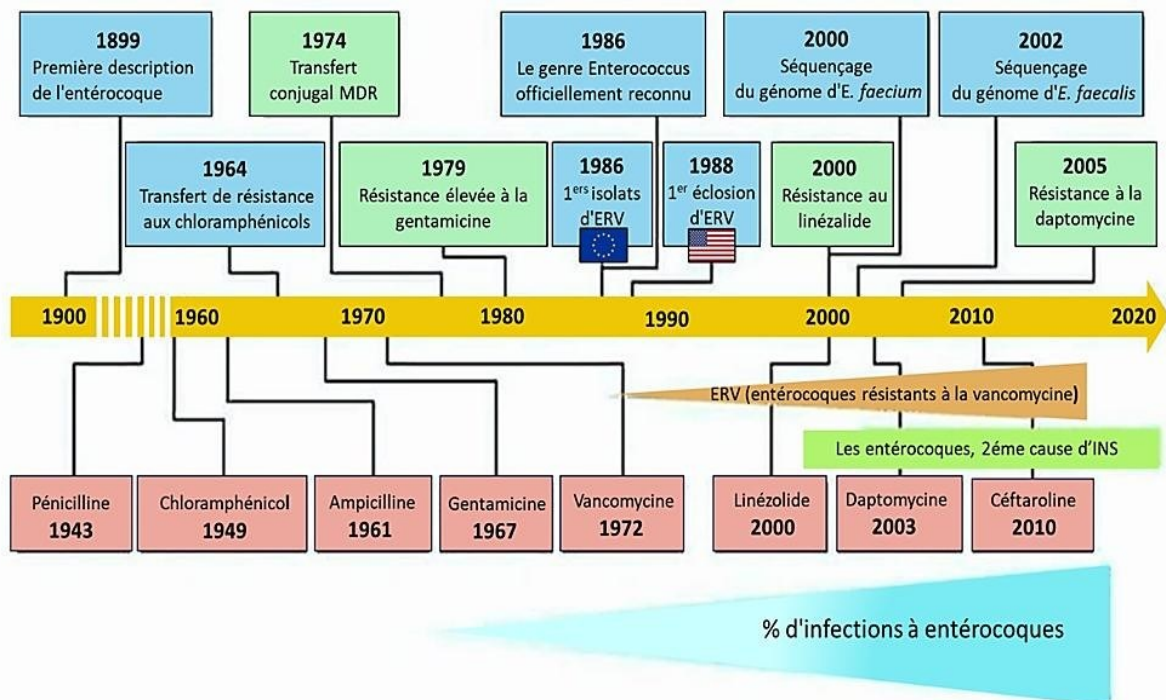


Figure 5: Historique de la résistance des entérocoques aux antibiotiques (Dapkevicius et al., 2021).

3.2. Définition d'un antibiotique

Le terme d'antibiotique dérive de celui d'antibiose (du grec anti « Contre » et bios «la vie »), il désigne une molécule qui détruit ou bloque la croissance des bactéries. Les antibiotiques sont des substances d'origine naturelle, produites par des micro-organismes (champignons microscopiques et bactéries), ou de synthèse chimique. À très faible concentration, ont le pouvoir d'inhiber la croissance (action bactériostatique), voire de détruire des bactéries ou d'autres micro-organismes (action bactéricide) (Cynthia et Khan, 2008).

3.3. Classification des antibiotiques

Leur classification est multiple, elle peut se faire selon : la nature chimique, l'origine, le spectre et le mécanisme d'action (Sahoo et Banik., 2020 ; Wang., 2023). Bien que la structure chimique (bêta-lactamines, aminosides, etc.) soit une base, la classification par mécanisme d'action (inhibiteurs de la paroi, protéines, ADN...) est plus informative (Sahoo et Banik., 2020 ; Wang., 2023). Cet examen privilégie le mécanisme d'action pour sa précision dans la localisation des mécanismes et indications (Nguyen et al., 2020 ; Klein et al., 2021). La plupart des travaux reconnaissent ces deux catégories principales pour classer les antibiotiques.

Tableau IV: principales familles antibiotiques et leurs modes d'actions (Van et al., 2008)

Mode d'action	Famille d'antibiotiques	Exemples de molécules
Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne	Bêta-lactamines	Amoxicilline Amoxicilline/Acide clavulanique
	Fosfomycine	Fosfocine
	Glycopeptides	Vancomycine
Inhibition de la synthèse	Tétracyclines	Doxycycline

Mode d'action	Famille d'antibiotiques	Exemples de molécules
protéique bactérienne	Macrolides	Azithromycine, Clarithromycine Spiramycine
	Aminosides	Streptomycine
	Phénicolés	Tiamphénicol
Inhibition des acides nucléiques	Quinolones	Ciprofloxacine

3.4. Résistance des bactéries aux antibiotiques

3.4.1. Définition de la résistance

Un micro-organisme est considéré résistant lorsqu'il présente une concentration minimale inhibitrice (CMI) supérieure à celle qui inhibe la croissance de la plupart des autres souches de sa propre espèce (Jones, 2001). Le concept de résistome a été introduit par Perry et al en 2014, qui correspond à l'ensemble des gènes de résistances. En se référant à ce concept, il existe deux phénotypes, à savoir le phénotype résistant et le phénotype sensible. Les organismes à phénotype résistant possèdent des gènes de résistances intrinsèques et/ou acquis, alors que ceux à phénotype sensible possèdent des gènes de proto-résistance et/ou des gènes de résistance silencieuse (Perry et al., 2014).

3.4.1.1. Phénotype résistant

La résistance est dite naturelle, lorsque le gène de résistance fait partie du patrimoine génétique de l'espèce, présent donc sur le chromosome de cette dernière. La transmission d'un tel gène est verticale. La résistance est dite acquise lorsque le gène de résistance ne fait pas partie du patrimoine génétique initial de l'espèce. Il a donc été acquis par toutes les voies d'un transfert horizontal de gènes (THG) : transformation, transposition ou conjugaison. Les plasmides et les transposons sont des éléments génétiques mobiles impliqués dans les transferts de gènes. La résistance acquise peut également intervenir suite à une mutation apparue dans le chromosome propre de la bactérie (Perry et al., 2014 ; Reygaert et al., 2018).

3.4.1.2. Phénotype sensible

Dans la « proto-résistance », l'expression du gène de la résistance est peu ou pas existante. Le gène proto-résistant a le potentiel de devenir résistant suite à une mutation. Le résultat moléculaire de la mutation peut être par exemple l'élargissement des substrats d'une enzyme déjà existante dans la bactérie, tout en gardant sa spécificité de fonction. Ainsi, dans la « résistance silencieuse », le gène de résistance existe sur le chromosome mais ne s'exprime que suite à une mutation dans un autre gène qui entraîne l'expression ou la surexpression du gène de résistance silencieuse. La résistance peut être activée par un stress environnemental (Perry et al., 2014).

3.4.2. Mécanismes de résistances des entérocoques

Du point de vue moléculaire, la résistance se manifeste principalement par quatre mécanismes, à savoir l'imperméabilité des structures externes de la bactérie, la modification de la cible des antibiotiques, l'inactivation enzymatique des antibiotiques, l'expulsion des antibiotiques par des pompes d'efflux actif (Reygaert et al., 2018).

3.4.2.1. Imperméabilité des structures externes d'entérocoques

Contrairement aux Gram négatifs, dont la membrane externe avec sa couche de lipopolysaccharide (LPS) agit comme une barrière de perméabilité (Silhavy et al., 2010), les entérocoques ne possèdent pas cette structure. Ainsi, ce processus en lui-même n'est pas très efficace, car dans la majorité des conditions, il suffit d'augmenter la concentration d'antibiotique pour y résister. C'est pourquoi il est fréquemment combiné à d'autres méthodes (efflux actif, production de β -lactamases) (Jehl et al., 2012 ; Fosseprez, 2013).

3.4.2.2. Modification de la cible des antibiotiques

Un antibiotique exerce son effet thérapeutique en se fixant spécifiquement sur une cible cellulaire bactérienne. Lorsque cette cible subit une modification, la molécule d'antibiotique perd son affinité pour elle, ce qui conduit à une résistance bactérienne. Plusieurs classes d'antibiotiques sont concernées par ce mécanisme, notamment les β -lactamines, les glycopeptides, les aminosides, et les sulfamides. Un exemple de résistance par la modification de la cible concerne l'ARN ribosomal 23S, qui est essentiel à la synthèse des protéines. Certaines bactéries peuvent synthétiser une méthylase qui modifie cet ARN, rendant ainsi le ribosome modifié incapable de lier certains antibiotiques, tels que les macrolides (ex : érythromycine) et les streptomycines, qui sont couramment utilisés pour traiter la tuberculose.

Cette modification empêche l'antibiotique de se fixer à la cible, réduisant ainsi son efficacité (Beceiro et al., 2013). En ce qui concerne les sulfamides, la résistance est due à une modification de la dihydroptéroate synthétase, une enzyme qui, bien que conservant son affinité pour son substrat naturel, perd son affinité pour les sulfamides après des modifications spécifiques du site actif (Depardieu et al., 2001).

3.4.2.3. Désactivation enzymatique des antibiotiques

Certaines enzymes bactériennes ont la capacité d'inactiver des antibiotiques soit par dégradation, soit en leur transférant un groupement spécifique. Les β -lactamases sont des enzymes produites par les bactéries qui hydrolysent le cycle β -lactame présent dans les β -lactamines, cela donne lieu à des molécules hydrolysées qui ne sont pas en mesure d'inhiber les protéines liant les bêtalactamines (PLB). C'est la raison principale de la résistance aux β -lactamines chez les bactéries Gram négatifs (Bush et al., 2010). Les tétracyclines représentent une autre catégorie d'antibiotiques susceptibles d'être inactivées par dégradation, à cause d'une enzyme codée par le gène *tetX*. Les acétyltransférases, les phosphotransférases et les nucléotidyltransférases peuvent inactiver les aminosides (Blair et al., 2015).

3.4.2.4. Expulsion des antibiotiques par des pompes à efflux actif

Les pompes d'efflux actif sont des pompes qui transportent les antibiotiques pour les expulser du cytoplasme de la bactérie. Elles sont en grande partie impliquées dans la résistance intrinsèque des bactéries à Gram négatif. La plupart des pompes d'efflux, lorsqu'elles sont surexprimées sont capables de transporter plusieurs familles de molécules, et sont ainsi responsables de multirésistances (Blair et al., 2015). Chez les entérocoques qui disposent seulement d'une membrane cytoplasmique entourée par une épaisse paroi de peptidoglycane, les pompes qqs : Superfamille ABC (ATP-binding cassette), ce sont des transporteurs primaires qui mobilisent l'énergie issue de l'hydrolyse de l'ATP pour l'efflux des antibiotiques. Un exemple classiquement étudié chez *Enterococcus faecalis* est la pompe EfrAB (Krawczyk et al., 2018). La superfamille MFS (Major Facilitator Superfamily), ce sont des transporteurs secondaires qui mobilisent le gradient électrochimique membranaire pour l'efflux (Figure 6). Deux exemples sont EmeA et EfmA, impliqués dans la résistance aux fluoroquinolones chez *E. faecium* (Mirzaii et al., 2023).

