



République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة أبو بكر بلقايد- تلمسان
Université ABOUBEKR BELKAID TLEMCEN

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de l'Univers
Département de Biologie

Laboratoire de microbiologie appliquée à l'agroalimentaire, au biomédical et à
l'environnement
« LAMAABE »

Mémoire

Présenté par

BENAZZOUZ Ahlem et BOUAYED Rawida

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie

Option : Microbiologie et contrôle de qualité

Thème

**Étude de la résistance aux antibiotiques chez *Enterococcus*
en milieu hospitalier en Algérie**

Soutenu le 2 juillet 2022, devant le jury composé de

Présidente	Mme BOUALI. W	MCA	Université de Tlemcen
Encadrant	Mme AYAD. A	MCB	Université de Tlemcen
Examinatrice	Mme MESLI. A	MCB	Université de Tlemcen

Année universitaire 2021/2022

Remerciement

Je remercie tout avant ''Allah ''le tout puissant qui m'a procuré du courage Et de la volonté pour mener ce modeste travail.

*On tien vivement à remercie notre encadrant Mme **Ayad Nehari Amel**, maitre de conférences à la faculté des sciences de la nature et de la vie, sciences de la terre et de l'univers, département de biologie qui a dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, on la remercie pour ses conseils et sa grande disponibilité tout au long de la réalisation de ce mémoire.*

*Nos remerciements s'étendent également à Mme **Bouali Wafaa**, maitre de conférences à l'université de Tlemcen, d'avoir voulu accepter de présider le jurys.*

*On tient à remercier Mme **Mesli Asma** maitre de conférences à l'université de Tlemcen, qui nous fait L'honneur de bien vouloir examiner ce travail*

*Enfin, je remercie tous ceux qui nous ont accompagné tous ces années et qui nous ont aidé, d'une manière ou d'une autre à mener ce travail
à terme*

Dédicaces

Je dédie ce modeste mémoire à :

A mes très chers parents « Fouad » et « Nawel »

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Vous avez su m'inculquer le sens de la responsabilité, de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Vos conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Vous n'avez cessé de me soutenir moralement ainsi que matériellement et de m'encourager durant toutes les années de mes études. Je vous dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serais demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester votre fierté et ne jamais vous décevoir.

A ma très chère sœur jumelle «Sanaa»

Qui a toujours su me motiver même dans les moments difficiles. Merci d'être toujours à mes côtés, par votre présence et votre amour, un grand merci pour votre encouragement et soutien moral.

A mon frère « Ahmed Abderrahmane »

A mes grands parant

Mercie pour votre soutient morale et encouragent et vos douaa que dieux vous garde pour moi

A mes amies Rania, Esmae, Amira, Ghizlene et Faiza Je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

Bouayed Rawida

Dédicaces

Avec l'aide de Dieu le tout puissant clément et miséricordieux, j'ai pu accomplir ce travail que je dédie :

A ma chère mère

En témoignage de ma profonde gratitude et de mon incontestable reconnaissance, pour tous les sacrifices qu'elle me contente, toute la confiance qu'elle m'accorde et tout l'amour dont elle m'entoure.

A mon cher père

Tu es le meilleur père dans ce monde, grâce à ton encouragement, ta confiance et ton soutien moral et matériel et pour ton amour infini en exprimant mes gratitude, mon profond amour et ma passion. Que dieu vous protège et vous garde pour moi.

*A mes chers sœurs **Aya, Anfel et Aridje***

*A ma cousine **Mostefaoui Faiza** et A mon cousin **Gouber Wadoud***

*A ma collègue **Ameur Ghizlene***

A mes grands-parents.

*A tous les membres de ma famille et ma belle-famille spécialement **mon fiancé**.*

A tous ceux qui ont contribué d'une manière ou d'une autre à l'élaboration de ce travail.

Benazzouz Ahlem

Résumé

L'augmentation et la propagation de la résistance aux antibiotiques chez les *Enterococcus* constitue une menace majeure pour la santé publique. Le présent travail vise à évaluer la résistance aux antibiotiques et l'épidémiologie des entérocoques en Algérie.

Les huit articles rapportant des données phénotypiques et/ou moléculaires sur des souches hospitalières d'entérocoques en particulier *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* en Algérie ont été analysés. Leurs résultats révèlent des taux de résistance considérablement variables selon les antibiotiques testés. En effet, l'antibiotique qui garde une très bonne activité contre les souches étudiées est le linézolide.

Différents gènes de résistance à la vancomycine (*vanA*, *vanB*, *vanC1*, *vanC2/C3* et *vanC4*) ont été détectés avec dominance du gène *vanA*. Un autre gène de résistance à l'érythromycine (*ermB*) a été également identifié chez les souches hospitalières d'*Enterococcus* en Algérie.

Enfin, cette étude souligne l'augmentation de la fréquence des souches multirésistantes des *Enterococcus* avec accumulation de plusieurs mécanismes de résistance dans les hôpitaux algériens, ce qui nécessite d'établir des mesures de contrôle pour éviter leur diffusion.

Mots clés : *Enterococcus*, antibiorésistance, gènes de résistance, hôpitaux d'Algérie.

ملخص

تشكل زيادة مقاومة المضادات الحيوية وانتشارها في المكورات المعوية تهديدًا كبيرًا للصحة العامة. يهدف هذا العمل إلى تقييم مقاومة المضادات الحيوية ووبائيات المكورات المعوية في الجزائر. تم تحليل المقالات الثمانية التي تشير إلى بيانات النمط الظاهري و / أو الجزيئية عن سلالات المستشفيات من المكورات المعوية، ولا سيما *Enterococcus faecium* و *Enterococcus faecalis* في الجزائر. كشفت نتائجهم عن معدلات مقاومة متغيرة بشكل كبير اعتمادًا على المضادات الحيوية التي تم اختبارها. في الواقع، فإن المضاد الحيوي الذي اظهر فعالية جد معتبرة ضد السلالات المدروسة هو لينيزوليد.

تم الكشف عن جينات مختلفة لمقاومة الفانكوميسين (*vanA* ، *vanB* ، *vanC1*, *C2* / *C3*) مع هيمنة جين *VanA*. تم تحديد جين اخر مقاوم لإريثروميسين (*ermB*) في سلالات المستشفيات من المكورات المعوية في الجزائر.

أخيرًا، تسلط هذه الدراسة الضوء على زيادة وتيرة سلالات المكورات المعوية متعددة المقاومة مع تراكم العديد من آليات المقاومة في المستشفيات الجزائرية، الأمر الذي يتطلب وضع تدابير رقابية لمنع انتشارها.

الكلمات المفتاحية: المكورات المعوية، مقاومة المضادات الحيوية، جينات المقاومة، المستشفيات الجزائرية.

Abstract

The increase and spread of antibiotic resistance in *Enterococci* is a major threat to public health. This work aims to evaluate the resistance to antibiotics and the epidemiology of *Enterococci* in Algeria.

The eight articles reporting phenotypic and/or molecular data on hospital strains of *Enterococci* in particular *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* in Algeria were analysed. Their results reveal considerably variable resistance rates depending on the antibiotics tested. Indeed, the antibiotic that show an important activity against the studied strains is linezolid.

Different vancomycin resistance genes were detected (*vanA*, *vanB*, *vanC1/C2/C3*) with the dominance of the *vanA* gene. An other erythromycin resistance gene have also been identified (*ermB*).

Finally, this study highlights the increase in the frequency of multi-resistant strains of *Enterococcus* with accumulation of several resistance mechanisms in Algerian hospitals, which requires the establishment of control measures to prevent their dissemination.

Keywords: *Enterococci*, antibiotic resistance, resistance genes, Algerian hospitals.

Liste des abréviations

- BMR** : Bactéries multi-résistantes.
- C1G** : Céphalosporine première génération.
- C2G** : Céphalosporine deuxième génération.
- C3G** : Céphalosporine troisième génération.
- C4G** : Céphalosporine quatrième génération.
- C5G** : Céphalosporine cinquième génération.
- CDC** : Centers for Disease Control.
- CMB** : Concentration minimale bactéricide.
- CMI** : Concentration minimale inhibitrice.
- ESP** : Protéine de surface d'entérocoque.
- MLS** : Macrolide-lincosamide-streptogramine.
- NAG** : N-acetyl glucosamine
- NAM** : Acide N-acetyl muramique.
- OMS** : Organisation mondiale de la Santé.
- PLP** : Protéine de liaison à la pénicilline.
- SARM** : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline.
- TC** : Tétracyclines.
- VRE** : entérocoques résistant à la vancomycine.
- VREfm** : *Enterococcus faecium* résistant à la vancomycine.

Liste des figures

Figure 1. Dendrogramme ARNr 16S de la position phylogénétique du genre <i>Enterococcus</i>	5
Figure 2. A: <i>E. faecalis</i> aux microscopes électronique à transmission (x 33000) ; B: électronique à balayage (x4000).....	7
Figure 3. La paroi bactérienne d' <i>E. faecalis</i>	8
Figure 4. Principales structures des β -lactamines.....	71
Figure 5. Structures antibactérienne glycopeptidiques et lipoglycopeptidiques. Les principales caractéristiques structurales sont surlignées en rouge	11
Figure 6. Structure de la daptomycine.....	20
Figure 7. Schéma du mécanisme d'action bactéricide probable de la daptomycine	21
Figure 8. La diversité structurale des antibiotiques MLS	22
Figure 9. Structure de tétracycline.....	23
Figure 10. Structure de la rifampicine	24
Figure 11. Principales structures des quinolones.....	25
Figure 12. Structure centrale des antibiotiques oxazolidinone.....	26
Figure 13. Chronologie de la découverte des différents antibiotiques et de la détection de premières bactéries résistantes	27
Figure 14. Evolution de l'antibiorésistance chez les entérocoques au cours des 40 dernières années	28
Figure 15. Principaux mécanismes de résistance aux β -lactamines chez les Gram-positifs	31
Figure 16. Les opérons de résistance aux glycopeptides.....	32
Figure 17. A : synthèse de la paroi bactérienne dans les conditions normales ; B : synthèse de la paroi bactérienne avec des précurseurs modifiés codés par l'opéron <i>vanA</i>	33
Figure 18. Mécanismes de résistance à la daptomycine chez les entérocoques.....	34
Figure 19. Descriptif technique de MALDI-TOF MS.....	43
Figure 20. Taux de résistance aux β -lactamines chez <i>Enterococcus</i> en Algérie.....	51
Figure 21. Taux de résistance à la vancomycine chez <i>Enterococcus</i> en Algérie	52
Figure 22. Taux de résistance à la teicoplanine chez <i>Enterococcus</i> en Algérie	52
Figure 23. Taux de résistance à l'érythromycine chez <i>Enterococcus</i> en Algérie.....	53

Figure 24. Taux de résistance à la gentamycines chez <i>Enterococcus</i> en Algérie.....	54
Figure 26. Carte d'Algérie montrant la localisation géographique des gènes de résistance aux antibiotiques chez <i>Enterococcus</i>	57

Liste des Tableaux

Tableau 1. Tests biochimiques pour identifier <i>E. faecalis</i> et <i>E. faecium</i>	9
Tableau 2. Espèces d'entérocoques les plus importantes et leur habitat.....	10
Tableau 3. Facteurs de virulence des entérocoques	11
Tableau 4. Utilisation clinique des antibiotiques glycopeptidiques... ..	19
Tableau 5. Mécanismes de résistance intrinsèque aux antibiotiques chez les entérocoques...30	
Tableau 6. Résistance aux glycopeptides chez les entérocoques	33
Tableau 7. Les articles reportant des données phénotypiques et/ou moléculaires sur des souches <i>Enterococcus</i> multirésistantes aux antibiotiques	39
Tableau 8. Les taux d'isolement d' <i>Enterococcus</i> en Algérie.....	50
Tableau 9. Les gènes de résistance aux antibiotiques décrits chez <i>Enterococcus</i> en Algérie.....	55

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Première partie : Synthèse bibliographiques

Chapitre 1 : *Enterococcus*

1.1. Historique.....	4
1.2. Classifications.	5
1.3. Caractères biologiques	6
1.3.1. Caractères morphologiques.	6
1.3.2. Caractères cultureux	7
1.3.3. Caractères biochimiques et antigéniques.	7
1.4. Habitat	10
1.5. Les facteurs de virulence.....	11
1.6. Pouvoir pathogène.....	12

Chapitre 2 : Les antibiotiques

2.1. Généralité sur les antibiotiques.	13
2.2. Les β -lactamines.....	13
2.3. Les glycopeptides.....	16
2.4. Lipopeptides (daptomycine).....	20
2.5. Macrolide-lincosamide-streptogramine (MLS).....	21
2.6. Tétracycline.....	22
2.7. Rifampicine	23
2.8. Quinolones.	24

2.9. Oxazolidinone.....	26
-------------------------	----

Chapitre 3 : L'antibiorésistance chez entérocoques

3.1. Historique de l'antibiorésistance	27
3.2. Résistance intrinsèque	29
3.3. Résistance acquise.....	31
3.3.1. Résistance aux β -lactamines.....	31
3.3.2. Résistance aux glycopeptides.....	32
3.3.3. Résistance à la Daptomycine.....	34
3.3.4. Résistance aux macrolides, lincosamides et streptogramines (MLS).....	35
3.3.5. Résistance à la tétracycline.....	36
3.3.6. Résistance à la rifampicine.....	36
3.3.7. Résistance aux quinolones.....	36
3.3.8. Résistance aux oxazolidinones.....	37

Deuxième partie : Matériels et méthodes

1. Identification	42
1.1. Galeries API 20 Strep et ID 32 Step.....	42
1.2. MALDI-TOF MS (Matrix-Assisted Laser Desorption and Ionization Time-Of-Flight Mass Spectrometry method)	42
2. Etude de la résistance aux antibiotiques.....	43
2.1. Antibiogramme	43
2.2. Détermination des CMI par E-test	44
3. Détection phénotypique des mécanismes de résistance aux β -lactamines.....	44
4. Détection et identification des gènes de résistance aux antibiotiques.....	45
4.1. Extraction de l'ADN.....	45
4.2. Amplification de l'ADN par PCR	45

4.3. Séquençage.....	46
5. Typage moléculaire des souches étudiées	46
5.1. Electrophorèse en champ pulsé	46
5.2 Typage par séquençage multilocus (Mult-locus sequence typing ou MLST).....	46
5.3. Rep-PCR.....	47

Troisième partie : Résultat et discussion

1. Souches identifiées	49
2. Etude de la résistance aux antibiotiques chez les entérocoques en Algérie	50
2.1. Résistance aux β -lactamines (amoxicilline + ampicilline).....	50
2.2. Résistance aux glycopeptides.....	51
2.3. Résistance à l'érythromycine	52
2.4. Résistance aux aminosides (Gentamicine).....	53
2.5. Résistance au linézolide	54
3. Les gènes de résistance aux antibiotiques chez Enterococcus en milieu hospitalier en Algérie.....	54
Conclusion.....	59
Références bibliographiques.....	61
Annexes.....	73



INTRODUCTION

La découverte des antibiotiques a fait naître l'espoir qu'il serait un jour possible d'enrayer l'ensemble des maladies infectieuses. Ces molécules ont été considérées comme étant des armes puissantes qui sauraient éradiquer de nombreuses infections bactériennes (**Monnet et al., 2000**). Ils sont utilisés en médecine et en médecine vétérinaire. Mais malheureusement l'utilisation abusive et aléatoire de ces molécules a rapidement été suivie par l'apparition d'une résistance bactérienne aux traitements, conduisant à une baisse de l'efficacité thérapeutique de ces molécules antibactériennes. Ces résistances représentent maintenant un problème émergent de santé publique mondial (**Ventola, 2015**).

Les entérocoques sont des bactéries ubiquistes, faisant partie de la flore commensale du tractus gastro-intestinal de l'homme et des animaux, à plus rarement trouvés dans le vagin ou dans la cavité buccale. On les retrouve également dans les eaux usées, l'eau douce, l'eau de mer, le sol sur les végétaux et chez les insectes. Ils appartiennent au genre *Enterococcus*, distincts des streptocoques.

Cliniquement, *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* sont les deux principales espèces retrouvées chez l'homme (**Kristich et al., 2014**). Bien que faisant partie de la flore intestinale, ces souches multirésistants sont désormais les principales causes d'infection nosocomiale dans le monde et les infections graves tels que l'endocardite, bactériémie ou infections des voies urinaires (**Jett et al., 1994; Arias & Murray, 2012**).

L'émergence et la diffusion des entérocoques résistants aux antibiotiques à l'hôpital et dans la communauté menace de compromettre sérieusement la capacité à traiter les infections graves (**Rice et al., 2009**). Cette résistance peut être un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce, dont les gènes de résistance font partie du patrimoine génétique de la bactérie (résistance intrinsèque) ou une résistance que ces bactéries l'on développé soit par l'acquisition d'un gène de résistance ou par des mutations chromosomiques.

Les bactéries résistent aux antibiotiques grâce à plusieurs mécanismes dont l'inactivation enzymatique par la sécrétion d'une enzyme ; l'efflux actif ; la modification de la cible et la diminution de la perméabilité (porines) à l'antibiotique (**Bevilacqua et al., 2011**).

En Algérie, le premier cas d'*Enterococcus faecalis* résistant à la vancomycine a été rapporté en 2006 chez un patient de 24 ans souffrant d'une uropathie malformative (**Aggoune et al.,**

2008). Cela a ouvert la voie à d'autres recherches intéressées par l'étude des mécanismes de résistance aux antibiotiques de cette bactérie. Notre étude qui rentre dans ce cadre vise à mettre le point sur l'état actuel de la résistance aux antibiotiques chez les entérocoques dans les hôpitaux en Algérie, en analysant les huit articles traitant cette problématique.

Ce mémoire est divisé en trois parties : la première c'est une synthèse bibliographique présentant des notions générales sur les entérocoques, les antibiotiques et les mécanismes de résistance aux antibiotiques chez ces bactéries. Ensuite, la deuxième partie présentant les principales méthodes utilisées dans les articles analysés. Enfin, une synthèse et discussion des résultats trouvés dans les articles étudiés.



**SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE**

1. *Enterococcus*

1.1. Historique

L'appellation « entérocoque » a été donné pour la première fois par **Thiercelin en 1899** pour décrire l'observation d'un nouveau diplocoque à gram positif d'origine intestinale, appelée initialement *Streptococcus faeceaalis*. Une deuxième espèce fécale décrite comme *Streptococcus faecium* a été trouvée pour avoir des caractéristiques similaires (**Thiercelin, 1899; Stiles et Holzapfel, 1997**).

Pendant très longtemps, les entérocoques ont été classés au sein du genre *Streptococcus*, dont ils sont très proches morphologiquement (en raison de leur capacité à former des chaînes courtes). Leur morphologie ne permet donc pas de les distinguer avec précision d'autres genres de la famille des *Streptococcaceae*, **En 1937, Sherman** a classé les genres de *Streptococcus* en quatre sous-groupes : les streptocoques fécaux ou Entérocoques, les streptocoques lactiques, le groupe des viridans et les streptocoques pyogènes (**Sherman, 1937**). Les entérocoques font partis des streptocoques du groupe D selon la classification de Lancefield, qui distingue les streptocoques selon leur antigène de paroi (Moellering, 1992). Mais Avec l'avènement de la biologie moléculaire et de nouvelles techniques telles que la détermination du pourcentage G+C le séquençage de l'ARNr 16S et l'hybridation DNA-DNA, d'importantes différences par rapport aux autres streptocoques ont été découvertes, montrent que *Streptococcus faecalis* et *Streptococcus faecium* étaient si éloignés des streptocoques conduisant à individualiser le genre *Enterococcus* (**Schleifer et Kilpper-Balz, 1984**).

En effet, en 1984, **Schleifer et Kilpper-Balz**, ont classés *Streptococcus faecium* et *Streptococcus faecalis* parmi le genre *Enterococcus* en se basant sur les résultats de l'hybridation ADN-ADN et le séquençage de l'ARNr 16S, qui ont permis de découvrir que *Streptococcus faecium* et *Streptococcus faecalis* étaient distincts des autres espèces de *Streptococcus* et les ont classés parmi le genre *Enterococcus* (**Schleifer et Kilpper-Balz, 1984**). Cela a permis de déterminer la position phylogénique du genre *Enterococcus* au sein d'un dendrogramme d'ARNr 16S des genres à gram positif (**Figure 1**) (**Flahaut et al., 1997**).

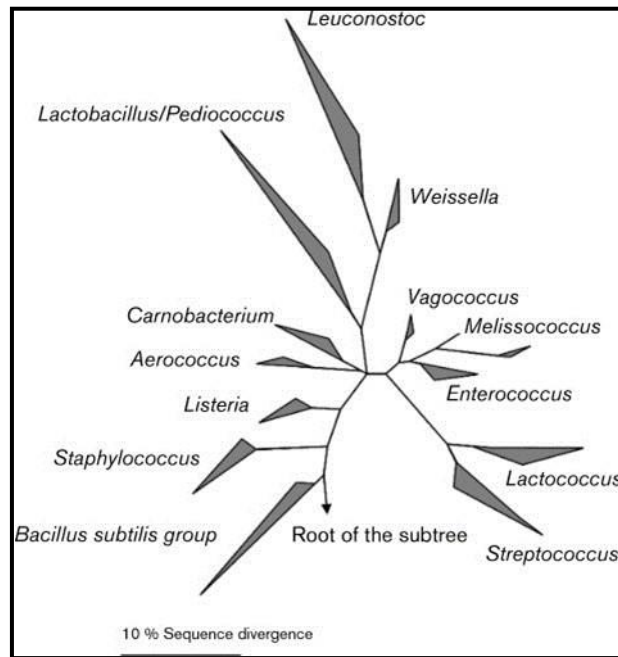


Figure 1. Dendrogramme ARNr 16S de la position phylogénétique du genre *Enterococcus* (Fisher et Phillips, 2009; Flahaut *et al.*, 1997).

1.2. Classifications

Règne : *Bacteria*

Embranchement : *Firmicutes*

Classe : *Bacilli*

Ordre : *Lactobacillales*

Famille : *Enterococcaceae*

Genre : *Enterococcus*

La classification de ces germes est très complexe et en permanente évolution avec la description de nouvelles espèces des entérocoques. A cet effet, les analyses génétiques ARNr 16S et de l'espace intergénique 16S-23S montrent que les espèces au sein du genre *Enterococcus* sont hétérogène et qu'il est possible de les classer en groupes d'espèces au sein de ce genre. En 1998 Monstein *et al.* ont proposé de subdiviser le genre *Enterococcus* en groupes d'espèces (Monstein *et al.*, 1998). A cet effet 35 espèces différentes ont été recensées sur la base de l'analyse de l'ARNr 16S et les groupes suivants peuvent être distingués (Aguilar-Galvez *et al.*, 2012) :

- groupe *E. avium* : *E. avium*, *E. devriesei*, *E. gilvus*, *E. hermanniensis*, *E. malodoratus*, *E. pallens*, *E. pseudoavium* et *E. raffinosus* ;
- le groupe *E. cecorum* : *E. cecorum* et *E. columbae* ; – le groupe *E. dispar* : *E. asini*, *E. canintestini* et *E. dispar* ;
- le groupe *E. faecalis* : *E. caccae*, *E. faecalis*, *E. haemoperoxidus*, *E. moraviensis*, *E. silesiacus* et *E. termitis* ;
- le groupe *E. faecium* : *E. canis*, *E. durans*, *E. faecium*, *E. hirae*, *E. mundtii*, *E. phoeniculicola*, *E. ratti*, *E. thailandicus* et *E. villorum* ;
- le groupe *E. gallinarum* : *E. casseliflavus* et *E. gallinarum* ;
- le groupe *E. saccharolyticus* : *E. aquimarinus*, *E. camelliae*, *E. italicus*, *E. saccharolyticus* et *E. sulfureus*.

La phylogénie de ce genre ne cesse d'évoluer du fait de l'avènement de nouvelles technologies permettant une évolution quasi-constante de la taxonomie. En effet, initialement composé des deux espèces précédemment citées, le genre *Enterococcus* comptait 37 espèces en 2011, 48 espèces en 2013 (**Van Tyne et Gilmore, 2014**), 55 espèces en 2017 et en 2020, 59 espèces forment le genre *Enterococcus* (**Murray, 1990**).

Par ailleurs, quelques bactéries ont changé de genre, *E. seriolicida* a été classé comme *Lactococcus garvieae*, alors que *E. solitarius* est devenu *Tetragenococcus solitarius* (**Monstein et al., 1998**).

1.3. Caractères biologiques

1.3.1. Caractères morphologiques

Les entérocoques sont définis par une coloration de Gram positive, un aspect sphérique ou ovoïdes d'environ [0.6 - 2.5] μm de diamètre, non capsulés et pouvant être en coques isolées, arrangés en paires ou en chaînettes (**Figure 2**) (**Thiercelin, 1899; Prescott et al., 2011**). Généralement immobiles sauf quelques rares espèces (*E. casseliflavus* et *E. gallinarum*) (**Schleifer et Kilpper-Balz, 1984**).

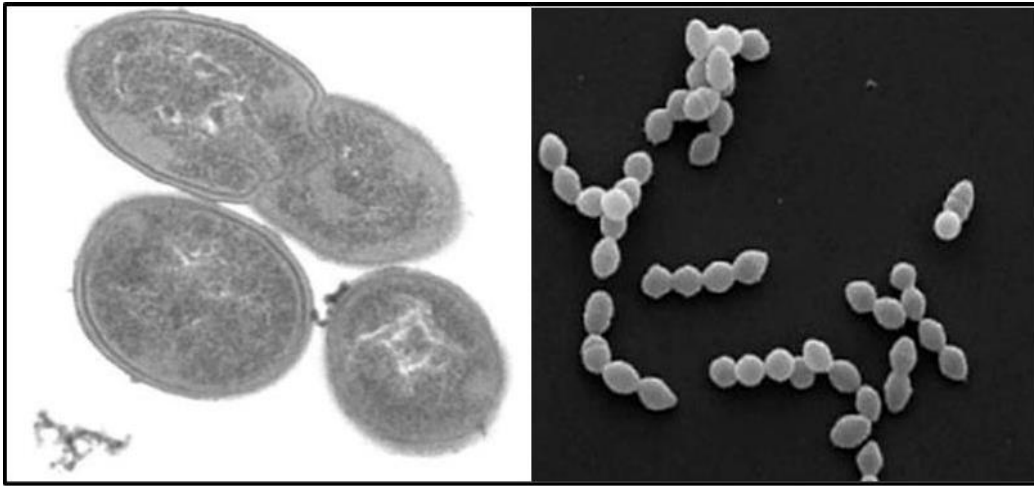


Figure 2. A: *E. faecalis* aux microscopes électronique à transmission (x 33000) ; B: électronique à balayage (x4000) (Portenier *et al.*, 2003).