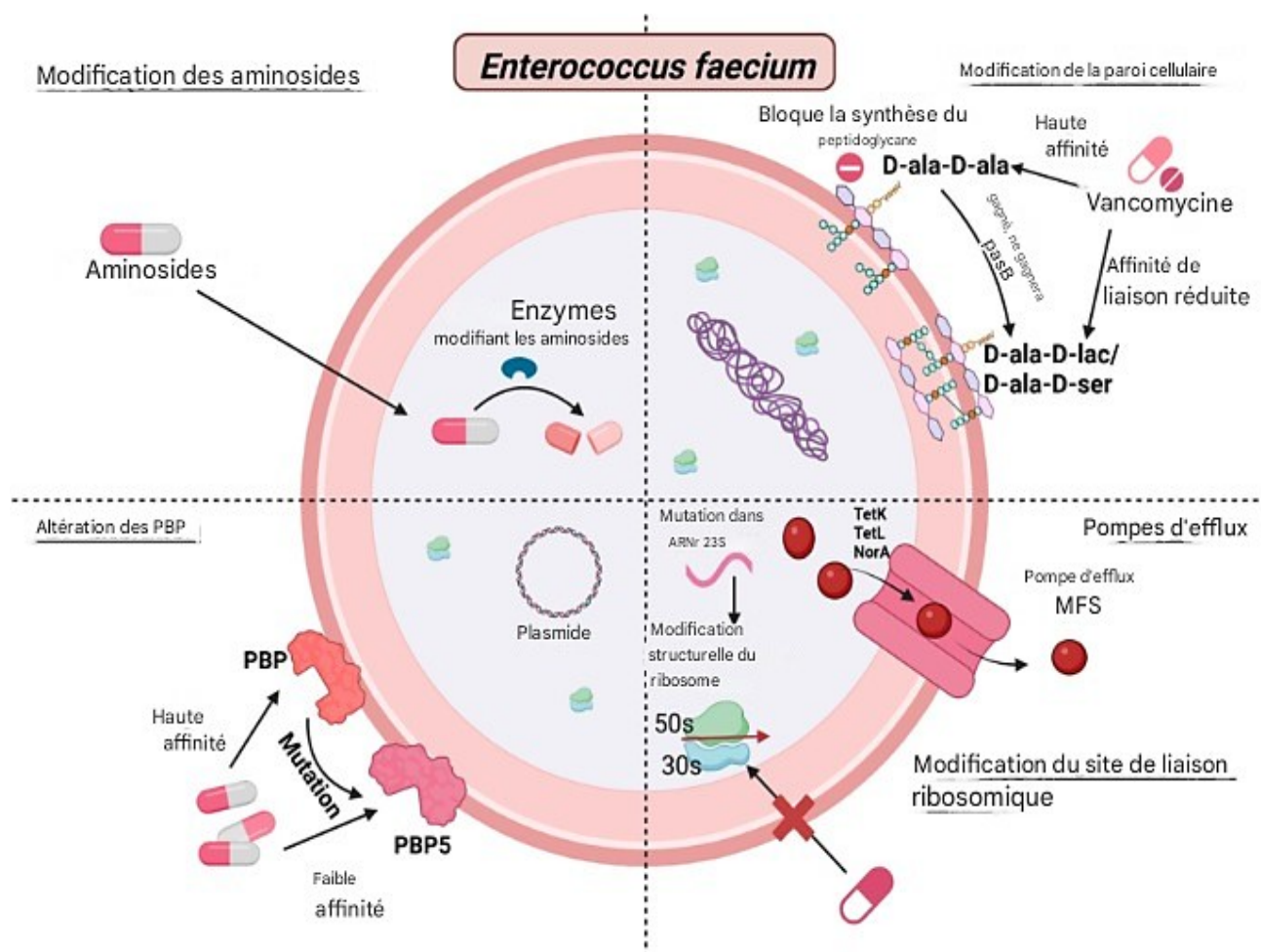


Figure 6: Mécanismes de résistance aux antibiotiques d'*Enterococcus faecium* (Giraffa et al., 2002).

3.5. Mécanismes de résistance des entérocoques aux antibiotiques

3.5.1. Résistance aux β -lactamines

Les β -lactamines sont une famille d'antibiotiques possédant un noyau lactame, la partie active de la molécule. Les variations du niveau de la chaîne latérale modifient les propriétés antibiotiques de ces molécules. Les β -lactamines perturbent la formation des membranes cellulaires bactériennes en se liant de manière covalente à des protéines essentielles, telles que la protéine de liaison à la pénicilline (PLP ou PBP), qui participent à la réticulation du peptidoglycane chez les bactéries (Bush et al., 2016). Les entérocoques sont naturellement résistants aux céphalosporines et y présentent une sensibilité naturellement réduite. Ces résistances sont dues à deux types de mécanismes : une résistance de haut niveau aux céphalosporines est plus souvent détectée chez *E. faecium*, en raison des mutations du site actif de PBP5 (Rice et al., 2004 ; Miller et al., 2014), une résistance de haut niveau chez *E. faecalis* en raison d'une expression accrue de PBP4 et/ou de mutations (Duez et al., 2001). Ce spectre

d'activité reflète l'utilité thérapeutique de ces médicaments, car l'ampicilline reste un traitement efficace contre les infections à entérocoques sensibles, tandis que les céphalosporines sont inefficaces contre elles. L'utilisation de céphalosporines est considérée comme un facteur de risque majeur pour les infections à entérocoques (Shepard et Gilmore, 2002).

3.5.2. Résistance aux quinolones

Les quinolones ciblent deux enzymes, l'ADN gyrase et la topoisomérase IV. Ces deux enzymes sont des tétramères composés de deux sous-unités différentes : GyrA et GyrB formant le complexe ADN gyrase. Tandis que la topoisomérase IV est composée de ParC et ParE. L'action de ces molécules d'antibiotique nécessite des cassures des doubles liaisons et la stabilisation du complexe enzyme/ADN par les quinolones entraînant une rupture de la continuité du brin et un arrêt de la réplication (Novais et al., 2016). Il existe des preuves qu'il peut y avoir une inhibition différentielle de ces deux enzymes entre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives et des degrés d'inhibition variables entre les différents types de quinolones (Novais et al., 2016 ; Montealegre et al., 2017). Ces changements affectent les « régions déterminant la résistance aux quinolones », qui modifient l'affinité de liaison de l'antibiotique. L'externalisation de l'antibiotique par les pompes à efflux est un autre mécanisme bien décrit de résistance aux quinolones. Parmi eux, NorA et PmrA ont été impliqués dans la résistance aux quinolones chez *S. aureus* et *Streptococcus pneumoniae*, et le premier a également été décrit chez *E. faecium* (Novais et al., 2016).

3.5.3. Résistance aux aminoglycosides

Les aminoglycosides ciblent l'ARN ribosomique 16S afin d'inhiber la traduction des protéines aux stades d'initiation, d'élongation, et de terminaison (Kotra et al., 2000). Les entérocoques sont intrinsèquement résistants aux concentrations cliniquement atteignables d'aminoglycosides, ce qui exclut leur utilisation thérapeutique en tant qu'agents uniques. Toutefois, ils peuvent être utilisés pour le traitement des infections humaines à entérocoques en association avec des pénicillines par exemple (Stucki et al., 2014). Le gène codant pour l'enzyme de modification des aminoglycosides la plus courante (une acétyl-transférase) et conférant la résistance à la gentamicine et aux autres aminoglycosides à l'exception de la streptomycine, est *aac-6'-Ie-aph-2''* (Chow et al., 2000 ; Padmasini et al., 2014). La résistance à la streptomycine chez les entérocoques est le plus souvent codée par le gène *ant-6*, codant pour une aminoglycoside-nucleotidyl-transférase, mais peut également être attribuée à des mutations ribosomiques (Torres et al., 2018).

3.5.4. Résistance aux glycopeptides

Les glycopeptides ciblent la séquence D-Ala-D-Ala C-terminale des précurseurs pentapeptidiques, et entraînent l'arrêt de la synthèse du peptidoglycane. La classe des glycopeptides comprend des antibiotiques comme la vancomycine et la teicoplanine, particulièrement actifs contre les bactéries à Gram positif. Au début des années 1980 (Murray et al., 1990), une augmentation des résistances à la vancomycine et à la teicoplanine est observée, probablement à cause de leur forte utilisation en milieu hospitalier. Le premier opéron de résistance aux glycopeptides décrit était l'opéron *vanA*, qui reste le plus couramment rencontré dans le contexte clinique (Ahmed et al., 2018). Il se compose de sept gènes dont l'action combinée permet de remplacer le groupement terminal D-Ala-D-Ala par un groupement D-Ala-D-Lac (Figure 7A). En plus d'une résistance de haut niveau à la vancomycine, cet opéron permet l'expression d'un phénotype de résistance à la teicoplanine. Il est souvent porté par le transposon de la famille Tn3, qui peut être situé sur le chromosome, ou sur un plasmide transférable. Ce transposon Tn1546 a été entre autres identifié sur des plasmides de souches d'*E. faecium* isolées de patients (Sletvold et al., 2008), ainsi que sur le chromosome d'autres entérocoques, notamment dans un isolat aviaire d'*E. cecorum* au Japon (Harada et al., 2012). Le second opéron le plus souvent identifié pour la résistance à la vancomycine est *vanB*, souvent porté par le transposon Tn1549, qui est plus localisé sur le chromosome. Si la structure de *vanB* est similaire à celle de *vanA*, le système de régulation de la signalisation à deux composants rend les entérocoques porteurs de cet opéron sensibles à la teicoplanine (Ahmed et al., 2018). Les opérons de résistance à la vancomycine de type *vanC* (Figure 7B), décrits comme des composants intrinsèques d'*E. gallinarum* et *E. casseliflavus*, produisent des précurseurs de peptidoglycane qui se terminent par D-Ala-D-Ser (Reid et al., 2001).

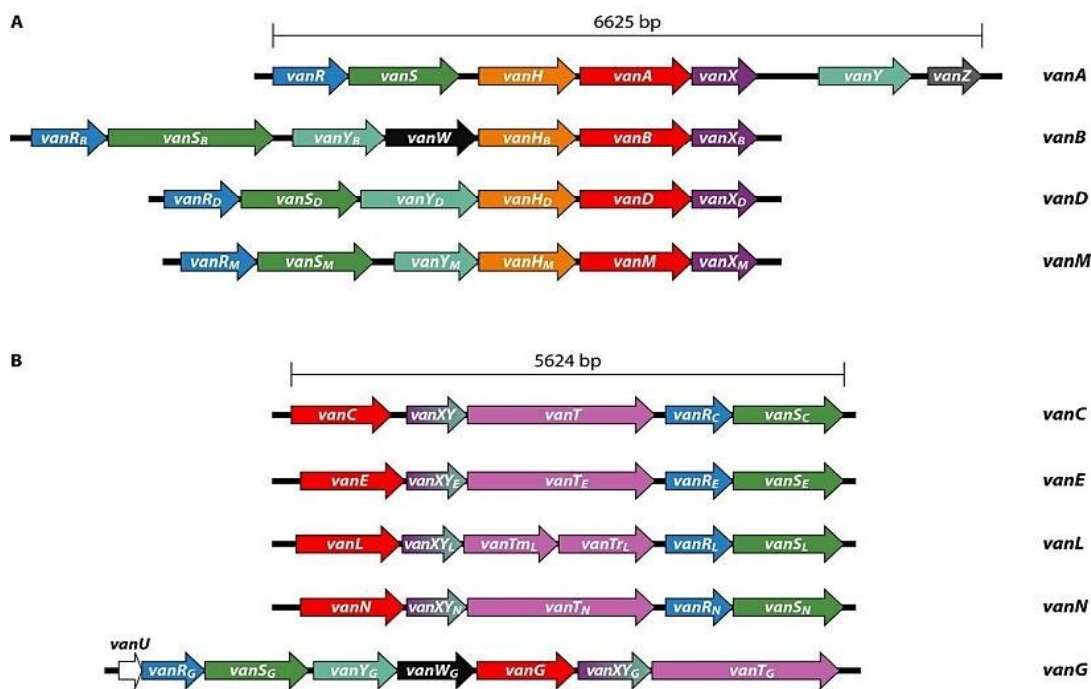


Figure 7: Représentation schématique des opérons de résistance aux glycopeptides : (A) opérons de type *vanA*, premier mécanisme décrit, et (B) opérons de type *vanC* impliqués dans la résistance à la vancomycine (García-Solache et al., 2019).

3.5.5. Résistance aux macrolides, lincosamides, streptogramines (MLS)

Les MLS sont des inhibiteurs de la synthèse des protéines par le biais d'une fixation sur la sous-unité 50S du ribosome bactérien. La résistance aux macrolides, lincosamides et streptogramines B peut être liée à la présence de rRNA méthylases codées par des gènes tels que *erm(B)*, généralement porté par le transposon Tn917, et répandu à la fois dans les isolats d'entérocoques humains ou animaux. Des gènes d'efflux, *mef(A)*, peuvent également conférer une résistance aux macrolides à 14 ou 15 chainons. *E. faecalis* est intrinsèquement résistant à la clindamycine, la lincomycine et aux streptogramines A du fait de la présence du gène *lsa(A)*, qui code une protéine de protection ribosomale (classe ABC-F) (Reissier et al., 2021). La résistance aux lincosamides peut également être acquise chez les autres espèces en particulier chez *E. faecium*, par inactivation de ces antibiotiques grâce à des gènes de nucléotidyltransférases, tels que *lnu(B)* et *lnu(C)* (Portillo et al., 2000). Les gènes *msr* confèrent une résistance aux macrolides et streptogramines B par protection ribosomique. Des gènes tels que *vat(D)* et *vat(E)*, ou encore *vga* ou *vgb* sont impliqués dans les résistances aux streptogramines, soit par inactivation par acétylation des streptogramines A (gènes *vat*), soit par protection ribosomique (*vga*) ou bien par inactivation des streptogramines B (*vgb*) (Torres et al., 2018).

3.5.6. Résistance aux tétracyclines

Les tétracyclines se fixent sur différents sites du ribosome pour empêcher la fixation de l'ARNt sur son site accepteur et interrompre ainsi la traduction protéique. La résistance aux tétracyclines chez les entérocoques est assez répandue et souvent liée à un mécanisme de protection ribosomale. *Tet(M)*, le plus souvent porté par un transposon conjugatif est le gène le plus impliqué dans cette résistance (Zou et al., 2020). D'autres mécanismes de résistance sont liés à un phénomène d'efflux, codé par des gènes tels que *tet(L)* (Hadjadj et al., 2023). La tigécycline, un dérivé de la minocycline, est non sensible à la plupart des mécanismes de résistance à la tétracycline, y compris *Tet(M)* et *Tet(L)*. La surexpression de ces gènes de résistance pourrait toutefois être responsable d'une résistance d'*E. faecium* à cette molécule (Fiedler et al., 2016). D'autres gènes comme *tet(O)* ou encore *tet(44)* confèrent une résistance ribosomale chez certains entérocoques, mais également chez des streptocoques ou *Campylobacter* (Roberts et al., 2016).