La surface cellulaire de quelques souches d'*E. faecalis* examinée par microscopie électronique montre la présence de fimbriae (Pinkston *et al.*, 2014). La morphologie des entérocoques peut varier selon les conditions de culture. En effet, la culture des entérocoques en bouillon au thioglycolate, apparaissent sous forme ovales et groupées en courtes chaînes, tandis que cultivées sur un milieu solide, les cellules sont souvent des cocco-bacilles (Facklam et Elliott, 1995).

1.3.2. Caractères cultureux

Les entérocoques sont peu exigeants en facteurs de croissance et peuvent donc se multiplier aisément sur les géloses ordinaires Trypticase-Soja (TS) après 18 à 24 heures d'incubation (Isnard, 2017). Ces micro-organismes se développent dans une gamme de températures allant de 10 à 45 °C, avec une température optimale de croissance de 35°C à 37 °C (Aguilar-Galvez *et al.*, 2012). Ils peuvent aussi croître en bouillon avec un pH de 9.6 et contenant 6.5% de NaCl (Stiles et Holzappel, 1997), leur taille génomique est de 3.2 (Mb), de teneur en GC de [34 -42] (mol %) (Prescott *et al.*, 2011).

E. faecalis et *E. faecium* peuvent survivre à une température de 60 ° C pendant 30 minutes, ce qui permet de les distinguer des autres genres apparentés tels que *Streptococcus* (Foulquié Moreno *et al.*, 2006).

1.3.3. Caractères biochimiques et antigéniques

Les entérocoques sont des anaérobies facultatifs, oxydase et catalase négative chimioorganotrophes fermentaires obligatoires (Sherman, 1937), ils ont une paroi constituée de glycocalyx (structure réticulée) et du peptidoglycane (structure rigide) faits de chaînes polysaccharidiques reliées entre elles par de courts peptides et composées d'une alternance de N-acetyl glucosamine (NAG) et d'acide N-acetyl muramique (NAM). Chez *Enterococcus* les chaînons peptidiques branchés sur l'acide muramique sont terminés par le dipeptide D-alanine-D-alanine. Sur la paroi sont fixés d'autres constituants comme l'acide lipotéichoïque (l'antigène de groupe des entérocoques), les protéines (enzymes en particulier), des polysaccharides, les acides téichoïques. L'antigène polysidique de la paroi cellulaire est spécifique de certains types d'*Entérocooccus* (*E. faecalis* et *E. avium*) (Id, 1989). Ils appartiennent pour la plupart au groupe sérologique D de la classification de Lancefield (Figure 3) (Facklam et Elliott, 1995; Lancefield, 1933).

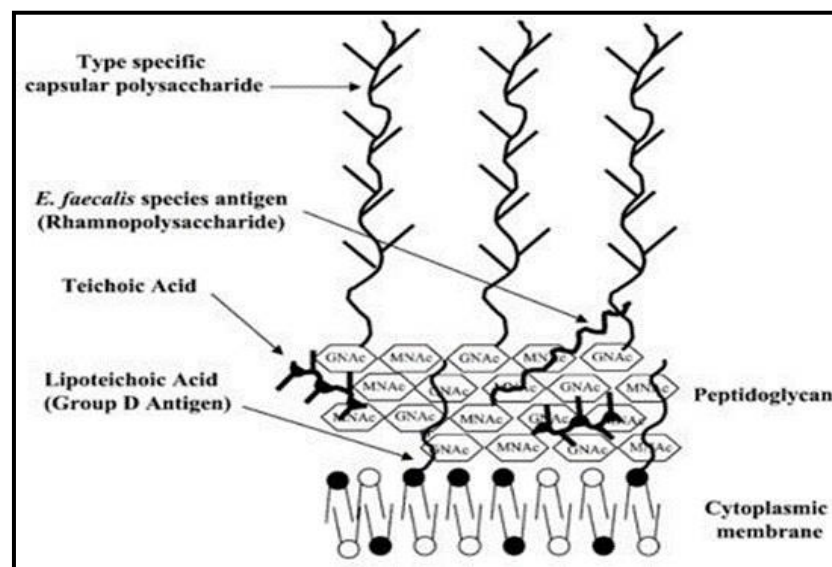


Figure 3. La paroi bactérienne du *E. faecalis* (Id, 1989).

En pratique, pour distinguer les streptocoques du groupe D des entérocoques, le test le plus discriminant est la production de pyrrolidonyl-arylamidase. Cette propriété est en effet partagée par tous les entérocoques, les genres *Aerococcus*, *Gemella*, et quelques streptocoques mais pas par ceux du groupe D (Murray, 1990).

Les entérocoques possèdent des caractéristiques particulières servant à leur identification comme : hydrolyse de l'esculine en esculetine, tolérance avec 40% de bile, production d'acétoïne, fermentation du ribose, croissance en présence de 6.5 % de NaCl, croissance à un

pH 9.6 et synthèse d'une pyrrolidonyl-arylamidase (réaction dite PYR+) (**Tableau 1**) (Murray, 1990).

Tableau 1. Tests biochimiques pour identifier *E. faecalis* et *E. faecium* (Facklam *et al.*, 2014).

Tests	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i>
Mobilité	-	-
Pigmentation	-	-
Tellurite*	+	-
Pyrrolidonyl-arylamidase	+	+
Arabinose	-	+
Lactose	+	+
Raffinose	-	-**
Ribose	+	+
Saccharose	+	d
Mannitol	+	+
Sorbitol	+	-
Sorbose	-	-
ADH	+	+
* : Croissance en présence de 0,04 % de tellurite. ** : Celles isolées principalement chez la volaille acidifient la raffinose. d : Réponse variable selon les souches.		

En anaérobiose, le lactate est le principal produit du métabolisme du glucose, tandis qu'en condition d'aérobiose, les produits du métabolisme sont l'acétate et le CO₂. Ces espèces sont capables de métaboliser divers types de sucres comme le N-acétyl glucosamine, l'amygdaline, l'arbutine, le cellobiose, le D-fructose, le galactose, le β -gentiobiose, le glucose, le lactose, le maltose, le D-mannose, le β -D-méthyle glucopyranoside, le ribose, la salicine et le tréhalose (Isnard, 2017; Leblanc, 2006; Schleifer et Kilpper-Balz, 1984).

1.4. Habitat

Comme leur nom l'indique (entérique + coque), les *Enterococcus* font partie de la flore commensale du tube digestif chez l'homme et l'animale. Occasionnellement, on peut également les trouver dans le vagin ou la cavité buccale (**tableau 2**) (**Beargie et al., 1975; Schloissnig et al., 2013**).

Les entérocoques peuvent aussi vivre en dehors des organismes vivants dans la nature, comme dans les eaux usées, l'eau douce, l'eau de mer et le sol (**Facklam et al., 2014; Van Tyne et Gilmore, 2014**). De plus, on peut les retrouver associés aux plantes (*E. casseliflavus*, *E. mundtii* et *E. sulfureus*) (**Martinez-Murcia et Collins, 1991; Portenier et al., 2003**).

Tableau 2. Espèces d'entérocoques les plus importantes et leur habitat (**Portenier et al., 2003**)

<i>E. faecalis</i>	Cavité buccale, tractus gastro-intestinal
<i>E. faecium</i>	Cavité buccale, tractus gastro-intestinal
<i>E. gallinarum</i>	Nourritures, humains (rarement)
<i>E. casseliflavus</i>	Sol, plantes, nourritures, humains
<i>E. avium</i>	Animaux
<i>E. hirae</i>	Animaux
<i>E. durans</i>	Humains, animaux, nourritures

Il est possible de détecter des bactéries entérocoques dans de nombreux produits alimentaires destinés à la consommation humaine, comme le fromage ou les produits fermentés (**Foulquié Moreno et al., 2006**). Une variété de ces germes sont couramment utilisés comme indicateurs de contamination fécale afin de tester la qualité hygiénique des échantillons environnementaux et alimentaires (**Wheeler et al., 2002**). Les entérocoques peuvent également être utilisés dans l'industrie agro-alimentaire et rentrent dans la composition de certains probiotiques en raison de la production de bactériocines par certaines espèces (**Celiberto et al., 2017; Franz et al., 1999**).

1.5. Les facteurs de virulence

Les Entérocoques sont des bactéries peu agressives par rapport aux *Staphylococcus*, et pour devenir pathogènes, elles doivent présenter des caractéristiques de virulence liées à l'adhésion, à la translocation et à la perte de la réponse immunitaire de l'hôte (**Valenzuela et al., 2008**). Ces facteurs de virulence peuvent être classés en facteurs sécrétés (cytolysine / hémolysine, gélatinase et la sérine protéase), facteurs liés à la membrane et la paroi cellulaires [substance agrégative, la protéine de surface d'entérocoque (Esp), l'adhésine au collagène d'*E. faecalis* (Ace), et les polysaccharides] (**Fiore et al., 2019**), les facteurs participants à la formation de biofilm et les régulateurs de l'expression de certains gènes (**Willems et Bonten, 2007**), ainsi que la capsule qui permet aux bactéries de résister et s'adapter à de nombreux stress (la phagocytose, les antibiotiques...) (**Hufnagel et al., 2004**), en favorisent la colonisation et la persistance dans le cas d'une infection humaine (**Bottonne, 1999**) (**Tableau 3**).

Tableau 3. Facteurs de virulence des entérocoques (**Fiore et al., 2019**)

Facteurs de virulence	Description
Hémolysine	Hémolysine/ bactériocine, lyse une large gamme de cellules eucaryotes et Gram-positives
Gélatinase	Métalloprotéase de zinc sécrétée
Sérine protéase	Sérine protéase sécrétée
Hyaluronidase	Dégrade l'acide hyaluronique
Esp	Protéine ancrée dans la paroi cellulaire, améliore la formation de biofilm et la colonisation de l'épithélium de la vessie
Substance d'agrégation	Protéine ancrée dans la paroi cellulaire, impliquée dans la conjugaison et l'adhésion aux cellules eucaryotes
Ace	Protéine ancrée dans la paroi cellulaire, protéine de liaison au collagène
Epa	Antigène polysaccharidique entérococcique, polysaccharide de paroi cellulaire anti-phagocytaire capsulaire
Cps	Polysaccharide capsulaire, polysaccharide de la paroi cellulaire antiphagocytaire
LTA	Acide lipotéichoïque, antigène du groupe entérococcique, substance de liaison pour la conjugaison Réactif
Métabolites toxiques	Espèces réactives à l'oxygène : superoxyde extracellulaire, peroxyde d'hydrogène

1.6. Pouvoir pathogène

Le corps humain héberge environ 10^{14} de bactéries tels que les entérocoques qui font partie de la flore normale du tractus gastro-intestinal des humains et des animaux. D'autre part, ces micro-organismes peuvent agir comme des pathogènes opportunistes susceptibles d'être impliqués dans l'émergence de maladies nosocomiales invasives et non invasives, affectant généralement des patients immunodéprimés gravement malades (**Aguilar-Galvez *et al.*, 2012; Gawryszewska *et al.*, 2016**).

Enterococcus faecalis et *Enterococcus faecium* représentent les deux espèces les plus importantes dans les infections à entérocoques en pathologie humaine (**Gawryszewska *et al.*, 2016**).

Les infections à entérocoques peuvent atteindre divers sites, notamment intra-abdominaux (cholécystites, péritonites en association avec les entérobactéries et anaérobies), les voies urinaires, les plaies chirurgicales ou les valves cardiaques (endocardites) et sont aussi responsables d'infections sur matériel (cathéters vasculaires ou biliaires, sondes urinaires, prothèses ostéo-articulaires ou valvulaires) (**Magill *et al.*, 2014; Isnard, 2017**).

2. Antibiotiques

2.1. Généralité sur les antibiotiques

Un antibiotique est une substance d'origine microbienne capable d'inhiber la croissance des micro-organismes ou de les détruire. Les antibiotiques altèrent le fonctionnement normal des bactéries en exerçant une action spécifique, c'est-à-dire qu'ils dérèglent le métabolisme de certains microorganismes sans affecter les cellules humaines ou animales. On les utilise fréquemment pour le traitement des maladies chez l'humain et les animaux (**Wax, 2008**).

Dans la nature, les antibiotiques procurent un avantage aux bactéries et moisissures qui les synthétisent en leur permettant de conserver leur niche écologique. Cet avantage leur donne un meilleur accès aux nutriments disponibles dans l'environnement nécessaire pour leur croissance (**Wax, 2008**).

La nature des antibiotiques peut être naturels, semi-synthétiques ou synthétiques. Les antibiotiques naturels sont des composés chimiques produits par une variété d'espèces de micro-organismes. Les antibiotiques de cette catégorie comprennent les pénicillines G et V, la streptomycine, le chloramphénicol, les tétracyclines et les macrolides. Les antibiotiques semi-synthétiques sont fabriqués à partir des antibiotiques naturels. Mais qui a été développé au laboratoire par des modifications dans leur structure chimique. Par exemple, la méticilline, modifiée à la position 6 de la chaîne latérale, est un dérivé de la pénicilline. Et pour Les antibiotiques synthétiques, ils sont complètement fabriqués en laboratoire. Et comme exemples on a Les sulfamides, les nitrofuranes et les quinolones (**Walsh, 2003**).

Les antibiotiques traversent généralement la paroi bactérienne pour ensuite diffuser à travers l'espace intracellulaire et se fixent finalement sur leur cible. Ils ont un effet bactériostatique ou bactéricide.

Des décennies d'études sur le mode d'action des antibiotiques face aux bactéries cible ont permis de dégager cinq principaux mécanismes : inhibition de la biosynthèse de la paroi bactérienne, inhibition de la synthèse ou du fonctionnement de la membrane plasmique, inhibition des fonctions de l'acide nucléique (transcription et réplication), inhibition des analogues métaboliques de l'acide nucléique, et inhibition de la synthèse protéique par interférence ribosomique (**Walsh, 2003; Prescott et al., 2011**).

2.2. Les β -lactamines

La famille des β -lactamines comprend un grand nombre de molécules qui se caractérisent toutes par un élément structural commun, le noyau β -lactame, et qui demeurent à l'heure

actuelle des antibiotiques incontournables et souvent prescrits pour leur large spectre antibactérien, leur activité bactéricide, et leur faible toxicité (**Bush et Bradford, 2016; Capelo-Martínez et Igrejas, 2020**).

Selon le radical associé au noyau β -lactame on distingue cinq sous-classes : les pénames, les céphèmes, les pénèmes, les monobactames et les Inhibiteurs de β -lactamases (**Figure 4**).

Les plus utilisés contre les Gram-positifs sont :

➤ **Pénames (Pénicillines)**

Elles sont dérivées de l'acide amino-6-pénicillanique. Et en fonction de la nature des différents substituants, on a défini plusieurs sous-classes, dont les plus utilisées sont les aminopénicillines (ampicilline, amoxicilline), les carboxypénicillines (ticarcilline) et les uréidopénicillines (pipéracilline) et les amidinopénicillines (pivmecillinam) (**Ruppé, 2010**).

➤ **Céphèmes (céphalosporines)**

Les céphalosporines sont dérivées de l'acide 7-aminocéphalosporanique qui possèdent un atome de carbone de plus que l'acide amino-6-pénicillanique. La particularité du noyau céphème et les nombreux radicaux de substitution proposés expliquent les propriétés antibactériennes différentes des céphalosporines, justifiant leur distinction fonctionnelle en plusieurs générations, de spectre et d'intérêt clinique variables :

- Les céphalosporines de première génération : (C1G : céfalotine, céfalexine) sont principalement actives contre les bactéries à Gram positif.
- Les céphalosporines de deuxième génération : (C2G : céfuroxime, céfamandole) ont un spectre étendu vers les bactéries à Gram négatif. Parmi les céphalosporines se situe une sous-famille que sont les céphamycines ou 7-a-méthoxy-céphalosporines, dont seule la céfoxitine est encore disponible en France.
- Les céphalosporines de troisième génération : (C3G : ou oxyimino-céphalosporines (céfixime, céfotaxime, ceftazidime) ont un spectre étendu à la plupart des entérobactéries et sur *P. aeruginosa* pour la ceftazidime. En ce qui concerne le traitement des infections entérobactériennes sévères, les C3G sont les antibiotiques de choix.
- Les céphalosporines de quatrième génération (C4G : céfépime et ceftiprome) présentent un gain d'activité sur les cocci à Gram positif et sont relativement stables à l'hydrolyse des céphalosporinases de type AmpC.

- Les céphalosporines de cinquième génération (C5G : ceftobiprole ,ceftaroline) actifs sur les cocci Gram-positif comme les *Enterococcus* et sur des bacilles Gram- (Bertholom, 2021).

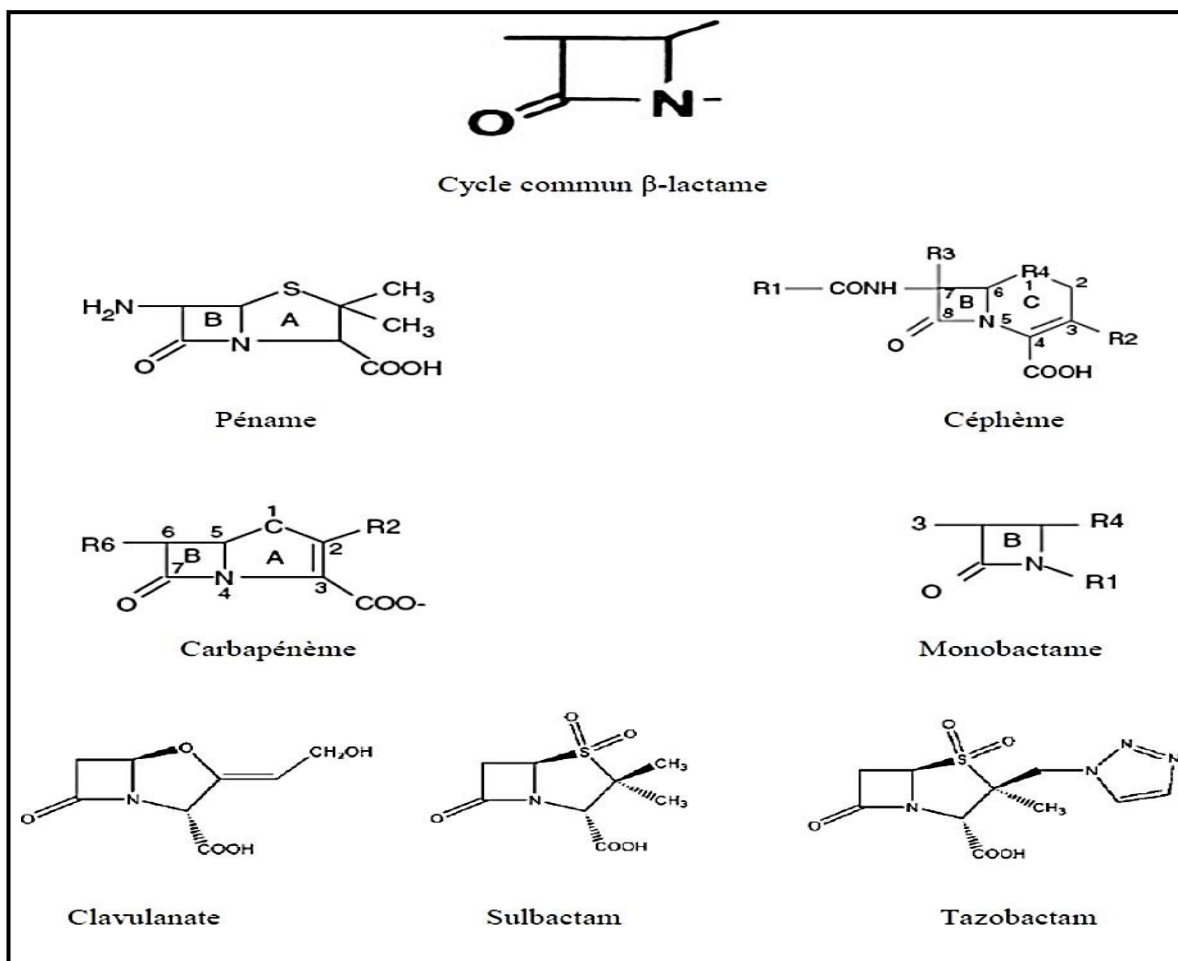


Figure 4. Principales structures des β -lactamines (Cavallo *et al.*, 2004).

Mécanisme d'action

Les β -lactames sont des agents bactéricides qui tuent les bactéries sensibles en inhibant la synthèse de la paroi cellulaire en particulier le peptidoglycane des bactéries à Gram négatif et à Gram positif qui est un polymère composé de deux polysaccharide peptidique NAG et NAM qui sont liés par des liaisons polysaccharidiques en forme de chaîne tetrapeptidique constitué de quatre acides aminés et ces chaînes sont liées par des ponts inter peptidiques (Cavallo *et al.*, 2004).

Le mécanisme de blocage de la synthèse du peptidoglycane intervient dans l'étape finale de sa synthèse où les PLP (protéine liant les pénicillines) spécifiquement il s'agit d'enzymes

d'activité variable de type transpeptidase, transglycosylase ou carboxypeptidase ou ils vont catalyser la formation du pont interpeptidique (Walsh, 2003).

Les β -lactamine, présentent une analogie structurale entre le noyau β -lactame et le dipeptide terminal D-alanyl-D-alanine, du pentapeptide constitutif du peptidoglycane, qui constitue le substrat naturel des PLP. Par conséquent, le blocage de la réaction de transpeptidation compromet l'intégrité structurelle de la paroi cellulaire bactérienne, ce qui entraîne la lyse et la mort de la cellule (Saadaoui, 2008).

2.3. Les glycopeptides

Les antibiotiques glycopeptidiques sont des antibiotiques bactéricides dérivés d'actinomycètes ayant un spectre antibactérien étroit dirigé aux bactéries à Gram positif (aérobies et anaérobies) (Butler et Cooper, 2011; Cattoir et Leclercq, 2013). La découverte de cette ATB est intervenue à une époque où la résistance aux antibiotiques les plus couramment utilisés (β -lactamine) était apparue depuis lors elle a été utilisée comme l'antibiotique de dernier recours pour le traitement des infections potentiellement mortelles causées par des agents pathogènes à Gram positif multirésistants, tels que *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus spp.* et *Clostridium difficile* (Capelo-Martínez et Igrejas, 2020; Yushchuk et al., 2020).

Les glycopeptides sont des macromolécules complexe de haut poids moléculaire (1448 Da), composés d'une fraction glucidique associée à des acides aminés, ainsi que d'un noyau central heptapeptidique (constitués de sept acides aminés) (Figure 5). Cette structure tridimensionnelle en forme de poche confère une rigidité qui joue un rôle important lors de la liaison de l'antibiotique à sa cible sur la paroi cellulaire (dipeptide terminal D-alanyl-D-alanine D-Ala-D-Ala) des précurseurs du peptidoglycane (Barnaet Williams, 1984; Nagarajan, 1991).

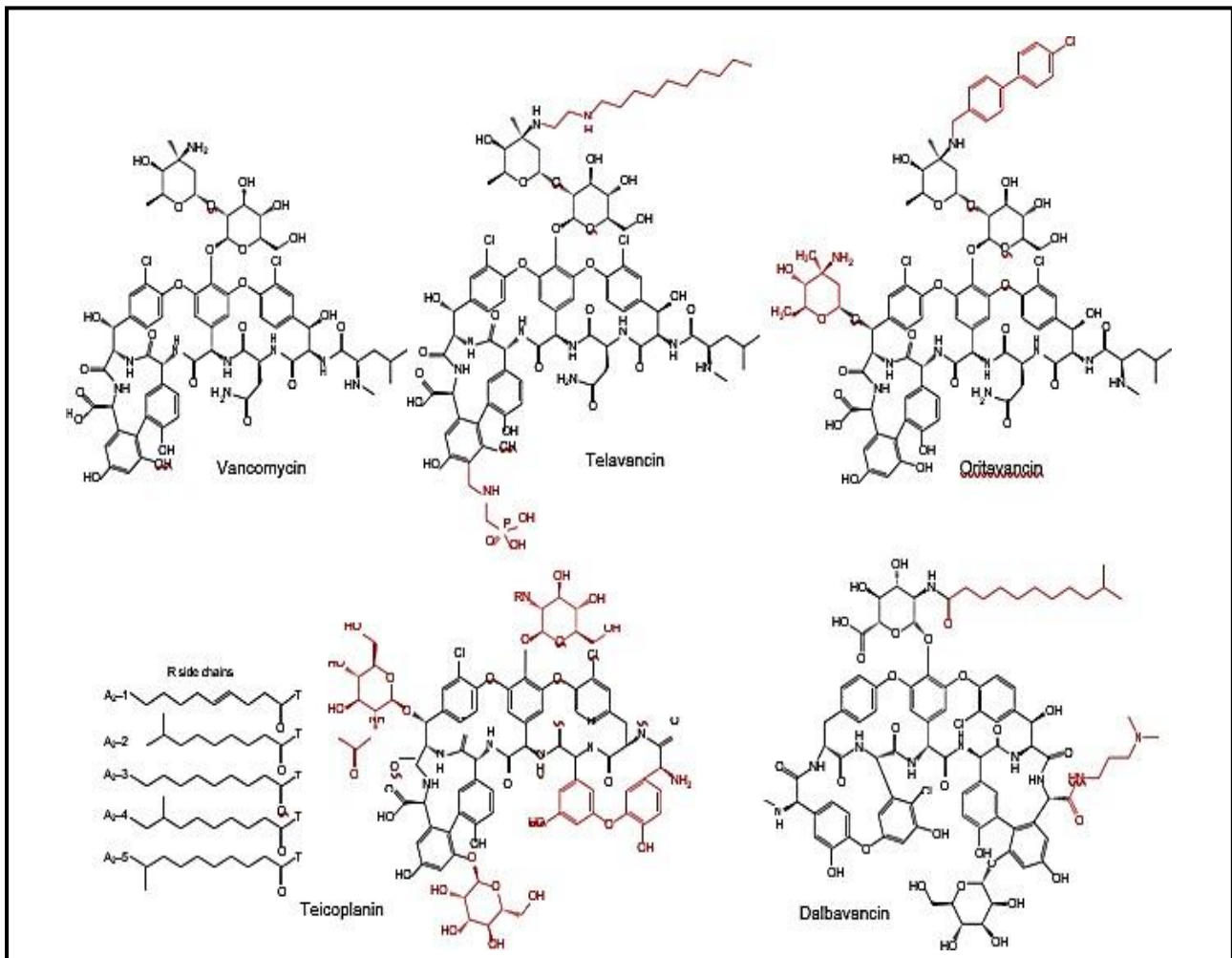


Figure 5. Structures antibactériennes glycopeptidiques et lipoglycopeptidiques. Les principales caractéristiques structurales sont surlignées en rouge (**Zeng *et al.*, 2016**).