3.5.7. Autres résistances

3.5.7.1. Résistance au linézolide

Le linézolide fait partie de la classe des oxazolidinones, des antibiotiques possédant une action bactériostatique par inhibition de l'initiation de la traduction. La résistance au linézolide est souvent liée à des mutations dans l'ARNr 23S. Les entérocoques en possédant plusieurs copies, le niveau de résistance dépendra du nombre d'ARNr touché par la mutation (Marshall et al., 2002). Plus récemment, différents gènes conférant une résistance à différentes familles d'antibiotiques dont les oxazolidinones ont été identifiés : les gènes *cfr* (résistance au linézolide, phénicolés, pleuromutilines, lincosamides et streptogramines A), *optrA* (résistance aux phénicolés et oxazolidinones), et *poxtA* (résistance aux phénicolés, oxazolidinones et tétracyclines) (Timmermans et al., 2021).

3.5.7.2. Résistance au Chloramphénicol

Le chloramphénicol limite la synthèse des protéines en inhibant l'activité peptidyltransférase du ribosome bactérien. Il se lie spécifiquement aux résidus A2451 et A2452 de l'ARNr 23S de la sous-unité 50S du ribosome bactérien et empêche la formation de la liaison peptidique (Schwarz et al., 2016). Les bactéries peuvent résister au chloramphénicol en produisant des chloramphénicol-acétyltransférases codées par des gènes *cat* (Roberts et al., 2016). Des mécanismes d'efflux tels que *floR* ou *fex* confèrent une résistance au

chloramphénicol et au florfénicol. Enfin, certains gènes acquis, *cfr optrA* et *poxA*, peuvent également être à l'origine de la résistance chez les entérocoques vis-à-vis des phénicolés et d'autres familles d'antibiotiques (Timmermans et al., 2021).

3.5.7.3. Résistance aux rifampicines

Il agit par inhibition de l'ARN polymérase ADN-dépendante, entraînant une suppression de la synthèse de l'ARN. Le principal mécanisme de résistance à cet antibiotique est la présence de mutations dans le gène *rpoB* (Alifano et al., 2015). Cette résistance se retrouve chez certaines espèces d'entérocoques comme *Enterococcus raffinosus* (Schwaiger et al., 2010).

3.5.7.4. Résistance à la bacitracine

La bacitracine inhibe une étape tardive de la voie de biosynthèse du peptidoglycane, la régénération de l'undécaprénylphosphate (UP), le translocateur lipidique membranaire des précurseurs de peptidoglycane. Certaines souches d'*E. faecalis* présentent des niveaux élevés de résistance à la bacitracine en raison d'un opéron *bcrABD*, régulé par le gène *bcrR* et permettant l'efflux de la bacitracine (Chen et al., 2016). *E. cecorum* pourrait être un réservoir de *bcrABDR* du fait de sa détection dans des génomes disponible sur NCBI.

Matériel et méthodes

1. Matériels et méthodes

1.1. Objectifs et lieu de l'étude

Cette étude est réalisée au sein du laboratoire de microbiologie du CHU Tizi-Ouzou durant 06 semaines, allant du 01 février jusqu'au 15 mars 2025. Les objectifs principaux de ce travail étaient l'isolement et l'identification biochimique de souches *Enterococcus* spp à partir des prélèvements cliniques (hémocultures), et l'évaluation de la sensibilité des isolats vis-à-vis de certaines molécules d'antibiotiques.

1.2. Présentation du lieu de stage

Le laboratoire de microbiologie du CHU de Tizi-Ouzou dispose d'une salle d'accueil destinée à recevoir, enregistrer et étiqueter les divers prélèvements provenant de différents services hospitaliers ou de patients externes. Ces échantillons seront ensuite acheminés vers les diverses paillasse du laboratoire. Dès que les prélèvements sont examinés et que les résultats sont consultables, ils seront envoyés au bureau des médecins pour approbation, ceci se réalise sur un logiciel iKolab.

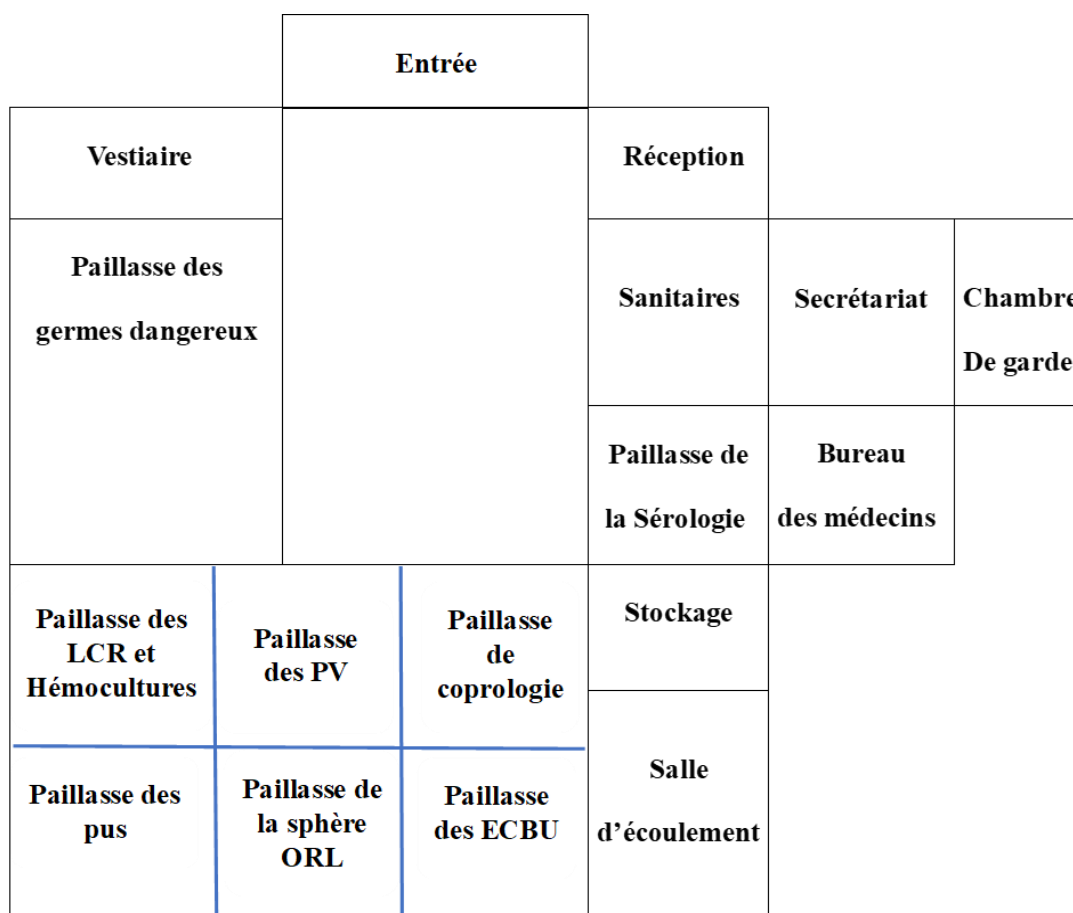


Figure 8: Présentation du laboratoire de microbiologie du CHU Tizi-Ouzou

1.3. Nature du prélèvement

Durant notre stage pratique au service de microbiologie du CHU de Tizi-Ouzou, 600 prélèvements d'hémocultures ont été examinés. Ces derniers provenaient de différents services du CHU. Pour avoir des résultats plus significatifs (un aperçu global sur le profil de résistance des souches isolées), nous avons élargi cette étude sur trois mois un nombre total de 1600 prélèvements.

1.4. Enregistrement des prélèvements

A l'arrivée des prélèvements au laboratoire, ces derniers sont immédiatement enregistrés dans un registre consacré aux hémocultures. Selon le type des flacons, deux types de méthodes sont appliquées : classique et automatisée (Figure 9). Pour le flacon réservé à la méthode automatisée, ce dernier contient deux codes, l'un est scanné directement par l'automate. Tandis que, le deuxième est mentionné sur un registre.

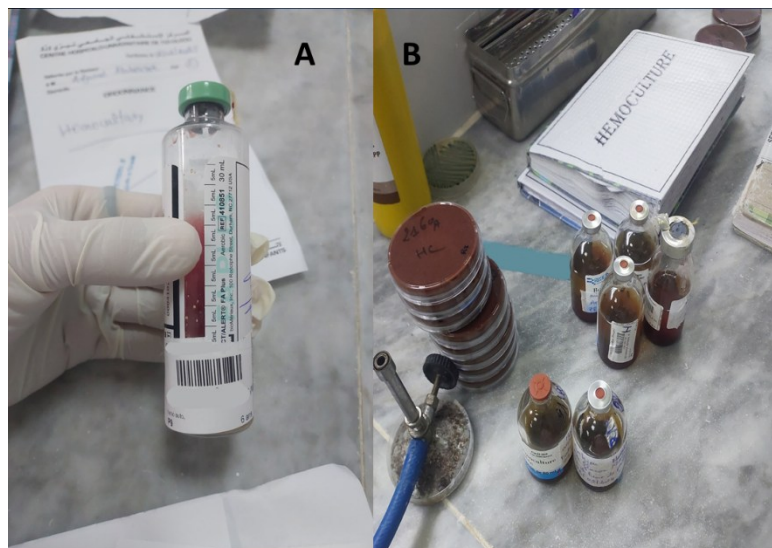


Figure 8: Flacons d'hémoculture réservés pour la méthode automatisée (A) et la méthode classique (B) (Photos prises au laboratoire)

1.5. Incubation des hémocultures

Les hémocultures, pourraient être préparées à l'aide de flacons classiques ou de flacons spécifiquement conçus pour un automate.

1.5.1. Hémocultures destinées à un automate

Les flacons d'hémocultures sont incubés à 37°C dans le système Bact/Alert (Figure 10). Cet appareil sert d'un incubateur pour prélèvement des flacons d'hémocultures, capable de détecter automatiquement la croissance de micro-organismes présents dans le sang ; les

bouteilles comportent en bas un indicateur colorimétrique, séparé par une membrane qui laisse passer le CO₂. Ce dernier est généré par l'activité métabolique des micro-organismes pendant leur phase de croissance. Le CO₂ traverse passivement la membrane et déclenche une réaction chimique qui acidifie l'indicateur colorimétrique, provoquant ainsi un changement de couleur. Un faisceau lumineux est dirigé vers l'indicateur de pH qui sera ensuite capturé et transmis au logiciel de traitement. Après analyse des données par le logiciel, le flacon est identifié comme positif ou négatif.

Notons que des faux positifs sont parfois observés, surtout chez les patients souffrant de leucémies aiguës, présentant une leucocytose très élevée.



Figure 9: BACTALERT 3D (photo prise au laboratoire)

1.5.2. Hémocultures classiques

Après enregistrement, ces flacons sont incubés dans des étuves à 37°C. Après une première lecture, les boîtes sont maintenues à l'étuve et sont observées chaque jour pendant 10 jours d'incubation, et ceci pour surveiller la croissance de bactéries ayant une croissance lente.

1.6. Analyse bactériologique

1.6.1. Isolement et purification des entérocoques

Pour réaliser un bon isolement des entérocoques, il est essentiel de ne jamais ouvrir les flacons d'hémoculture. Le prélèvement doit être effectué de manière aseptique à l'aide d'une seringue préparée de manière aseptique. L'isolement est réalisé sur la gélose au sang frais ou gélose au sang cuit, en ensemençant un volume de cette hémoculture par la méthode des quatre quadrants. Les boîtes ainsi obtenues sont incubées pendant 24 heures à 37°C.

Après l'incubation, une lecture est effectuée : si aucune colonie caractéristique (colonies blanchâtres, rondes, bombées, de tailles moyennes) n'est observée, une ré-incubation des boîtes ensemencées est nécessaire pour favoriser le développement des germes. L'étape de purification est réalisée par des repiquages successifs sur le milieu d'isolement.

1.6.2. Etude microscopique et identification biochimique des isolats

1.6.2.1. Examen microscopique

L'analyse microscopique est réalisée par un frottis, et ceci en déposant une à deux colonies d'une culture bactérienne d'entérocoques sur la surface d'une lame. Ensuite, une goutte d'eau physiologique est ajoutée pour faciliter l'étalement de la colonie sur la lame. Le frottis ainsi obtenu est fixé à la chaleur par un simple passage au bec bunsen.