Selon leur origine les glycopeptides se divise en deux groupes (**tableau 4**) :

➤ **Glycopeptides naturels**

Ils sont divisés en cinq sous-classes structurales distinctes :

- Classe 1 : L'antibiotique exemple de cette classe est la vancomycine avec la leucine et l'asparagine qui sont les acides aminés 1 et 3 respectivement qui servent à différencier la vancomycine des autres glycopeptides.
- Classe 2 : Telle que l'Avoparcine : qui possède deux acides aminées aromatique dans la position 1 et 3.
- Classe 3 : La Ristocetine et l'actaplanine : contient une liaison éther entre les acides aminés dans la position 1 et 3.

- Classe 4 : Teicoplanine (lipoglycopeptide) : Il s'agit de deux hydroxyphényl-glycines dans la position 1 et 3.
- Classe 5 : Complasatine : qui possède un tryptophane liés à l'acide aminé centrale (**Capelo-Martínez et Igrejas, 2020; Id, 1989**).

➤ **Glycopeptides hémi-synthétiques**

La télavancine et l'oritavancine ont une caractéristique distincte qui est l'ajout de groupes aryle ou alkyle lipophiles sur la sous-unité de sucre aminé par amidation ou alkylation et on a aussi La dalbavancine dérivée de la teicoplanine (**Butler *et al.*, 2014**).

Mécanisme d'action

Le mécanisme d'action principal de cette classe d'antibiotique est une inhibition de la synthèse de peptidoglycane on se fixant sur la partie peptidique du peptidoglycane et se lie au dipeptide terminal D-ala-D-ala. Cette fixation de l'antibiotique altère le fonctionnement normal des transpeptidases et des transglycosylases, entraînant l'arrêt de la synthèse du peptidoglycane, provoquant ainsi la lyse cellulaire (**Duval et Soussy, 1990; Gaudy Catherine et Buxeraud Jacques, 2005**).

En effet, la vancomycine et la téicoplanine agissent autrement en se fixant sur des précurseurs de la paroi Selon certains scientifique, une inhibition de la synthèse d'ARN et une altération de la perméabilité membranaire sont deux mécanismes d'action supplémentaires décrits (**Reynolds, 1989; Asseray *et al.*, 2005**).

Tableau 4. Utilisation clinique des antibiotiques glycopeptidiques (Capelo-Martínez et Igrejas, 2020)

Antibiotiques		Date d'approbation	Traitement de
Naturels glycopeptides	Vancomycine	1958	Colite pseudomembraneuse, entérocolite staphylococcique, endocardite, infection des os et des articulations causées par le SARM et les entérocoques.
	Téicoplanine	1988	Infections compliquées de la peau et des tissus mous, infections des os et des articulations, pneumonie, infections compliquées des voies urinaires, endocardite, bactériémie causée par le SARM et les entérocoques
Semisynthétiques glycopeptides	Télavancine	2009	Infections compliquées de la peau et des structures cutanées (cSSSi), pneumonie nosocomiale et sous ventilation assistée causée par <i>S. aureus</i> , entérocoques et streptocoques
	Dalbavancine	2014	Infections aiguës de la peau et des structures cutanées causées par <i>S. aureus</i> sensible à la méthicilline (MSSA) et <i>S. aureus</i> résistant à la méthicilline (SARM), streptocoques, et <i>Enterococcus faecalis</i> sensible à la vancomycine
	Oritavancine	2014	Infections aiguës de la peau et des tissus causées par le SARM, le SASM, les streptocoques et l' <i>E. faecalis</i> sensible à la vancomycine

2.4. Lipopeptides (daptomycine)

C'est une classe d'antibiotique cyclique constitué d'un noyau hydrophile et une queue lipophile (**Figure 6**). Il est naturellement produit par *Streptomyces roseosporus* et La daptomycine est le seul représentant de cette d'antibiotique (**Revest, 2011**). Son un spectre d'activité bactéricide se réduit sur les Gram positifs avec une efficacité sur les souches résistantes comme les entérocoques résistant à la vancomycine (VRE) et *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM). Elle est indiquée dans le traitement des infections compliqué de la peau et des tissus mous, des endocardites et des bactériémies (**Jung et al., 2008; Verdier et al., 2011**).

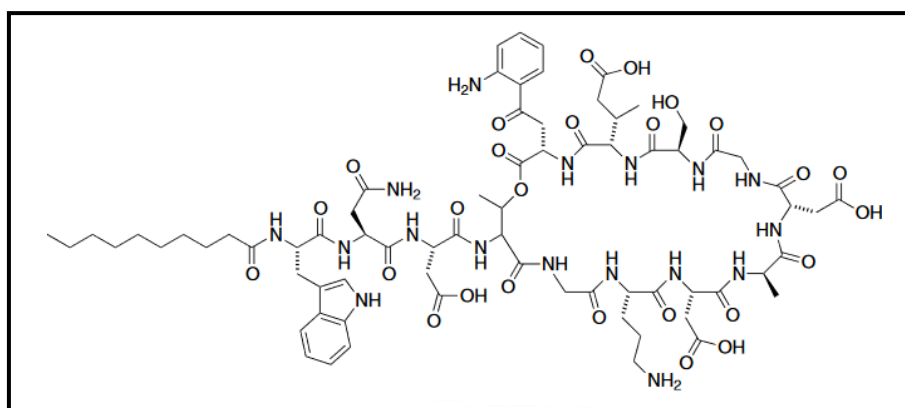


Figure 6. Structure de la daptomycine (**Walsh, 2003**).

Mécanisme d'action :

Son mode d'action repose sur l'altération de l'homéostasie de l'enveloppe bactérienne par interaction avec les phospholipides membranaires (**Reissier, 2016**).

La daptomycine s'insère dans la membrane des Gram + par sa queue hydrophobe et avec une dépendance de Ca^{2+} , la molécule daptomycine va se polymériser, formant un canal ce qui va induire la fuite des ions K^{+} intracellulaire (**Figure 7**) d'où la dépolarisation rapide de la membrane bactérienne et par conséquent de nombreux processus métabolique sont altérés entraînant la mort cellulaire (**Revest, 2011**).

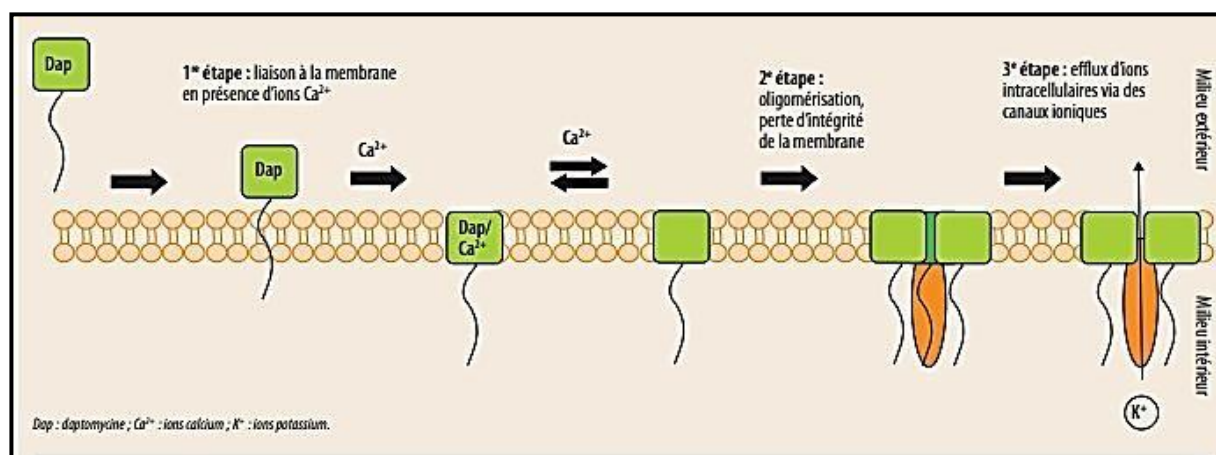


Figure 7. Schéma du mécanisme d'action bactéricide probable de la daptomycine (Verdier *et al.*, 2011).

2.5. Macrolide-lincosamide-streptogramine (MLS)

Ils sont l'une des classes d'antibiotiques les plus utilisés dans le monde, qui sont chimiquement distincts mais regroupés dans un même groupe en raison de leurs modes d'action similaires. Ils ont un spectre d'activité qui comprend principalement des bactéries à Gram positif et quelques bactéries à Gram négatif (Leclercq, 2002).

Les macrolides sont composés d'au moins deux sucres aminés ou neutres attachés à un grand noyau lactonique de taille variable selon le produit. Ils sont généralement classés en fonction du nombre d'atomes qui composent ce noyau lactonique en :

- Macrolides à 14 atomes : exemples : érythromycine, clarithromycin
- Macrolides à 15 atomes : exemple : azithromycine
- Macrolides à 16 atomes : exemples : josamycine, spiramycine

Les lincosamides sont constitués d'un acide aminé et d'un sucre, liés entre eux par une liaison amine. La lincomycine et son dérivé, la clindamycine, sont les molécules les plus utiles en thérapeutique humaine, avec une pharmacocinétique (absorption orale) et une activité antibactérienne améliorées.

Les streptogramines (aussi appelées synergistines) sont composés d'un mélange de deux types de molécules (**figure 8**) :

- Synergistine A (ou M) : ce sont des lactones macrocycliques (ex. pristinamycine IIA, dalfopristine).
- Synergistine B (ou S) : ce sont des hexadepsipeptides cycliques (ex. pristinamycine IA, quinupristine) (Isnard, 2017).

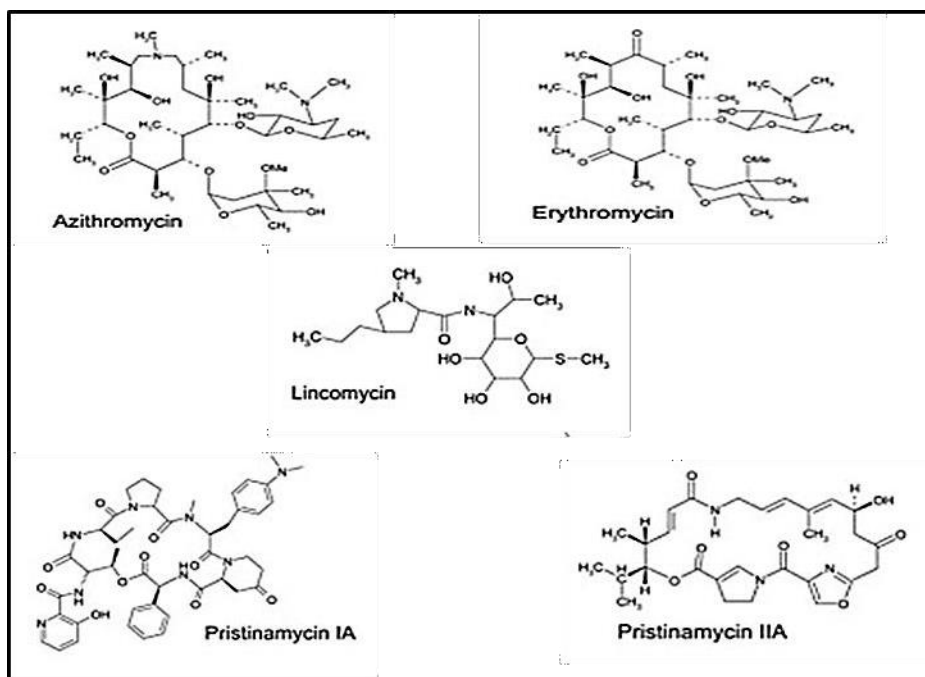


Figure 8. La diversité structurelle des antibiotiques MLS (Tsui *et al.*, 2004).

Mécanisme d'action

Le mécanisme des trois antibiotiques se focalise en général sur le blocage ou l'inhibition de la synthèse protéique par le biais d'une fixation sur la sous unité 50S du ribosome bactérien. Soit en inhibant la phase initiale, telle que les lincosamides ou en ciblant le dernier stade de la synthèse-telle que les macrolides qui se lient au tunnel de sortie du peptide naissant et l'obstruent partiellement (Vázquez-Laslop et Mankin, 2018), ou bien en agissant sur deux étapes différentes qui ont pour conséquence le blocage de la synthèse de la chaîne peptidique (Yala *et al.*, 2001).

2.6. Tétracycline

Les antibiotiques tétracyclines sont des produits naturels, bactériostatiques à large spectre d'action (Walsh, 2003; Miller *et al.*, 2014). On les utilise également pour produire de

nombreux dérivés semi-synthétiques de la classe des tétracyclines (par exemple : oxytétracycline, Doxycycline...) (Capelo-Martínez et Igrejas, 2020).

Les tétracyclines (TC) possèdent une structure chimique commune composée de quatre cycles hexacarbonés fusionnés en ligne (Figure 9) (Chopra et Roberts, 2001).