✦ Coloration de Gram

La coloration de Gram sert à distinguer les Gram positifs des Gram négatifs ; il est réalisé comme suit :

- Appliquer le violet de gentiane sur la lame et laisser agir pendant une minute ;
- Appliquez le Lugol sur la lame et laissez-le agir pendant 45 secondes (deux fois) ;
- Appliquer de l'alcool pendant 30 secondes, suivie d'un rinçage à l'eau ;
- Appliquer de la fuchsine basique et laisser agir pendant une minute pour la recoloration ;
- Lavage à l'eau ;
- Sécher le frottis entre deux compresses de gaze stériles ;
- Rajouté une goutte d'huile d'immersion puis passer à l'observation sous microscope optique au grossissement $\times 100$.

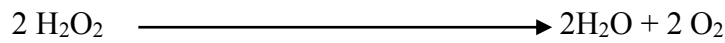
1.6.2.2. Identification biochimique des isolats

✦ Test d'oxydase

Le test consiste à mettre en contact une colonie bactérienne avec un disque oxydase. Si la bactérie est productrice de l'oxydase, cette dernière oxyde le réactif, ce qui se traduit par un changement de couleur vers le violet ou le bleu en 10 à 30 secondes. Notons que les entérocoques sont dépourvus de cette enzyme.

✦ Test de la catalase

La catalase est une enzyme qui favorise la décomposition du peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , selon l'équation chimique suivante :



La mise en évidence de la catalase est réalisée par la mise en contact de quelques colonies, prélevées à partir d'une culture jeune, avec une goutte de l'eau oxygénée. L'apparition de bulles d'air indique la présence de la catalase.

✦ Api 20 Strep

La galerie API 20 Strep comprend 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les tests conventionnels sont ensemencés avec une suspension bactérienne qui reconstitue le milieu. Les réactions produites durant la période d'incubation se traduisent par des changements de couleur spontanés ou révélés par l'ajout de réactifs. L'API 20 Strep est un système standardisé combinant 20 tests biochimiques à haut pouvoir discriminant. Il permet d'établir un diagnostic de groupe ou d'espèce pour la plupart des streptocoques, des entérocoques et des germes apparentés les plus courants.

1.7. Résistance des souches isolées aux antibiotiques

1.7.1. Antibiogramme standard

À l'aide d'un écouvillon, des colonies bien isolées sont raclées et déchargées dans un volume de 5 ml d'eau physiologique stérile et ceci pour préparer une suspension bactérienne d'une densité optique équivalant à 0.5Mc Farland. Ensuite, un écouvillon est trempé dans la suspension bactérienne puis essoré, en le tournant sur la paroi du tube, pour le décharger au maximum. Des boîtes de Pétri contenant de la gélose Mueller Hinton sont ensemencées par des stries serrées (méthode d'écouvillonnage) en tournant la boîte trois fois à 60°. Enfin, des disques d'antibiotiques sont appliqués à la surface de la gélose ensemencée. Après une incubation à 37°C pendant 24 heures, la lecture réalisée par la mesure du diamètre des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse. Les souches sont ensuite classées en sensibles, intermédiaires ou résistantes en comparant les valeurs des zones d'inhibition obtenues aux valeurs prescrites dans le manuel du CLSI (2022)

Tableau V: Antibiotiques testés

Famille Antibiotique	Antibiotique	Abréviation	Charge	Marque
β-lactamines	Ampicilline	AM	10μg	Bio Maxima, Poland.
	Pénicilline	PEN	10μg	
	Amoxicilline	AMX	25μg	
	Imipenème	IMP	10 μg	
	Céfotaxime	CTX	5μg	
	Oxacilline	OX	5μg	
	Ceftazidime	CAZ	30μg	
Macrolides	Érythromycine	E	5μg	Bio Maxima, Poland.
	Clindamycine	DA	2μg	
Aminosides	Streptomycine	STR	300μg	Bio Maxima, Poland.
	Gentamycine	CN	120μg	
Glycopeptides	Pristinamycine	PRI	15μg	Bio Maxima, Poland.
	Vancomycine	VAN	30μg	
	Teicoplanine	TEC	30μg	
Sulfamides	Sulfaméthoxazole	FMX	200μg	Bio Maxima, Poland.
Fluoroquinolones	Lévofoxacine	LEV	5μg	Bio Maxima, Poland.
	Ciprofloxacine	CIP	5μg	
Cyclines	Tétracycline	TET	30μg	Bio Maxima, Poland.
	Tigécycline	TGC	15μg	
	Doxycycline	DOX	30μg	

Famille Antibiotique	Antibiotique	Abréviation	Charge	Marque
Autres Familles	Nitrofurantoïne	NFT	300µg	Bio Maxima, Poland.
	Linézolide	LZD	30µg	
	Rifamycine	RIF	5µg	
	Quinupristine	QNU	15µg	
	Dalfopriline	DAL	15µg	
	Rifampine	RIF\RMP	5µg	

1.7.2. Antibiogramme automatisé

Le système Vitek 2 est une collection d'équipements, composé d'un automate, d'un ordinateur et de cassettes, qui facilitent l'identification, ainsi que la détermination du profil de sensibilité des bactéries aux antibiotiques. L'identification bactérienne est réalisée grâce à une « carte Vitek® ». Il existe plusieurs cartes qui donnent la possibilité de différencier des groupes de bactéries. Il s'agit des cartes de plastique qui comportent différents tests biochimiques : des tests enzymatiques et des tests d'acidification. Chaque carte comportant un nombre important de tests, ce qui garantit un diagnostic précis. Le test d'identification peut être effectué entre quatre à six heures, ce qui permet de porter un diagnostic précis et rapide. La lecture des résultats se fait par colorimétrie.

- L'analyse d'un antibiogramme automatisé est effectuée à l'aide de l'appareil Vitek 2.
- À l'aide d'une pipette, prélever quelques colonies et les placer en suspension uniforme dans 3 ml de solution saline à 0,45 % ;
- Ensuite, standardiser la solution bactérienne à l'aide du DensiChek Plus, pour avoir une densité optique comprise entre 0,5 et 0,63 Mac Ferland ;
- Transférer 280 µl de cette suspension dans un autre tube contenant 3 ml de solution saline ;
- Enfin, placer les cartes sur la cassette en immergeant les pailles de transfert dans les tubes.

Résultats et discussion

Partie expérimentale

1. Résultats

1.1. Prévalence des entérocoques

Au cours de notre étude au service de microbiologie du CHU de Tizi Ouzou, 25 prélèvements d'hémoculture se sont révélés positifs à l'*Enterococcus* spp sur un total de 1600 prélèvements, soit un taux de 1,56%. Un prélèvement est considéré positif s'il contient au moins une colonie caractéristique d'*Enterococcus* spp (Figure 11, Figure 12). Ces colonies caractéristiques ont fait l'objet d'une purification, puis d'une identification biochimique et ceci pour déterminer les espèces d'entérocoques.



Figure 11 : Aspect des colonies Caractéristiques d'*Enterococcus faecium* Sur gélose au sang (photographie prise au laboratoire).



Figure 12 : Aspect des colonies Caractéristiques d'*Enterococcus faecalis* Sur gélose au sang (photographie prise au laboratoire).

Tableau VI: Nombre et pourcentage de prélèvements d'hémocultures positives et négatives à l'*Enterococcus* spp.

Prélèvement	Nombre d'hémocultures	Pourcentage%
Négatif	1575	98.44%
Positif	25	1.56%
Total	1600	100%

1.2. Répartition des espèces d'entérocoques parmi les souches isolées

Au cours de cette étude, 25 isolats d'*Enterococcus* spp, ont été isolés. L'identification biochimique des isolats a révélé 17 (63%) souches d'*Enterococcus faecalis* et 8 (37%) souches d'*Enterococcus faecium* (Figure 13).

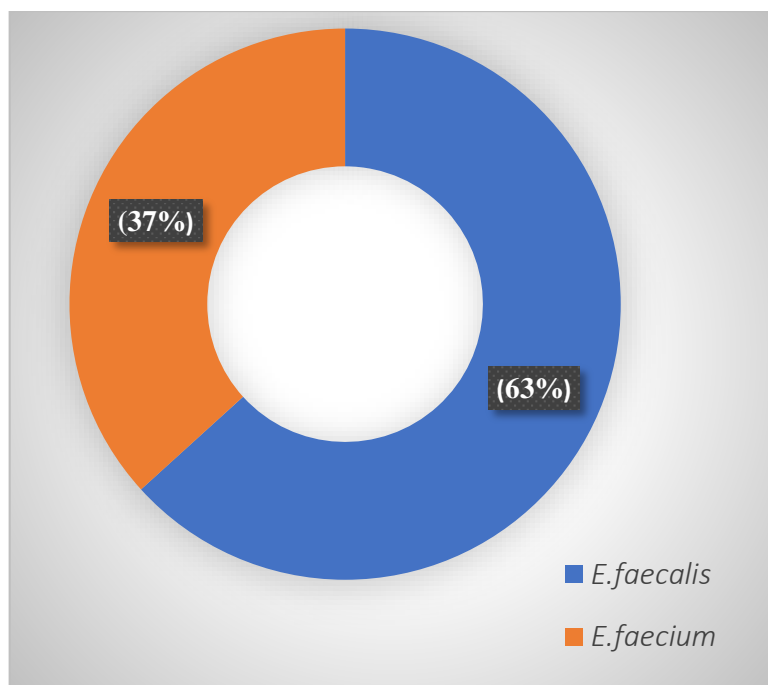


Figure 13: Répartition des espèces d'*Enterococcus faecalis* et d'*Enterococcus faecium* parmi les souches isolées

1.3. Répartition des prélèvements d'hémocultures positives

1.3. 1. selon le sexe

Sur les 25 prélèvements d'hémocultures positives, 13 (52%) proviennent de patients de sexe masculin et les 12 (48%) autres proviennent de patients de sexe féminin (Figure 14).

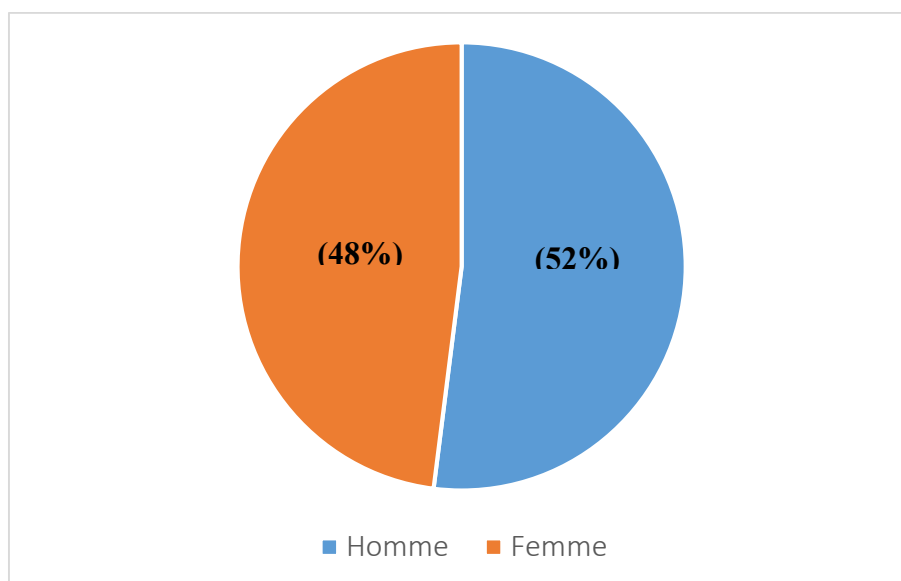


Figure 14: Nombre et pourcentage d’hémocultures positives selon le sexe des individus

1.3.2. Selon l’âge des patients

Les fiches d'information n'indiquent pas spécifiquement l'âge des patients, mais les classifient en « enfants » et « adultes ». Parmi les 25 échantillons positifs, 8% concernent des enfants. Tandis que, 92 % des prélèvements positifs concernent des adultes (Figure 15), ce qui signifie que les infections à entérocoques dans les hémocultures sont plus fréquentes chez adultes que chez les enfants.

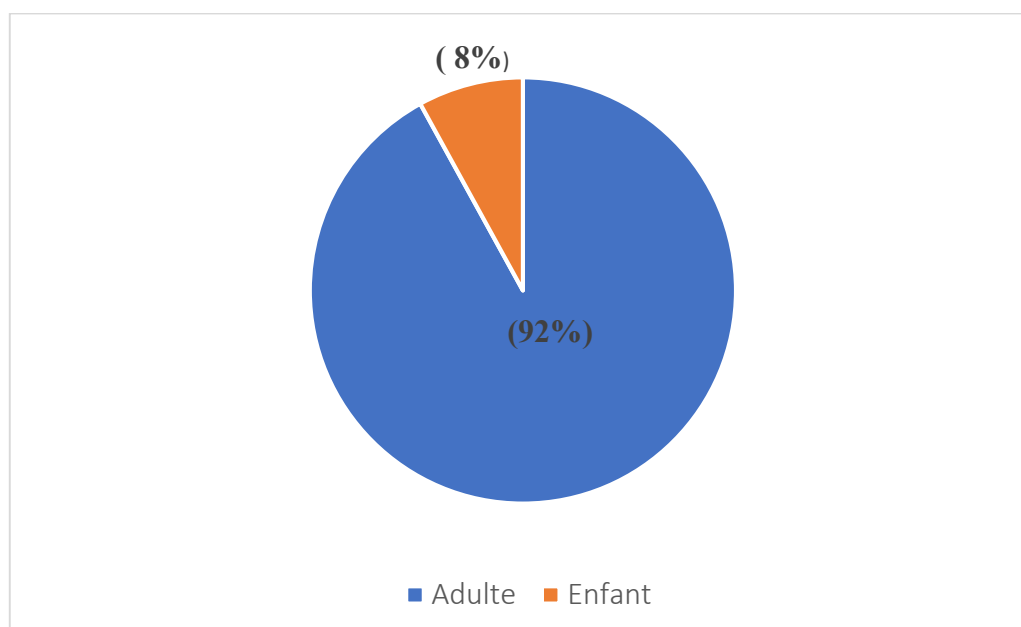


Figure 10: Répartition des prélèvements d’hémocultures positives selon l’âge des individus

1.3.3. Selon le service de provenance

Un taux de positivité a été noté pour les urgences médicales, atteignant 24%, suivi du service de réanimation chirurgicale, avec un taux de 16%. En revanche, seulement 12% des prélèvements positifs proviennent de ces départements : réanimation médicale et maladies infectieuses. De faibles taux (4%) sont observés aux services de pédiatrie et celui de réanimation (Tableau VII).

Tableau VII: Répartition des prélèvements positifs selon les services de provenance.

Service	Nombre de prélèvements positifs	Pourcentage %
Urgence médicale	6	24%
Urgence chirurgicale	1	4%
Urgence pédiatrie	1	4%
Urgence Néonatalogie	2	8%
Réanimation médicale	3	12%
Réanimation chirurgicale	4	16%
Réanimation	1	4%
Maladies infectieuses	3	12%
CAC Dbk	1	4%
Externe	2	8%
Hématologie	1	4%
Total	25	100%

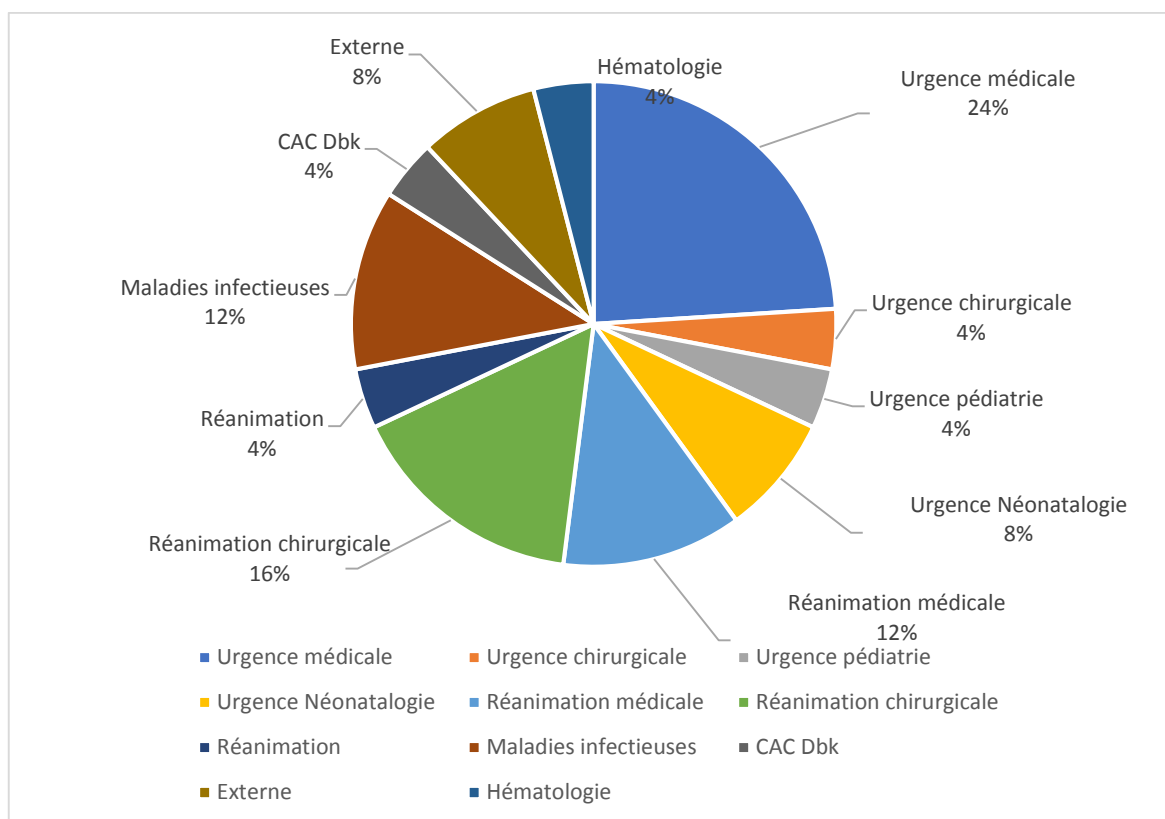


Figure 11: Répartition des prélèvements d’hémocultures positifs selon les services de provenance

1.4. Antibiorésistance des souches d’entérocoques isolées

L’étude de la résistance aux différents antibiotiques des souches isolées a montré une résistance élevée à la céfotaxime, l’oxacilline, la clindamycine, le sulfaméthoxazole, la quinupristine ainsi que la dalfopriline (100%). Des niveaux de résistance relativement élevés ont été observés contre la pristinaquine (75%), la tétracycline (71%), l’imipénème, l’érythromycine, la rifampine (67%).

Cependant, de faibles résistances ont été enregistrées vis-à-vis de la gentamicine (27%), la pénicilline et la streptomycine (18%) et de la vancomycine (9%). Aucune résistance n’a été observée vis-à-vis de la linézolide, la nitrofurantoïne, la doxycycline, la tigécycline et la ceftazidime (Tableau VIII).

Tableau VIII: Résistances des souches d'entérocoques vis-à-vis des antibiotiques testés.

Antibiotiques	Résistantes	Sensibles	Intermédiaires
	Nombre (%)	Nombre%	Nombre%
Ampicilline	1 (7%)	14 (93%)	0 (0%)
Pénicilline	2 (18%)	9 (82%)	0 (0%)
Amoxicilline	4 (40%)	6 (60%)	0 (0%)
Imipenème	2 (67%)	1(33%)	0 (0%)
Céfotaxime	9 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
Oxacilline	3 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
Ceftazidime	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Érythromycine	12 (67%)	4 (22%)	2 (11%)
Clindamycine	7 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
Streptomycine	3 (18%)	14 (82%)	0 (0%)
Gentamycine	6 (27%)	16 (73%)	0 (0%)
Pristinamycine	9 (75%)	3 (25%)	0 (0%)
Vancomycine	2 (9%)	20 (91%)	0 (0%)
Teicoplanine	1(17%)	5 (83%)	0 (0%)
Sulfaméthoxazole	1(100%)	0 (0%)	0 (0%)
Lévofloxacine	6 (25%)	16 (67%)	2 (8%)
Ciprofloxacine	0 (0%)	0 (0%)	1 (100%)
Tétracycline	12 (71%)	5 (29%)	0 (0%)
Tigécycline	0 (0%)	12 (100%)	0 (0%)
Doxycycline	0 (0%)	1 (100%)	0 (0%)
Nitrofurantoïne	0 (0%)	8 (80%)	2 (20%)
Linézolide	0 (0%)	7 (88%)	1 (12%)
Quinupristine	12 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
Dalfopriline	3 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
Rifampine	2 (67%)	0 (0%)	1 (33%)

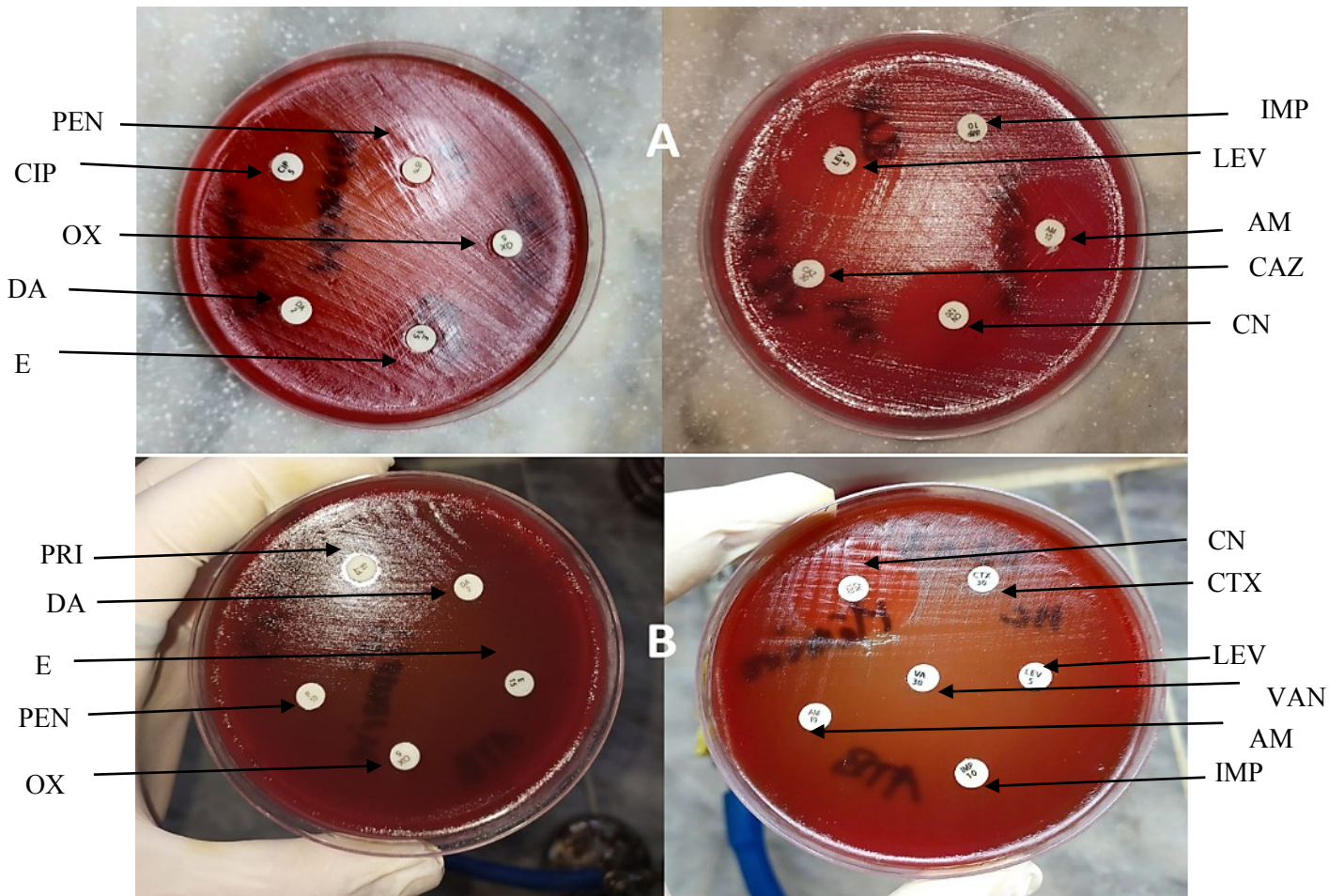


Figure 12: Profil de résistance d'une souche d'*Enterococcus faecalis* (A), et d'*Enterococcus faecium* (B) (photo prise au laboratoire).

Tableau IVIII: Profil de résistance des souches d'*Enterococcus faecalis*.

Antibiotiques	Résistantes	Sensibles	Intermédiaires
	Nombre (%)	Nombre%	Nombre%
Ampicilline	0 (0%)	11(100%)	0 (0%)
Pénicilline	1 (11%)	8 (89%)	0 (0%)
Amoxicilline	1 (14%)	6 (86%)	0 (0%)
Imipenème	0 (%)	1 (100%)	0 (0%)
Céfotaxime	8 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
Oxacilline	2 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
Ceftazidime	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Érythromycine	8 (73%)	1 (9%)	2 (18%)
Clindamycine	5 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
Streptomycine	2 (15%)	11 (85%)	0 (0%)
Gentamycine	3 (20%)	12 (80%)	0(0%)
Pristinamycine	7 (88%)	1 (12%)	0 (0%)
Vancomycine	0 (0%)	15 (100%)	0 (0%)
Teicoplanine	0 (0%)	4 (100%)	0 (0%)
Sulfaméthoxazole	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Lévofloxacine	4 (25%)	12 (75%)	0 (0%)
Ciprofloxacine	0 (0%)	0 (0%)	1(100%)
Tétracycline	9 (75%)	3 (25%)	0 (0%)
Tigécycline	0 (0%)	8 (100%)	0 (0%)
Doxycycline	0 (0%)	1 (100%)	0 (0%)
Nitrofurantoïne	0 (0%)	5 (100%)	0 (0%)
Linézolide	0 (0%)	5 (100%)	0 (100%)
Quinupristine	3 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
Dalfopristine	3 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
Rifampine	2 (67%)	1 (33%)	0 (0%)

Tableau IX: profil de résistance d'*Enterococcus faecium*.