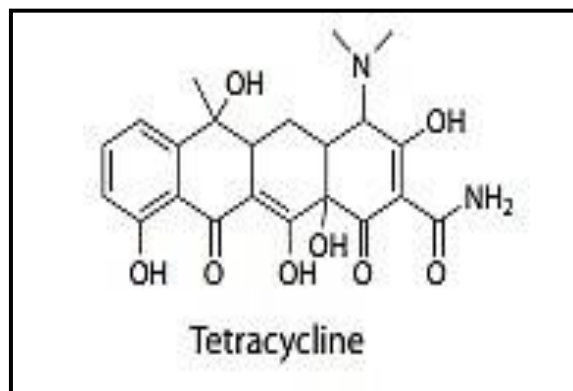


Figure 9. Structure de tétracycline (Walsh, 2003)

Mécanisme d'action

Une fois que les tétracyclines pénètrent dans le cytoplasme, elles se lient à la structure cible au niveau de la sous-unité 30S de leurs ribosomes, entraînant une inhibition de la synthèse des protéines en perturbant la lecture de l'ARNm, ce qui bloque la phase d'élongation de la chaîne polypeptidique, empêchant ainsi la fixation de complexe aminoacyl-ARNt sur le site A de ribosome (Speranza, 2001).

2.7. Rifampicine

La rifampicine est un produit semi-synthétique dérivé de la rifamycine qui est un antibiotique naturel synthétisé par *Streptomyces mediterranei*, commercialisée sous le nom de Rifadine et Rimactan, elle est utilisée depuis des décennies pour traiter la tuberculose et aussi dans le cas des infections par *staphylococcus* associées à des dispositifs médicaux (Stettler et Trampuz, 2014), *hemophilus influenzae* et aussi les entérocoques. Sa structure chimique est constituée d'un macrocycle et d'un cycle aromatique (Figure 10).

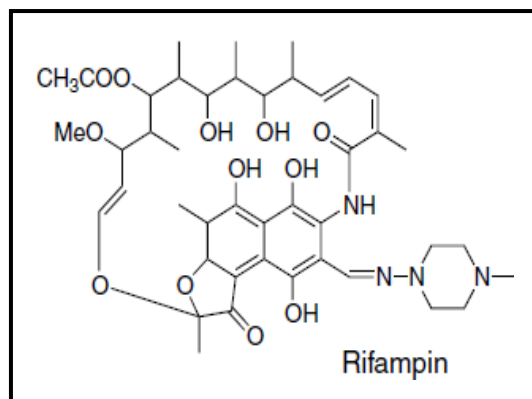


Figure 10. Structure de la rifampicine (Walsh, 2003).

Mécanisme d'actions :

La rifampicine a un effet bactéricide en se liant à la sous-unité bêta de l'ARN polymérase (RpoB) responsable du blocage de l'initiation de la transcription ce qui bloque la synthèse protéique (Stettler et Trampuz, 2014).

2.8. Quinolones

Les quinolones font partie de l'une des principales classes d'antibiotiques les plus couramment utilisés en médecine humaine et vétérinaire. Ce sont des antibiotiques caractérisés par un large spectre d'action, une biodisponibilité orale élevée et une bonne diffusion tissulaire (Appelbaum et Hunter, 2000; Hooper, 2014).

La structure de base des quinolones (Figure 11) est un acide pyridine- β -carboxylique avec un azote en C1, un groupement carboxyle COOH en C3 et un groupement carbonyle en C4 (Soussy, 2006). Dans les années 80, des dérivés de quinolones (fluoroquinolones) ont été développés grâce à des modifications chimiques au niveau de leur noyau, leur conférant une plus grande puissance, un spectre d'activité plus large, une pharmacocinétique améliorée et une moindre fréquence de développement de résistance (Ball, 2000; Hooper et Jacoby, 2015).

Les quinolones sont classées en quatre générations en fonction de leur structure, leur spectre d'action et de leur date de mise sur le marché (Cattoir, 2012).

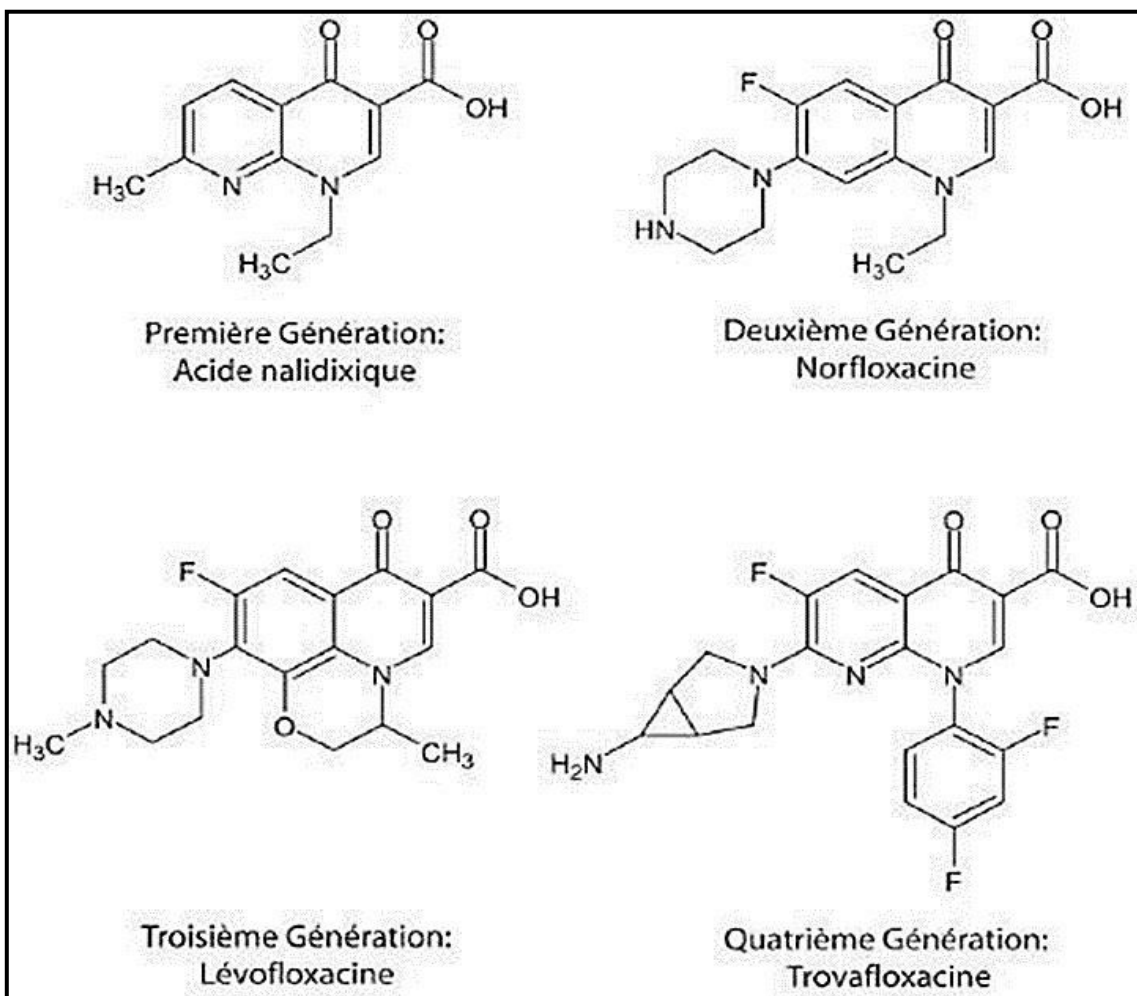


Figure 11. Principales structures des quinolones (Andriole, 2000).

Mécanisme d'action

Les quinolones agissent en inhibant l'ADN gyrase (topoisomérase II) chez les bactéries Gram-négatives et sur la topoisomérase IV chez les bactéries Gram-positives (Ferrero *et al.*, 1994; Gellert *et al.*, 1976), empêchant leur rôle dans le surenroulement de l'ADN, nécessaire à sa réplication (Hooper, 2001). Le complexe quinolone-enzyme-ADN formé inhibe le processus de réplication et empêche la synthèse de l'ADN cela conduit à l'arrêt de la croissance bactérienne (Soussy, 2006). De plus, les doubles coupures d'ADN stabilisées par les quinolones constituaient des lésions irréversibles de l'ADN capables de déclencher l'inactivation de synthèses protéiques spécifiques responsables de l'effet bactéricide de ces antibiotiques (Drlica *et al.*, 2008).

2.9. Oxazolidinone

Ils sont une nouvelle classe d'antibiotiques synthétiques, avec le linézolide comme l'antibiotique représentatif dans ce groupe (Walsh, 2003), qui représente un agent bactériostatique avec une large activité contre les bactéries Gram-positives, y compris les ERV (Miller *et al.*, 2014).

La structure de base des oxazolidinones est formée d'un cycle saturé à cinq liaisons avec un atome d'azote, un atome d'oxygène et une fonction cétone (Figure 12) (Bourgeois-Nicolaos et Doucet-Populaire, 2010).

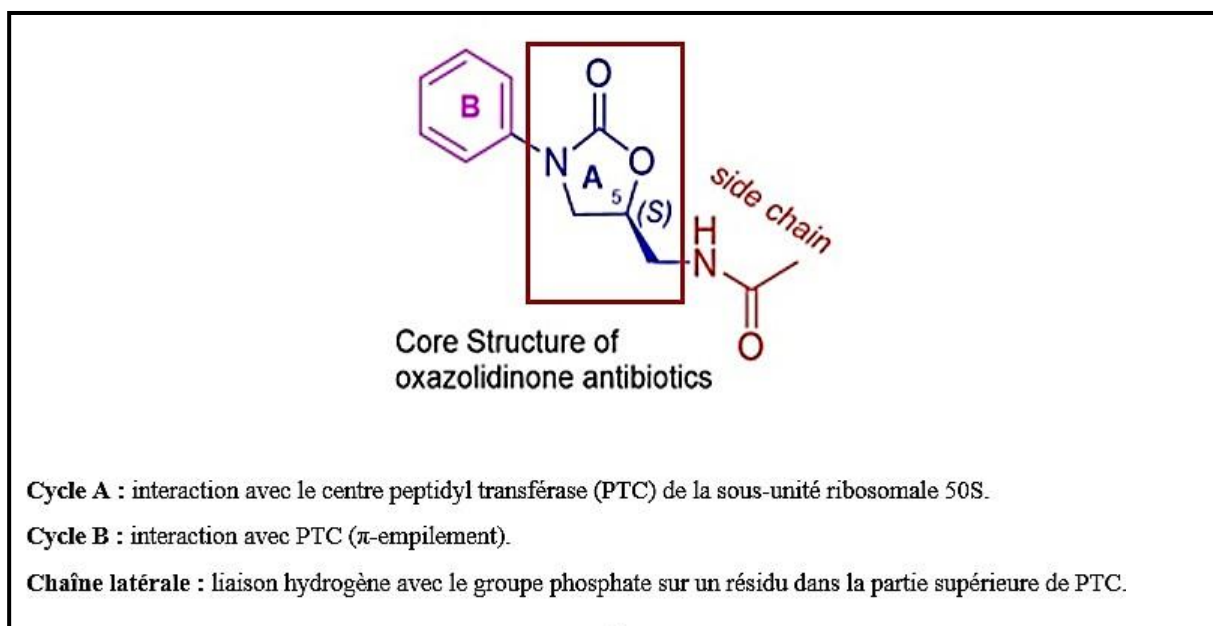


Figure 12. Structure centrale des antibiotiques oxazolidinone (Fotiet *al.*, 2021).

Mécanisme d'action :

Les oxazolidinones ont pour cible le ribosome plus précisément le centre de la peptidyl-transférase (domaine V de l'ARNr 23S). Ces antibiotiques interagissent en inhibant la synthèse protéique, en empêchant la formation du complexe d'initiation, bloquant ainsi le processus de la traduction (Bourgeois-Nicolaos et Doucet-Populaire, 2010).

3. Antibiorésistances chez les entérocoques

3.1. Historique de l'antibiorésistance

la découverte des antibiotiques a débutée par la découverte de la pénicilline en 1928 et a été suivie dans les années 50 et 60 par la découverte et le développement de nouvelles molécules antibiotiques, qui ont données une nouvelle ère aux traitements des infections dans laquelle ils ont réussi non seulement à sauver plus de vie mais aussi à donner accès à des interventions chirurgicales à risque accru d'infection. Cependant, dans les années 80 et 90, les recherches scientifiques n'ont pas donner de nouvelles catégories d'antibiotiques. Ils se sont plutôt limités à améliorer des molécules existantes (Landecker, 2021).

Quelques années plus tard (Figure 13), des résistances bactériennes aux antibiotiques sont apparues (Levy et Marshall, 2004), et elles ont continué à se propager et à émerger jusqu'à devenir une menace mondiale pour la santé publique qui ne connaît pas de frontières géographiques, et affecte tous les êtres vivants (Humains, animaux, microorganismes) (Aslam et al., 2018), menaçant la capacité de traiter les infections bactériennes et touchant d'autres pans de la médecine, telle la gestion du risque infectieux en chirurgie, en oncologie ou dans le domaine de la transplantation d'organes.