Antibiotiques	Résistantes	Sensibles	Intermédiaires
	Nombre (%)	Nombre%	Nombre%
Ampicilline	1 (25%)	3 (75%)	0 (0%)
Pénicilline	1 (25%)	3 (75%)	0 (0%)
Amoxicilline	3 (75%)	1 (25%)	0 (0%)
Imipenème	2 (100%)	0(0%)	0 (0%)
Céfotaxime	3 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
Oxacilline	1 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
Ceftazidime	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Érythromycine	4 (57%)	3 (43%)	0 (0%)
Clindamycine	2 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
Streptomycine	1 (20%)	4 (80%)	0 (0%)
Gentamycine	3 (43%)	4 (57%)	0 (0%)
Pristinamycine	2 (50%)	2 (50%)	0 (0%)
Vancomycine	2 (34%)	4 (66%)	0 (0%)
Teicoplanine	1(25%)	3 (75%)	0 (0%)
Sulfaméthoxazole	1 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
Lévofloxacine	2 (29%)	4 (57%)	1 (14%)
Ciprofloxacine	0 (0%)	(0%)	0 (0%)
Tétracycline	3 (60%)	2 (40%)	0 (0%)
Tigécycline	0 (0%)	5 (100%)	0 (0%)
Doxycycline	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Nitrofurantoïne	0 (0%)	3 (100%)	0 (0%)
Linézolide	0 (0%)	4 (100%)	0 (0%)
Quinupristine	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Dalfopristine	0 (0%)	(0%)	0 (0%)
Rifampine	0 (0%)	(0%)	1 (100%)

Des taux élevés de résistance ont été enregistrées vis-à-vis de la céfotaxime (100%), l'oxacilline (100%), la pristinaamycine (88%), la quinupristine (100%), la dalfopriline (100%) et rifampine (67%) pour les souches d'*E. faecalis*. Tandis que, les souches d'*E. faecium*, en plus de leurs résistances vis-à-vis de la céfotaxime (100%) et l'oxacilline (100%), ces dernières ont exprimé aussi de forte résistance à l'encontre de l'imipénème (100%), la clindamycine (100%), le sulfaméthoxazole (100%) et la tétracycline (67%). De faibles taux de résistances ont été observés vis-à-vis des autres molécules pour les deux espèces (Tableau IX, Tableau X).

Au cours de cette étude, 17 (68%) souches ont exprimé des phénotypes de multi-résistance. Les phénotypes les plus observés étaient : CTX, OX, DA, FTR, CN, PRI, TET (3 souches), CTX, OX, DA, TET, RIF (3 souches) et CTX, OX, DA, TET (3 souches) (Tableau XI).

Tableau X: Nombre et phénotypes des souches multi-résistantes.

Phénotypes de multi-résistance	Nombre de souches
AM, PEN, AMX, IPM, CTX, OX, DA, FMX, TMP, TET, QNU, DAL	1
CTX, OX, DA, FTR, CN, PRI, TET	3
CTX, OX, DA, PRI, TET, RIF	1
CTX, OX, DA, TET, RIF, QNU, DAL	1
CTX, OX, DA, TET, RIF	3
CTX, OX, DA, STR, CN	2
CTX, OX, DA, VAN, STR, CN	1
CTX, OX, DA, TET, QNU, DAL	1
CTX, OX, DA, TET	3
CTX, OX, DA, RIF	1

2.2. Discussion

Durant cette étude menée au CHU Nedir Mohamed, nous avons isolé et identifié des entérocoques à partir de prélèvements cliniques (hémocultures), la fréquence d'isolement des entérocoques est relativement faible. En effet, sur un total de 1600 prélèvements d'hémocultures, 25 se sont révélés positifs, soit un taux d'isolement de 1.56%. Ce taux est inférieur à celui rapporté par Chikiken et Moussouni (2022), avec une valeur de 10,71%. Sur le plan international, notre résultat apparaît également au-dessous des fréquences d'isolement rapportées dans certaines études. La fréquence d'isolement était de 2,4 % en Pologne (Kozłowska et al., 2019), 3.1% au Vietnam (Nguyen et al., 2019), 4.2% au Nigéria (Olayemi et al., 2021). Ces écarts entre les fréquences d'isolement pourraient s'expliquer par des différences dans les pratiques de dépistage, la charge bactérienne nosocomiale, les protocoles de prise en charge, ou encore les conditions d'hygiène hospitalière et les méthodes de culture utilisées.

Pendant notre étude 52% patients étaient du sexe masculin et 48% du sexe féminin, ce qui est identique avec les résultats de (Koussa et al., 2018) (52% pour le sexe masculin et 48% pour le sexe féminin). En revanche, (Bocella et al., 2021) ont rapporté que les infections à entérocoques touchaient plus les femmes (58.7%) que les hommes (41.3%).

Le nombre de cas d'infections à entérocoques est rencontré chez les adultes avec un taux de 92%. Ces résultats se rapprochent de ceux retrouvés dans l'étude réalisée au CHU de Tlemcen, avec un taux de 81% pour les adultes (Rahmoun, 2021). Sur un nombre total de 25 souches, 62% (n=17) des souches appartenaient à *Enterococcus faecalis* et 36% (n=8) à *Enterococcus faecium*. Selon Besnier (1994), plusieurs études ont montré qu'*E. faecalis* est l'espèce la plus prédominante des entérocoques dans les infections cliniques, avec un taux de 80-85%, suivi par *E. faecium* avec un taux de 10-15 %. Nos résultats corroborent avec ceux de plusieurs auteurs, qui ont montré que *E. faecalis* était l'espèce la plus impliquée dans les différentes infections (Billington et al., 2014 ; Bocella et al., 2021 ; Iancu et al., 2023).

Les résultats obtenus montrent que les fluoroquinolones sont actives sur *E. faecium* et *E. faecalis*. En effet, de faibles résistances vis-à-vis de la lévofloxacine ont été enregistrées, avec des valeurs de 29% et 25%, contre les souches d'*E. faecium* et d'*E. faecalis*, respectivement. Ces résultats ne rejoignent pas ceux de l'étude faite au niveau du Centre hospitalo-universitaire de Tlemcen, où des taux relativement élevés de résistances ont été observés contre la ciprofloxacine, avec des valeurs de 30% pour les souches d'*E. faecalis* et 44% pour les souches

d'*E. faecium*. Lancu et al (2023) ont annoncé une résistance de 41.9% vis-à-vis de la ciprofloxacine, aussi bien contre les souches d'*E. faecalis* et d'*E. faecium*.

La résistance des entérocoques aux β -lactamines est généralement due à deux mécanismes distincts : une surproduction de protéine liant la pénicilline (PLP5), avec une faible affinité pour les β -lactamines ou une synthèse de β -lactamases, qui apparaît beaucoup plus prononcée chez *E. faecium* que chez *E. faecalis* (O'Driscoll et al, 2015). Une étude a montré une différence de sensibilité à l'ampicilline pour les souches d'*E. faecalis* et *E. faecium*, avec des taux de résistance de 2% et de 71%, respectivement (Celik et al., 2014). Ces résultats se rapprochent de ceux de notre étude (0% de résistance à l'ampicilline pour *E. faecalis* et 25% pour *E. faecium*). En revanche, ces taux de résistance sont nettement inférieurs aux taux de résistance de l'année 2014-2015 publiés par le réseau national de surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques (AARN). Sachant que les isolats d'*E. faecium* caractérisés par une résistance à l'ampicilline sont fréquemment associés à des épidémies hospitalières (Zhou et al., 2020).

D'après Hidron et al (2008), selon une étude faite au niveau des hôpitaux du National Health Care Safety Network (NHSN) au Royaume Uni, le taux de résistance d'*E. faecalis* à la vancomycine est d'environ 5%, ce qui nettement supérieur aux résultats de notre étude (0%). De plus, nos résultats ne rejoignent pas ceux de l'étude effectuée en Inde où la prévalence des souches d'*Enterococcus faecalis* résistantes à la vancomycine était comprise entre 2% et 6% (Taneja et al., 2004 ; Kapoor et al., 2005). L'étude épidémiologique interne (2022) du laboratoire de Microbiologie de Tizi-Ouzou a révélé un taux résistance à la vancomycine de 3,125% pour *E. faecalis* et de 5,88% pour *E. faecium*. Nos résultats ont rapporté un taux de 34% pour *E. faecium* et aucune résistance pour *E. faecalis*. Jusqu'à présent la vancomycine était pratiquement le seul antibiotique efficace pour traiter les infections à entérocoques multirésistants. Grâce à son activité contre le *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) et d'autres bactéries à Gram positif, la vancomycine a été largement utilisée pour la thérapie et la prophylaxie contre les différentes infections bactériennes (Khachab et al., 2025). La résistance à la vancomycine est due à l'acquisition de la souche de l'opéron *Van*, codant pour des enzymes impliquées dans la synthèse de précurseurs du peptidoglycane de faible affinité pour la vancomycine (Cattoir et leclercq, 2010).

Conclusion

Les infections à entérocoques, bien qu'elles soient moins fréquentes que celles provoquées par d'autres cocci à Gram positif, sont un problème en pleine expansion dans le milieu hospitalier, notamment dans les unités de soins intensifs et chez les immunodéprimés. Ces bactéries, qui sont une partie de la flore digestive normale, peuvent se manifester et provoquer des infections graves, telles que des bactériémies.

Notre étude avait pour but l'isolement, l'identification biochimique et l'étude la résistance aux antibiotiques des entérocoques issus d'hémocultures. Une faible fréquence d'isolement a été enregistrée, avec une valeur de 1.56%. L'identification biochimique des isolats a révélé la présence de deux espèces, à savoir *E. faecalis* (63%) et *E. faecium* (37%). Des taux élevés de résistance ont été enregistrés vis-à-vis de la céfotaxime, et l'oxacilline, la quinupristine et dalfoプリistine (100%), de la pristina mycine (88%), et rifampine (67%) contre les souches d'*E. faecalis*. Tandis que, les souches d'*E. faecium*, en plus de leurs résistances vis-à-vis de la céfotaxime, l'oxacilline, l'imipenème, clindamycine, sulfaméthoxazole (100%), et (67%) contre la tétracycline. De faibles taux de résistances ont été observés vis-à-vis des autres molécules pour les deux espèces.

Les résultats soulignent l'importance d'un diagnostic rapide et fiable des entérocoques dans les hémocultures, afin d'optimiser la prise en charge et de limiter la propagation des souches multirésistantes. Face à l'augmentation des résistances, une surveillance ciblée, le respect strict des règles d'hygiène et un usage raisonné des antibiotiques sont essentiels pour préserver l'efficacité des traitements.

Ce présent travail ouvre plusieurs perspectives, parmi lesquelles :

- Détection des souches multi-résistantes : renforcer la surveillance pour mieux anticiper les résistances émergentes.
- PCR et séquençage : utiliser des outils moléculaires pour identifier les gènes de résistance avec précision.
- Étude d'associations d'antibiotiques : explorer des combinaisons thérapeutiques pour améliorer l'efficacité des traitements.
- Étude des biofilms : mieux comprendre leur rôle dans la persistance bactérienne et adapter les stratégies anti-infectieuses.
- Bon usage des antibiotiques : promouvoir une prescription raisonnée pour limiter l'émergence de résistances.



**Références
bibliographiques**

A

- Aguilar-Gálvez, A., Abriouel, H., Lucas, R., Maqueda, M., & Valdivia, E. (2012). Diversité et potentiel des entérocoques isolés de fromages artisanaux espagnols. *Food Microbiology*, 31(2), 251-258.
- Ahmed, M. O., & Baptiste, K. E. (2018). Vancomycin-resistant enterococci: A review of antimicrobial resistance mechanisms and perspectives of human and animal health. *Microbial Drug Resistance*, 24(5), 590–606.
- Aires, J. (2011). Les systèmes d'efflux actifs bactériens : caractérisation et modélisation pour quelles perspectives ? *Bulletin de l'académie vétérinaire de France*, 164(3), 209-218.
- Alifano, P., Palumbo, C., Pasanisi, D., & Talà, A. (2015). Rifampicin-resistance, rpoB polymorphism and RNA polymerase genetic engineering. *Journal of Biotechnology*, 202, 60–77.
- Almeida, A., Gregson, D. B., Pitout, J. D. D., Ross, T., Laupland, K. B., Church, D. L., ... & Mulvey, M. M. R. (2014). Increasing antimicrobial resistance in *Enterococcus faecalis* bloodstream infections in Canada: results from a Canadian national surveillance study, 2007–12. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 69(12), 3263-3269.
- Aminov, R. I. (2010). A brief overview of the ecology of bacterial antibiotic resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 23(2), 371–391.
- Arias, C. A., & Murray, B. E. (2012). La montée de l'entérocoque : au-delà de la résistance à la vancomycine. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(7), 631-635.
- Arias, C. A., & Murray, B. E. (2012). The cytolysin of *Enterococcus faecalis*: a critical determinant of virulence in nosocomial infections caused by vancomycin-resistant enterococci. *Clinical Microbiology Reviews*, 25(1), 138-159.