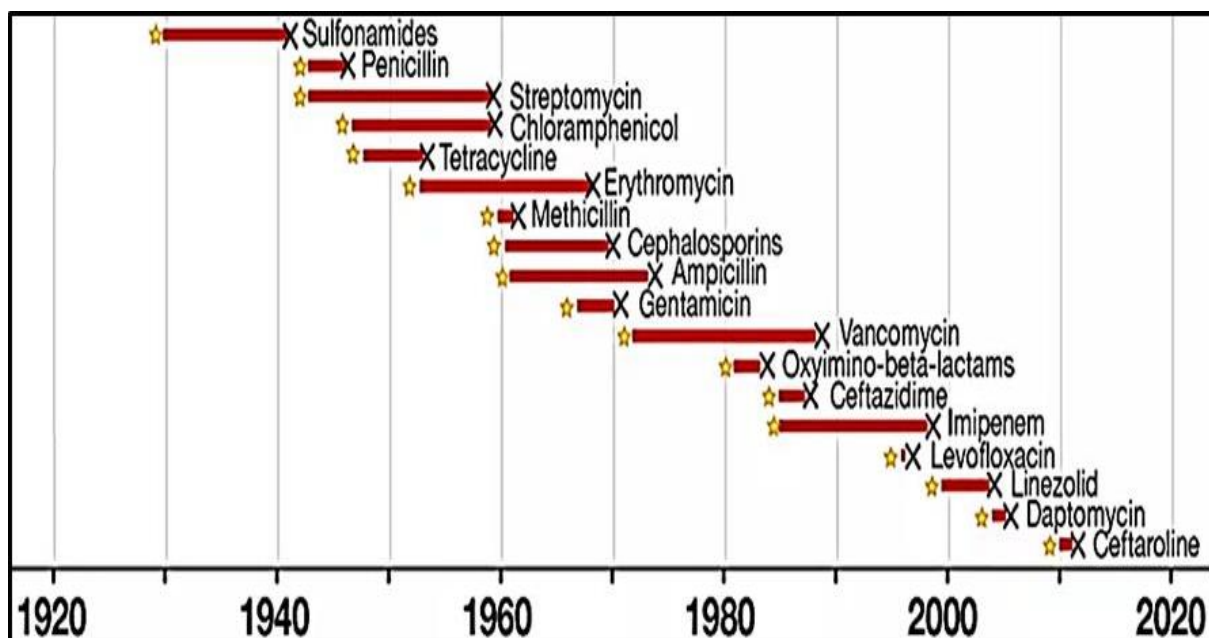


Figure 13. Chronologie de la découverte des différents antibiotiques (☆) et de la détection de premières bactéries résistantes (X) (Tagliabue et Rappuoli, 2018).

L'émergence et la dissémination de la résistance aux antibiotiques a mené les centres de contrôle des maladies (Centers for Disease Control CDC) et l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) à établir une liste de bactéries multi-résistantes (BMR) critiques pour lesquelles il est urgent de rechercher ou développer de nouveaux traitements, y compris les entérobactéries (dont *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*) *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Enterococcus faecium*, *Campylobacter* et *Neisseria gonorrhoeae* (Tacconelli, 2017).

Quoi que les antibiotiques ne soient pas les seuls responsables du développement de l'antibiorésistance. Depuis les années 1980, l'attention des scientifiques s'est également portée sur les produits phytosanitaires (pesticides), les conservateurs antibactériens, les antiseptiques et les désinfectants (Hijazi, 2019).

Quant aux entérocoques, ils présentent d'une part une résistance importante à une grande variété d'agents antimicrobiens (intrinsèques) qui leur a permis de vivre dans des milieux écologiques naturels en tant que commensaux normaux du tractus gastro-intestinal humain. D'autre part, l'exposition régulière à une myriade d'antibiotiques lors des traitements médicaux actuels contribue à l'émergence de nouvelles résistances aux antibiotiques (Figure 14) (Kristich *et al.*, 2014).

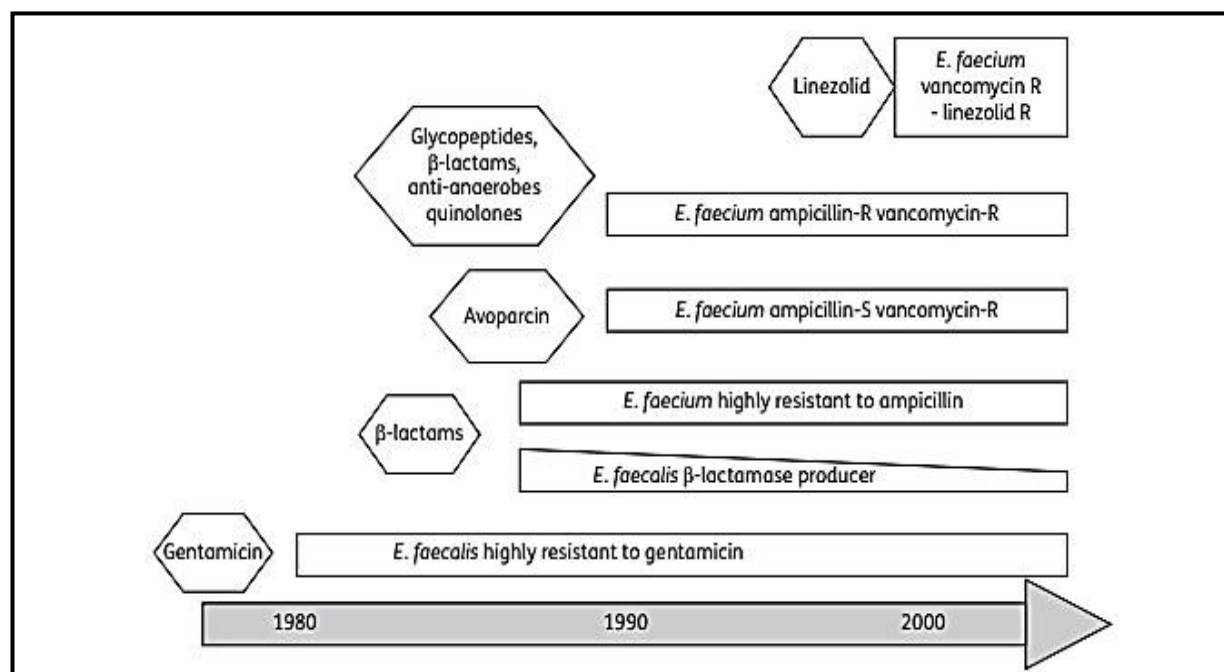


Figure 14. Evolution de l'antibiorésistance chez les entérocoques au cours des 40 dernières années (Cattoiret Leclercq, 2013).

3.2. Résistance intrinsèque

Les espèces bactériennes peuvent être « naturellement » résistantes à un antibiotique ou à une famille d'antibiotiques, disons de manière innée ou même intrinsèquement cela est due à la structure cellulaire ou à son métabolisme. Cette résistance est stable et transmissible à la descendance et concerne toutes les souches d'une même espèce bactérienne (**Philippon, 2008**).

En effet, les entérocoques sont des bactéries possédant de nombreuses résistances intrinsèques, qui proviennent de leur génome, ils sont beaucoup moins sensibles aux antibiotiques que les autres cocci à Gram positif. Ils ont une résistance naturelle aux aminosides (à bas niveau), aux fluoroquinolones, aux lincosamides et une résistance intrinsèque modérée aux β -lactamine (exemple : CMI/CMB β -lactamines $\geq 32 \mu\text{g/ml}$ chez l'espèce *E. faecium*), en particulier les céphalosporines (à l'exception de ceftobiprole qui reste actif vis-à-vis de *E. faecalis*) et les pénicillines (**Tableau 5**) (**Hollenbeck et Rice, 2012 ; Charles et al., 2017**).

Concernant les glycopeptides, les entérocoques montrent une résistance modérée à la vancomycine avec des CMI allant de 8 à 32 $\mu\text{g/ml}$ et une sensibilité à la téicoplanine (CMI $<4 \mu\text{g/ml}$) (**Tannock, 2002**).

Tableau 5. Mécanismes de résistance intrinsèque aux antibiotiques chez les entérocoques (Kiruthiga et Padmavathy, 2020).

Antibiotique	Mode de résistance intrinsèque	Espèce impliquée
Bêtalactamines Ampicilline Pénicilline	(1) Production de β -lactamases, qui détruisent le cycle β -lactame (2) Présence de PLP modifiés, qui ont une affinité plus faible pour les β -lactamines PLP4, PLP5 (3) Paroi cellulaire altérée	<i>E. faecalis</i> <i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i> <i>E. faecium</i> <i>E. faecium</i>
Céphalosporines	(1) Réticulation PLP-5 du peptidoglycane (2) Régulation de la voie de transduction du signal (3) Activité kinase d'IreK (4) Présence du gène <i>mur AA</i>	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i> <i>E. faecalis</i> <i>E. faecalis</i>
Aminosides	(1) Faible perméabilité de la paroi cellulaire (2) Enzymes modifiant les aminosides (3) Enzymes modifiant le ribosome	<i>E. faecalis</i> <i>E. faecium</i> <i>E. faecium</i>
Glycopeptides	Présence de 9 phénotypes Van : <i>vanC</i> ; <i>vanC1</i> , <i>C2</i> , <i>C3</i> , <i>C4</i> pour la résistance intrinsèque (Résistance de bas niveau à la vancomycine mais pas à la teicoplanine)	<i>E. gallinarum</i> <i>E. casseliflavus</i>
Fluoroquinolones	Présence d'un homologue du gène <i>qnr</i> (<i>qnrE. faecalis</i>) Ofloxacine et ciprofloxacine	<i>E. faecalis</i>
Macrolides/ lincosamides/ streptogramines	Pompe à efflux ABC (Quinupristine, Dalfopristine, Clindamycine) (1) gène <i>msrC</i> (Clindamycine, Streptogramine A et B) (2) gène <i>lsa</i> (Lincosamide et Streptogramines)	<i>E. faecalis</i> <i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i> <i>E. avium</i> <i>E. gallinarum</i> <i>E. casseliflavus</i>

3.3. Résistance acquise

C'est une résistance plus préoccupante qui se caractérise par l'apparition subite d'une résistance à un ou plusieurs antibiotiques (multirésistance) chez certaines bactéries qui étaient auparavant sensibles. Cette résistance est généralement due soit à l'apparition d'une mutation génétique ponctuelle transmise seulement aux cellules filles soit par l'échange horizontal d'éléments génétiques mobiles (ex. transposons, plasmides) ou bien par sélection lors de l'exposition aux antibiotiques. En effet les entérocoques ont acquis ou développé des résistances codées par des gènes spécifiques.

3.3.1. Résistance aux β -lactamines

Les entérocoques peuvent acquérir une résistance élevée aux β -lactamines soit par l'acquisition de β -lactamases, soit par des mutations du gène de la protéine de liaison à la pénicilline (PLP5) (**Figure 15**) (**Hollenbeck et Rice, 2012; Lee et al., 2019**).

les β -lactamases inactivent l'antibiotique en clivant le cycle β -lactame, médiés par le gène plasmidique (*bla*) (**Murray, 1992; Leclercq, 1997**). Alors que, les mutations du PLP5 entraînent une réduction supplémentaire de l'affinité de liaison aux β -lactamines et/ou sa surproduction, ce qui augmentent la résistance de façon exponentielle (**Leavis et al., 2004; Fontana et al., 1984**).

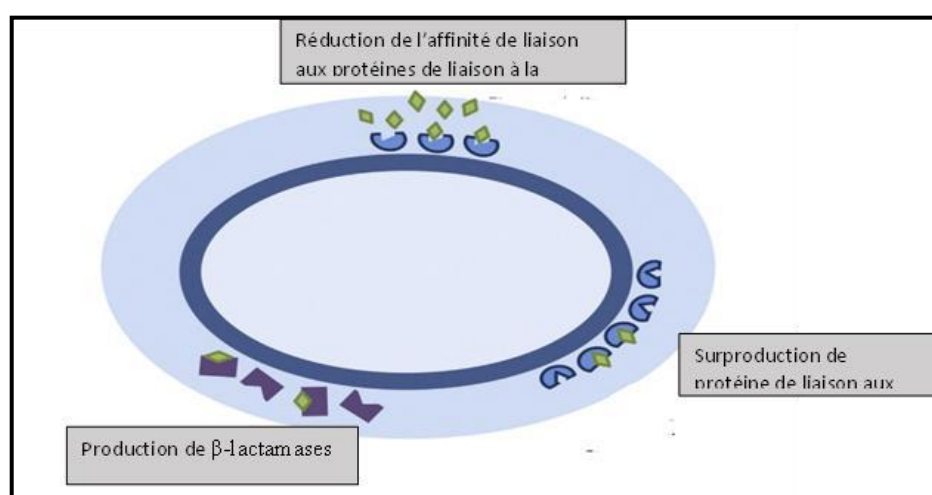


Figure 15. Principaux mécanismes de résistance aux β -lactamines chez les Gram-positifs
(**Tang et al., 2014**)

3.3.2. Résistance aux glycopeptides

Les recherches sur le mécanisme de résistance aux glycopeptides chez les entérocoques ont pu identifier à ce jour Neuf types de résistance sur des critères phénotypiques et génotypiques qui ont pour objectif la production de précurseurs de la paroi modifiés (terminés par D-alanyl-D-lactate ou D-alanyl-D-sérine) (Leclercq et Cattoir, 2012), mais aussi l'élimination des précurseurs naturels de haute affinité avec les glycopeptides (terminés par D-Ala-D-Ala). Cette modification ciblée résulte de la coopération de plusieurs gènes organisés en opéron (Figure 16) codant pour les enzymes nécessaires à la reprogrammation du peptidoglycane (Cattoir et Leclercq, 2010).