B

- Beceiro, A., Tomás, M., & Bou, G. (2013). Antimicrobial resistance and virulence: a successful or deleterious association in the bacterial world? *Clinical Microbiology Reviews*, 26(2), 185-230.
- Bertucci, E., Barreto, C. C., & Silva, W. P. (2020). *Enterococcus* : un aperçu de son importance dans la santé et les maladies humaines. In *Microbial Diversity in the Genomic Era* (pp. 1-16). IntechOpen.

- Billington E.O, Phang S.H, Gregson D.B, Pitout J.D.D, Ross T, Church D.L, Laupland K.B, Parkins M.D. (2014). Incidence, Risk Factors, and Outcomes for Enterococcus spp. Blood Stream Infections: A Population-Based Study. *International Journal of Infectious Diseases*, 26: 76-82.
- Blair, J. M. A., Webber, M. A., Baylay, A. J., Ogbolu, D. O., & Piddock, L. J. V. (2015). Molecular Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Nature Reviews Microbiology*, 13(1), 42–51.
- Boccella M, Santella B, Pagliano P, De Filippis A, Casolaro V, Galdiero M, Borrelli A, Capunzo M, Boccia G, Franci G. (2021). Prevalence and Antimicrobial Resistance of *Enterococcus* Species: A Retrospective Cohort Study in Italy. *Antibiotics*, 10, 1552.
- Bush, K., & Bradford, P. A. (2016). β -lactams and β -lactamase inhibitors: An overview. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 6(8), a025247.
- Bush, K., & Jacoby, G. A. (2010). Updated Functional Classification Of β -Lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(3), 969–976.

C

- Cattoir, V., & Leclercq, R. (2010). Twenty-five years of shared life with vancomycin-resistant enterococci: is it time to divorce? *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 65(4), 731–742.
- Chen, M. Y., Lira, F., Liang, H. Q., Wu, R. T., Duan, J. H., Liao, X. P., ... & Zeng, Z. L. (2016). Multilevel selection of bcrABDR-mediated bacitracin resistance in *Enterococcus faecalis* from chicken farms. *Scientific Reports*, 6(1), 34895.
- Chow, J. W. (2000). Aminoglycoside resistance in enterococci. *Clinical Infectious Diseases*, 31(2), 586–589.
- Cynthia M, K., & Khan, B. A. (2008). *Le manuel du vétérinaire Merck. Partie: les antibiotiques (9ème éd.)*. France.

D

- Del Papa MF, Hancock LE, Thomas VC, Perego M. (2007). Full Activation of *Enterococcus faecalis* Gelatinase by a C-Terminal Proteolytic Cleavage. *Journal of Bacteriology*, 189(24), 883543.
- Depardieu, F., Podglajen, I., Leclercq, R., Collatz, E., & Courvalin, P. (2001). Mutations in dfrA and sul genes contribute to trimethoprim and sulfamethoxazole resistance in *Escherichia coli* isolates from France. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45(12), 3477-3485.

- Duez, C., Zorzi, W., Sapunarić, F., Amoroso, A., Thamm, I., & Coyette, J. (2001). The penicillin resistance of *Enterococcus faecalis* JH2-2r results from an overproduction of the low-affinity penicillin-binding protein PBP4 and does not involve a *psr*-like gene. *Microbiology*, 147(9), 2561–2569.

E

- Edmond, M. B., Wallace, S. E., McClish, D. K., Pfaller, M. A., Jones, R. N., & Wenzel, R. P. (1999). Nosocomial bloodstream infections in United States hospitals: a three-year analysis. *Clinical Infectious Diseases*, 29(2), 239-244.

F

- Facklam, R., Collins, M. D., & Jones, D. (2002). *Enterococcus*. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Vol. 5, Part C, pp. 146-167).
- Fiedler, S., Bender, J. K., Klare, I., Halbedel, S., Grohmann, E., Szewzyk, U., & Werner, G. (2016). Tigecycline resistance in clinical isolates of *Enterococcus faecium* is mediated by an upregulation of plasmid-encoded tetracycline determinants *tet(L)* and *tet(M)*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71(4), 871–881.
- Finley, R. L., Collignon, P., Gaze, W. H., Kumar, S., Wellington, E. M., & McEwen, S. A. (2013). The scourge of antibiotic resistance: the important role of the environment. *Clinical Infectious Diseases*, 57(8), 1124–1132.
- Fosseprez, L. (2013). Les mécanismes de résistance aux antibiotiques chez les bactéries Gram positif. *Revue Médicale de Liège*, 68(5-6), 247-253.
- Franz, C. M. A. P., Holzapfel, W. H., & Stiles, M. E. (2011). Les entérocoques à la croisée des chemins de la sécurité alimentaire et de la santé publique. *International Journal of Food Microbiology*, 151(1), 1-.
- Freney, J., Hansen, W., Etienne, J., Boeufgras, J. M., & Fleurette, J. (1992). Étude comparative des caractéristiques phénotypiques et génétiques des souches d'*Enterococcus avium* isolées de sources humaines et animales. *Journal of Clinical Microbiology*, 30(10), 2697-2703.

G

- Gálvez, A., Abriouel, H., Valdivia, E., & Martínez-Bueno, M. (2012). Bactériocines des bactéries lactiques pour la biopréservation des aliments. *Foods*, 1(3), 203-221.
- Gänzle, M. G. (2014). Conversions enzymatiques et bactériennes pendant la fermentation du levain. *Food Microbiology*, 37(0), 2-10.

- Gänzle, M. G. (2014). Écologie, diversité et métabolisme des bactéries lactiques du levain. In *Sourdough Microbiology and Biochemistry* (pp. 69-125). AACC International Press.
- García-Solache, M., & Rice, L. B. (2019). Le problème *Enterococcus* : infections nosocomiales et communautaires. *Clinical Microbiology Reviews*, 32(3), e00058-19.
- García-Solache, M., & Rice, L. B. (2019). The *Enterococcus*: a model of adaptability to its environment. *Clinical Microbiology Reviews*, 32(2), e00058-18.
- Garsin, D., Frank, K. L., Silanpää, J., Ausubel, F., Hartke, A., Shankar, N., & Murray, B. (2014). Pathogenesis and Models of Enterococcal Infection.
- Gilmore, M. S., Lebreton, F., & van Schaik, W. (2013). Plasticité génomique des entérocoques et son impact sur la résistance aux antimicrobiens et la virulence. *Current Opinion in Microbiology*, 16(5), 563-569.
- Giraffa, G. (2002). Enterococci from foods. *FEMS Microbiology Reviews*, 26, 163–171.
- Giraffa, G. (2002). Les entérocoques dans les aliments. *International Journal of Food Microbiology*, 80(1-2), 1-18.
- Goka, S., Shailaja, V. V., Rao, S. R., & Nagamani, K. (2021). Rapport de cas de péritonite bactérienne spontanée et agents causatifs.

H

- Hadjadj, L., Benhassine, S., Touati, A., Benamar, S., & Drissi, M. (2023). Molecular characterization of tetracycline resistance genes in *Enterococcus* species isolated from different origins in Algeria. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1154542.
- Hanachi, M. (2018). Enterococci: aspects généraux et rôle dans les maladies humaines. In *Bacterial Infections - Recent Advances* (pp. 1-18).
- Harada, T., Kawahara, R., Kanki, M., Taguchi, M., & Kumeda, Y. (2012). Isolation and characterization of vanA genotype vancomycin-resistant *Enterococcus cecorum* from retail poultry in Japan. *International Journal of Food Microbiology*, 153(3), 372–377.
- Hidron, A. I., Edwards, J. R., Patel, J., Horan, T. C., Sievert, D. M., Pollock, D. A., & Fridkin, S. K. (2008). NHSN annual update: Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: Annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the CDC, 2006–2007. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 29(11), 996–1011.

- Horaud, V., Bouvet, A., Leclercq, R., & développement, Y. (1990). Évolution de la sensibilité aux antibiotiques des streptocoques du groupe D (entérocoques) au cours d'une période de 20 ans. *Annales de l'Institut Pasteur/Microbiologie*, 141(2), 147-159.

I

- Iancu A.V, Arbune M, Zaharia E.A, Tutunaru D, Maftai N.M, Peptine L.D, Tocu G, Gurău, G. (2023). Prevalence and Antibiotic Resistance of Enterococcus spp: A Retrospective Study in Hospitals of Southeast Romania. *Applied Sciences*, 13, 3866.

J

- Jawetz, M., Melnick, J. L., & Adelberg, E. A. (2016). *Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology* (27ème éd.).
- Jehl, F., Adier, C., Cosserat, L., Widmer, J. E., & Marchou, B. (2012). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of antibiotics in intensive care unit patients. *Clinical Pharmacokinetics*, 51(6), 353-380.
- JONES, R. N. (2001). Resistance patterns among nosocomial pathogens: trends over the last few years. *Chest*, 119(6), 397-404.

K

- Kapoor, L., Randhawa, V. S., & Deb, M. (2005). Antimicrobial resistance of enterococcal blood isolates at a pediatric tertiary care center: A cause of concern. *Indian Journal of Medical Research*, 121, 139–144.
- Kayser, F. H., Bienz, K. A., Eckert, J., & Zinkernagel, R. M. (2003). *Medical Microbiology: A Short Course* (5th ed.). Stuttgart, Germany : Thieme.
- Khachab Y, Khoumassi R, Sokhn E.S. (2025). Prevalence and antimicrobial resistance of gram-positive pathogens in Lebanon: The need for surveillance and stewardship. *Nes Microbes and New Infections*, 65, 101588.
- Klein, E. Y., Milkowska-Shibata, M., Tseng, K. K., Sharland, M., Gandra, S., Pulcini, C., ... & Laxminarayan, R. (2021). Assessment of WHO antibiotic consumption and access targets in 76 countries, 2000–15: an analysis of pharmaceutical sales data. *The Lancet Infectious Diseases*, 21(1), 107-115.
- Klein, G. (2003). Taxonomy, ecology and metabolic activities of probiotic enterococci. *International Journal of Food Microbiology*, 88(1), 123-131.
- Kotra, L. P., Haddad, J., & Mobashery, S. (2000). Aminoglycosides: Perspectives on mechanisms of action and resistance and strategies to counter resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44(12), 3249–3256.

- Kozłowska, E., Mikołajczyk, A., & Literacka, E. (2019). Invasive enterococcal infections in Poland: the current epidemiological situation. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 38(2), 315–321.
- Krawczyk, B., Holowka, T., Michalewska, M., & Katarzyna, K. (2018). The ABC transporter EfrAB in *Enterococcus faecalis*: A key player in multidrug resistance and virulence. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2814.

L

- Le Blanc, D. (2006). *Enterococcus*. In *Prokaryotes* (Vol. 4, pp. 175-204).
- Lebreton, F., Willems, R. J. L., & Gilmore, M. S. (2014). Diversity of *Enterococcus*, origins in specific niches and antibiotic resistance challenges. *PLoS Pathogens*, 10(1), e1003823.
- Liu, C. M., Hu, Y. Y., Chen, Y. W., Yeh, Y. T., Lin, T. L., & Chang, K. C. (2020). Prévalence et diversité élevées des facteurs de virulence chez les isolats cliniques d'*Enterococcus faecalis* d'un hôpital taïwanais. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 53(1), 113-120.
- Ludwig, W., Schleifer, K. H., & Whitman, W. B. (1987). Revised definitions of the genera and species of the genus *Streptococcus* and related genera. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Vol. 2, pp. 1043-1065). Williams & Wilkins.

M

- Manson, J. M., Keis, S., Smith, J. M. B., & Cook, G. M. (2004). Acquired bacitracin resistance in *Enterococcus faecalis* is mediated by an ABC transporter and a novel regulatory protein, BcrR. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(10), 3743–3748.
- Marshall, S. H., Donskey, C. J., Hutton-Thomas, R., Salata, R. A., & Rice, L. B. (2002). Gene dosage and linezolid resistance in *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46(10), 3334–3336.
- Mehdi, S. (2008). La fréquence des bactéries multi résistante à l'hôpital Hassan ii de Settat. THESE. [en ligne]. Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie, rabat : université mohammed v faculté de médecine et de pharmacie, 48-51 p.
- Miller, W. R., Munita, J. M., & Arias, C. A. (2014). Mechanisms of antibiotic resistance in enterococci. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 12(10), 1221–1236.

- Mirzaii, M., Salehi, M., & Badmasti, F. (2023). Antibiotic resistance assessment and multi-drug efflux pumps of *Enterococcus faecium* isolated from clinical specimens. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 17(7), 977–984.
- Montealegre, M. C., Roh, J. H., Rae, M., Davlieva, M. G., Singh, K., Shamoo, Y., & Murray, B. E. (2017). Differential levels of penicillin-binding protein 5 (PBP5) in *Enterococcus faecium* clades with different levels of ampicillin resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 61(4), e02034-16.
- Monticelli, S., Taverniti, V., Gardana, C., Arioli, S., & Neviani, E. (2018). Le microbiote intestinal et la santé humaine : le cas d'*Enterococcus*. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1102.
- Müller, A., Bauer, R., & Schmidt, H. (2021). The genus *Enterococcus*: importance in veterinary medicine and its role as a reservoir of antimicrobial resistance. *Frontiers in Microbiology*, 12, 642893.
- Murray, B. E., & Murray, M. S. (2020). *Manual of Clinical Microbiology* (12ème éd.).

N

- Nguyen, V. K., Hoang, T. T. T., Nguyen, T. T. H., Nguyen, T. T. L., Nguyen, H. M., Tran, T. H., ... & van Doorn, H. R. (2019). Epidemiology and antibiotic resistance of bloodstream infections at a large tertiary hospital in southern Vietnam. *BMC Infectious Diseases*, 19(1), 1-10.

O

- O'Driscoll, T., & Crank, C. W. (2015). Vancomycin-resistant enterococcal infections: Epidemiology, clinical manifestations, and optimal management. *Infection and Drug Resistance*, 8, 217–230.
- Olayemi, O. O., Ojo, O. E., Adegoke, A. A., & Ahmed, A. S. (2021). A systematic review and meta-analysis on the prevalence of vancomycin-resistant enterococci (VRE) among Nigerians. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 10(1), 1-11.

R

- Rice, L. B. (2001). Antimicrobial resistance in gram-positive bacteria. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 14(3), 315-319.

S

- Sami, H. (2012). Profil de résistance aux antibiotiques des entérocoques isolés au Centre Hospitalier Universitaire Hassan II de Fès. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 42(11), 577-581.
- Santella, G., D'Amore, E., Iovino, P., Capuano, F., Mancusi, A., Balestrieri, A., Veneziano, V., & Veneziano, A. (2019). Occurrence of vancomycin-resistant *Enterococcus* species in wild birds recovered in Southern Italy. *BMC Veterinary Research*, 15, 199.

T

- Taneja, N., Emmanuel, R., Chari, P. S., & Sharma, M. (2004). Significance of vancomycin resistant enterococci from urinary specimens at a tertiary care centre in north India. *Indian Journal of Medical Research*, 119, 72–74.

W

- Wavare, S. S., Takalkar, U. V., & Pujari, V. B. (2015). Species distribution and antibiotic susceptibility pattern of *Enterococcus* isolates from various clinical samples in a tertiary care hospital. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 9(12).

Z

- Zhang, Y., Wang, Q., Wang, X., Jin, S., Li, Y., Zhang, R., ... & Chen, H. (2017). Epidemiology and antimicrobial resistance of bloodstream infections in a tertiary hospital in China: a 10-year surveillance study. *BMC Infectious Diseases*, 17(1), 1-9.
- Zhou, W., Gao, S., Xu, H., Zhang, W., Wang, J., & Xu, Y. (2020). Occurrence and characteristics of *Enterococcus* spp. with acquired drug resistance in natural water. *Journal of Environmental Sciences*, 91, 110–119.

Annexes

Annexe 01 : Provenance des résultats

Numéro du prélèvement	Service	Sexe	Age
23321	Urgence médicale	Femme	Adulte
177	Urgence médicale	Homme	Adulte
3316	Urgence médicale	Homme	Adulte
2753	Maladies infectieuses	Homme	Adulte
3152	Réanimation médicale	Femme	Adulte
3765	Réanimation médicale	Homme	Adulte
4365	Réanimation médicale	Homme	Adulte
2680	Réanimation chirurgicale	Homme	Adulte
20261	Réanimation médicale	Homme	Adulte
2413	Urgence médicale	Femme	Enfant
20440	Urgence médicale	Femme	Adulte
21632	Maladies infectieuses	Femme	Adulte
21811	Urgence médicale	Homme	Adulte
23951	Urgence pédiatrique	Femme	Enfant
645	Réanimation chirurgicale	Homme	Adulte
685	Urgence de néonatalogie	Femme	Enfant
1304	Hématologie	Homme	Adulte
1324	Maladies infectieuses	Femme	Adulte
1606	Urgence de néonatalogie	Femme	Adulte
1788	Réanimation chirurgicale	Homme	Adulte
20353	Externe	Homme	Adulte
642	CAC DBK	Homme	Adulte
2282	Urgence chirurgicale	Femme	Adulte
1357	Réanimation chirurgicale	Femme	Adulte
20355	Externe	Homme	Adulte

Annexe 02 : Les diamètres critiques des antibiotiques testés aux entérocoques.

Familles	Antibiotiques	Abréviations	Diamètres		Références
			R	S	
β-lactamines	Ampicilline	AM	<8	≥10	CASFM 2024
	Pénicilline	PEN	≤14	≥15	CLSI 2024
	Amoxicilline	AMX	≤8	≥ 10	CASFM 2024
	Imipenème	IPM	<21	≥50	CASFM 2024
	Céfotaxime	CTX	-	-	CASFM 2020
	Oxacilline	OX	-	-	CASFM 2013
	Ceftazidime	CAZ	-	-	CASFM 2020
Macrolides	Erythromycine	E	<23	≥23	CASFM 2024
	Clindamycine	DA	-	-	CASFM 2024
Aminosides	Streptomycine	STR	<14	≥14	CASFM 2024
	Gentamycine	CN	<8	≥8	CASFM 2024
Glycopeptides	Pristinamycine	PRI	<22	≥ 22	CAFM2024
	Vancomycine	VAN	≤14	≥17	CLSI 2024
	Teicoplanine	TEC	≤10	≥14	CLSI 2024
Sulfamides	Sulfaméthoxazole	FMX	< 23	≥ 23	CAFM2024
	Triméthoprimine	TMP	<21	≥ 21	CAFM2024
Fluoroquinolones	Lévofoxacine	LEV	≤13	≥17	CLSI 2024
	Ciprofloxacine	CIP	≤15	≥21	CLSI 2024
Cyclines	Tétracycline	TET	≤14	≥19	CLSI 2024
	Tigécycline	TGC	<20	≥20	CAFM2024
	Doxycycline	DOX	-	-	CAFM2023
Autres familles	Nitrofurantoïne	NFT	<15	≥ 15	CAFM2024
	Linézolide	LZD	<20	≥20	CASFM 2024
	Quinupristine	QNU	<18	≥19	CASFM 2020
	Dalfopriline	DAL	<18	≥19	CASFM 2020
	Rifampine	RIF\RMP	<20	≥20	CASFM 2024

Annexe 03 : Profile de résistances des souches isolées.

N° Souches	AM	PEN	AMX	IMP	CTX	OX	CAZ	E	DA	STR	CN	PRI	VAN	TEC	FMX	TMP	LEV	CIP	TET	TGC	DOX	NFT	LZD	QNU	DAL	RIF/ RMP
23321	S	S	/	/	/	/	/	R	/	S	/	/	S	S	/	/	R	/	R	S	/	S	S	/	/	/
177	S	/	/	/	/	/	/	R	R	R	S	/	S	/	/	/	S	/	R	S	/	S	/	/	/	/
3316	/	R	R	R	R	R	/	R	R	/	R	/	R	/	R	R	I	/	/	S	/	/	S	/	/	I
2753	S	S	/	/	R	/	/	R	R	S	S	/	S	/	/	/	S	/	S	/	/	/	/	/	/	/
3152	S	/	/	/	/	/	/	R	/	/	R	/	S	/	/	/	R	/	R	/	/	/	/	/	/	/
3765	S	S	/	/	/	/	/	R	/	R	R	R	S	S	/	/	R	/	R	S	/	S	S	/	/	/
4365	/	S	S	/	R	R	/	I	R	/	S	R	S	/	/	/	S	/	/	/	/	/	/	/	/	S
2680	S	S	/	/	R	/	/	R	R	S	R	R	S	/	/	/	R	/	R	D	S	/	/	/	/	/
20261	/	/	R	/	/	/	/	R	/	/	R	R	/	/	/	/	/	/	S	/	/	/	/	/	/	/
2413	S	/	S	/	R	/	/	/	/	S	S	/	/	/	/	/	S	/	S	/	/	/	/	/	/	/
20440	/	/	S	/	/	/	/	I	/	/	S	/	S	/	/	/	S	/	R	S	/	/	/	R	R	/
21632	/	S	S	/	/	/	/	S	/	/	S	/	S	S	/	/	S	/	S	S	/	S	S	/	/	/
21811	/	S	S	/	/	/	/	/	/	/	/	/	R	/	/	/	/	I	/	/	/	/	/	/	/	R
23951	/	/	R	R	R	/	/	/	/	S	/	S	S	/	/	/	S	/	/	/	/	/	/	/	/	/
645	/	/	R	/	R	/	/	/	/	S	S	S	S	/	/	/	R	/	/	/	S	/	/	/	/	/
685	/	/	S	S	R	R	/	/	/	S	S	R	S	/	/	/	S	/	/	/	/	S	/	/	/	R
1304	S	/	/	/	R	/	/	R	R	S	S	R	S	/	/	/	S	/	R	/	/	/	/	/	/	/
1324	S	/	/	/	R	/	/	S	/	S	S	/	S	/	/	/	S	/	R	S	/	/	/	/	/	/

1606	/	/	/	/	R	/	/	/	/	S	S	/	S	/	/	/	S	S	/	/	/	/	/	/	/	/
1788	S	R	/	/	/	/	/	S	/	S	S	/	S	S	/	/	S	/	S	S	/	I	S	R	R	/
20353	S	S	/	/	/	/	/	S	/	S	S	S	S	S	/	/	S	/	S	S	/	S	S	/	/	/
642	S	S	/	/	/	/	/	R	/	S	S	R	S	S	/	/	S	/	R	S	/	S	S	/	/	/
2282	S	S	/	/	/	/	/	R	/	S	R	/	S	S	/	/	S	/	R	S	/	S	S	R	R	/
1357	S	S	/	/	/	/	/	R	/	R	S	R	S	S	/	/	S	/	R	S	/	S	S	/	/	/
20355	R	/	/	/	/	/	/	R	/	/	S	/	S	/	/	/	R	/	R	/	/	/	/	/	/	/

Annexe 04 : Matériels et milieux de culture**1. Matériels**

- Verrerie et outils : Pipettes Pasteurs, lames et lamelles, anse à boucle, écouvillons, tubes à essai, tubes à hémolyse, boîtes de Pétri, écouvillons, seringues, pince, gants chirurgicaux, pied à coulisse, micropipettes, embouts ;
- Microscope optique ;
- Bec Bunsen ;
- Réfrigérateur ;
- Etuve ;
- Bact/Alert3D ;
- Jarre d'anaérobiose ;
- DensiChek Plus ;
- Vitek .

2. Milieux de culture

- Gélose au sang cuit (GSC) ;
- Gélose au sang frais (GSF) ;
- Violet de gentiane ;
- Lugol ;
- Alcool ;
- Fuchsine basique ;
- Huile de vaseline ;
- Disques d'antibiotiques ;
- Eau physiologique ;
- Disques oxydase ;
- Eau oxygénée.

Annexe 05: Composition des milieux de culture**Gélose au sang**

-Mélange spécial de peptones.....	23g
-Amidon	1g
-Chlorure de sodium.....	5g
-Agar.....	10g
-Sang.....	50mL

Préparation

→ Mélanger les ingrédients secs (peptones, amidon, NaCl, agar) dans l'eau et chauffer pour dissoudre l'agar puis on stérilise la base par autoclavage. Après refroidissement à 45-50°C, rajouter aseptiquement le sang ;

❖ Gélose au sang frais

Le sang est ajouté après la stérilisation et le refroidissement partiel de la base pour garder les globules rouges intacts.

❖ Gélose au sang cuit

Le sang est ajouté à la base chaude avant l'autoclavage (ou juste avant l'ajout de l'agar et l'autoclavage), ce qui provoque la lyse des globules rouges et la libération de facteurs de croissance essentiels pour certaines bactéries exigeantes.

→Mélanger délicatement et coulez en boîtes de Petri.

Annexe 06 : Composants des réactifs utilisés.**1. Violet de gentiane**

- Phénol : 2 g
- Violet de gentiane : 1 g
- Ethanol à 90°C : 10 ml
- Eau distillée : 100 ml

2. Lugol

- Iodure de potassium : 2g
- Iode métalloïde : 1g
- Eau distillée : 300ml
- Alcool

3. Fuchsine basique

- Fuchsine basique : 1g
- Phénol : 5g
- Ethanol à 90°C : 10 ml
- Eau distillée : 100 ml

4. Eau physiologique

- Chlorure de sodium : 9 g
- Eau distillée : 1000 ml