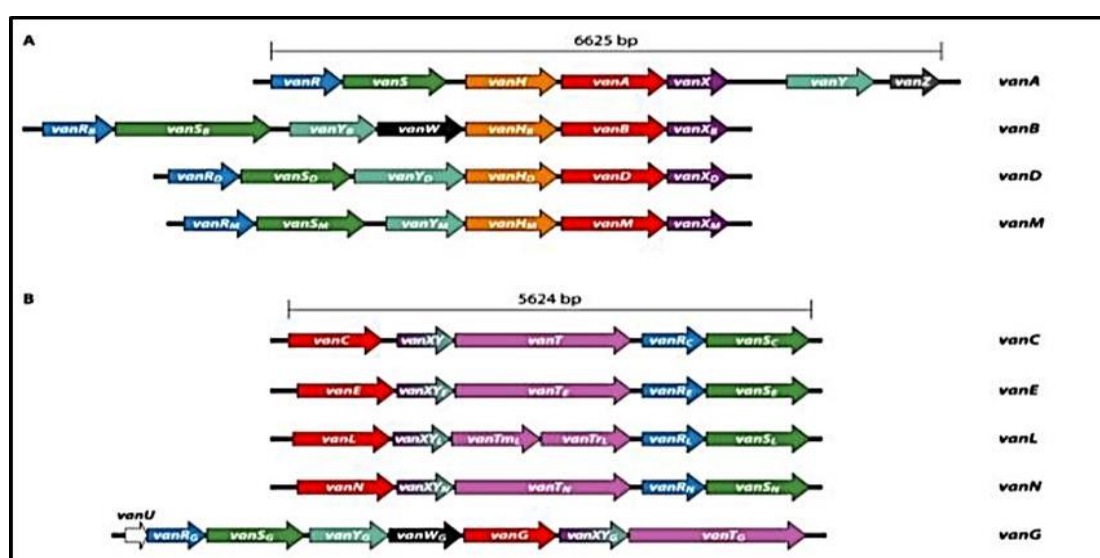


Figure 16. Les opérons de résistance aux glycopeptides (Byappanahalli *et al.*, 2012)

À cet égard, huit types de résistance acquise aux glycopeptides ont été rapportés (désignés selon le nom du gène de la ligase) (*vanA*, *vanB*, *vanD*, *vanE*, *vanG*, *vanL*, *vanM*, *vanN*) (Tableau 6) (Leclercq et Cattoir, 2012), tandis que le *vanC* est un gène intrinsèque d'*Enterococcus gallinarum* et *Enterococcus casseliflavus* (Cattoir et Leclercq, 2013; Echeverría-Esnal *et al.*, 2021).

Les types VanA et VanB sont les phénotypes les plus fréquemment retrouvés chez les entérocoques (surtout *E. faecium*). Le premier porté par un transposon de type Tn3 (Tn1546) et le deuxième est habituellement acquis sur des transposons de type Tn5382 / Tn1549. Avec une haute résistance des souches VanA à la vancomycine et à la teicoplanine de façon inductible. Tandis que la résistance chez les souches VanB est variable et uniquement à la vancomycine. Et ils sont tous les deux les plus souvent décrites comme responsables de la résistance aux glycopeptides dans les souches cliniques d'ERV (Sanlibaba, 2018).

Tableau 6. Résistance aux glycopeptides chez les entérocoques (Cattoiret Leclercq, 2010).

Résistance	Acquise								Naturelle
	Haut		Variable	Modéré	Bas				
Niveau	VanA	VanM	VanB	VanD	VanE	VanG	VanL	VanN	VanC1/C2/C3
Type	VanA	VanM	VanB	VanD	VanE	VanG	VanL	VanN	VanC1/C2/C3
Sensibilité									
Vancomycine	R	R	r-R	R	r	r	r	r	r
Tekoplanine	R	R	S	r-R	S	S	S	S	S
Transférabilité	+	+	+	-	-	+	-	+	-
Principales espèces bactériennes	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i> Diverses espèces d'entérocoques	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. gallinarum</i> <i>E. casseliflavus</i>
Expression	Inductible	?	Inductible	Constitutive	Inductible Constitutive	Inductible	Inductible	Constitutive	Constitutive Inductible
Support du gène de résistance	Plasmide (Chromosome)		Chromosome (Plasmide)		Chromosome	Chromosome	?	Chromosome	Chromosome
Termination des précurseurs	D-Ala-D-Lac				D-Ala-D-Ser				

R : haut niveau de résistance (CMI > 16 mg/l); r : bas niveau de résistance (CMI 8-16 mg/l)
: S : sensible.

L'opéron *vanA* comprend cinq gènes impliqués dans la résistance aux glycopeptides (*vanH*, *A*, *X*, *Y* et *Z*) et deux gènes de régulation (*vanR* et *S*) (Figure 17) (Ahmed et Baptiste, 2018).

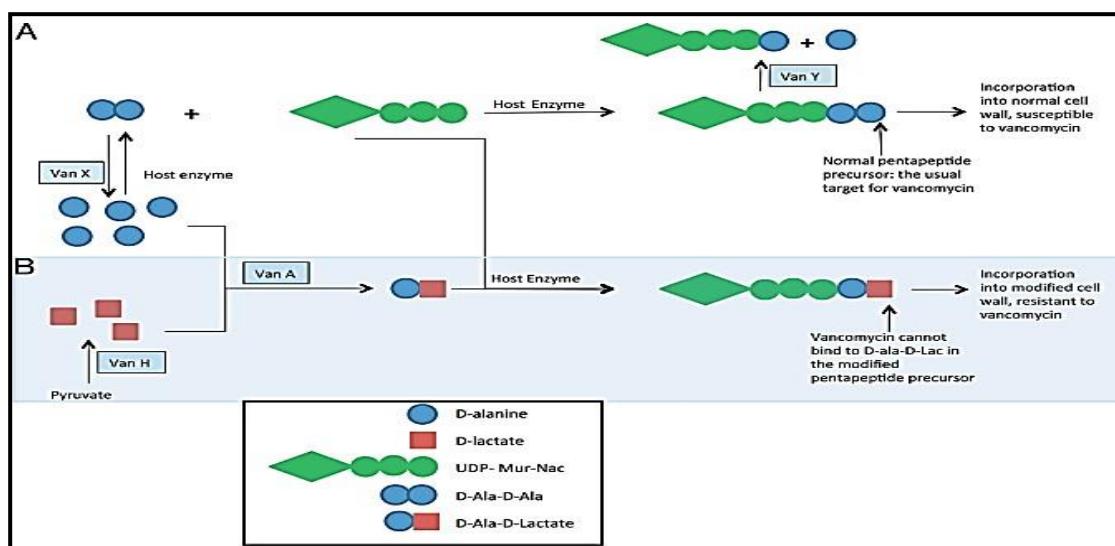


Figure 17. A : synthèse de la paroi bactérienne dans les conditions normales ; B : synthèse de la paroi bactérienne avec des précurseurs modifiés codés par l'opéron *vanA* (Hollenbeck et Rice, 2012)

La déshydrogénase codée par Le gène *vanH*, réduit le pyruvate en D-Lac et fournit un substrat pour la ligase codée par le gène *vanA* qui catalyse la formation d'un dipeptide D-Ala-D-Lac. Après diverses étapes, ce depsipeptide modifié est finalement incorporé au peptidoglycane en cours d'élongation (Hollenbeck et Rice, 2012). Quant à l'élimination du précurseur naturel (sauvage) a extrémité D-Ala-D-Ala, vat être l'objectif de deux gènes *vanX* et *vanY*. Le gène *vanX* code pour une D,D-dipeptidase, qui hydrolyse le dipeptide D-Ala-D-Ala formé par la ligase naturelle et le gène *vanY* code pour une D,D-carboxypeptidase qui élimine le D-Ala terminal des précurseurs (Cattoir et Leclercq, 2010).

3.3.3. Résistance à la daptomycine

Bien que le mécanisme de la résistance à la daptomycine chez les entérocoques reste non résolu, Le mécanisme de résistance chez *E. faecium* est basée sur la répulsion électrostatique du complexe daptomycine / calcium chargé positivement de la membrane cellulaire car la membrane des souches résistantes est contrairement à celle des souches sensibles, chargée positivement et par conséquent, le complexe daptomycine / calcium chargée positivement ne peut se fixer (Miller *et al.*, 2014). Pour *E. faecalis* Le mécanisme décrit s'agit d'une diversion impliquant une modification du site de liaison de la daptomycine appelé ceptum. (paroi transversale des *bactéries* lors de leur division) par conséquent la daptomycine ne peut pas se lier au niveau du septum des souches résistantes et La liaison se produit alors autour des bactéries sur des cardiolipines membranaires (phospholipides), rendant la daptomycine inefficace (Figure 18) (Reissier, 2016).

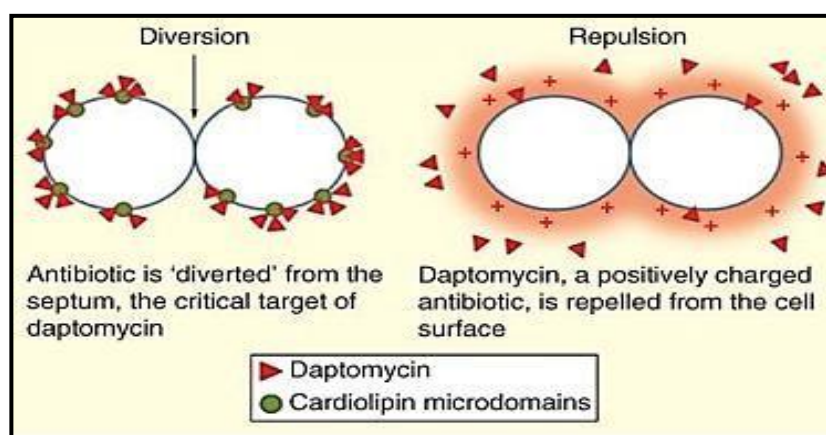


Figure 18. Mécanismes de résistance à la daptomycine chez les entérocoques (Miller *et al.*, 2014).

Ces phénotypes de résistance à la daptomycine ont été déterminés comme étant des conséquence des mutations identifiées dans les gènes *cls*, *gdpD* et *liaF*, par contre l'introduction de ces gènes dans des souches sensibles a donné soit une faible résistance (cas du gène *liaF*), ou pas de résistance (cas du gène *cls* et le gène *gdpD*) la seule résistance significative a été obtenue dans le cas de la combinaison des deux gènes de résistance *gdpD*, *liaF* (**Kristich et al., 2014**). Malgré que ces mutations ont été identifiées chez des souches résistantes, le mécanisme exact reste mal connu (**Hollenbeck et Rice, 2012; Tran et al., 2015**).

3.3.4. Résistance aux macrolides, lincosamides et streptogramines (MLS)

La résistance aux macrolides, lincosamides et streptogramines (MLS) est basée sur différents mécanismes :

- Modification de la cible par la production d'une enzyme (codées par des gènes plasmidiques ou transposables) qui méthyle une adénine spécifique en position 2058 dans l'ARNr 23S de la sous-unité ribosomale 50S, ce qui empêche la fixation de macrolide à leur cible (**Leclercq, 2002**). L'enzyme responsable de ce mécanisme est généralement codée par le gène *ermB* et le phénotype est souvent appelé MLS_B (**Min et al., 2003**).
- Modification ribosomale par des mutations spécifiques dans l'opéron *rrn* codant pour l'ARNr 23S en position 2058 ou 2059 du domaine V (**Leclercq, 2002**), permettant à la bactérie d'acquies un phénotype de résistance de type MLS_B et ML.
- Inactivation enzymatique des molécules MLS en modifiant la structure chimique de l'antibiotique par des enzymes qui peuvent appartenir à la classe des estérases (gènes *ereA* ou *ereB*), hydrolases (gènes *vgbA* ou *vgbB*), des acétyltransférases (gènes *vatD*, *vatE* ou *linA*), ou des phosphotransférases (gène *mph*). Le support de ces gènes est souvent plasmidique (**Roberts et al., 1999; Isnard, 2017**).
- Pompes à efflux, qui éliminent les molécules d'antibiotiques hors de la cellule bactérienne avec deux déterminants principaux sont impliqués chez les entérocoques le gène *msrC* (l'efflux de l'érythromycine, de la pristinamycine et de la virginiamycine), et le gène *mef* (l'efflux de macrolides) (**Clancy et al., 1996; Quincampoix et Mainardi, 2001**).

3.3.5. Résistance à la tétracycline

La résistance aux tétracyclines est causée par un grand nombre de déterminants génétiques mais repose sur deux mécanismes principaux, i) efflux actif de l'antibiotique à travers la membrane cellulaire et ii) protection ribosomique (Miller *et al.*, 2014).

Les pompes à efflux codées par les gènes *tetK* et *tetL* qui sont des déterminants d'origine plasmidique largement diffusés. Alors que, les gènes *tetM*, *tetO* et *tetS* sont des déterminants de résistance chromosomiques, qui confèrent la résistance à la minocycline, la doxycycline et la tétracycline par protection ribosomique qui peuvent être transmis via le transposon Tn916 (Chopra et Roberts, 2001; Miller *et al.*, 2014).

3.3.6. Résistance à la rifampicine

La résistance à la rifampicine résulte généralement de mutations de sites spécifiques dans le gène *rpoB* codant pour la sous-unité bêta de l'ARN polymérase, entraînant une réduction de l'affinité de la rifampicine pour la polymérase. (Kristich et Little, 2012).

3.3.7. Résistance aux quinolones

Les entérocoques présentent de faibles niveaux de résistance intrinsèque aux quinolones, mais peuvent acquérir une résistance élevée par trois principaux mécanismes :

- Mutations dans les gènes *gyrA* et *parC* codant respectivement pour les sous-unités A de l'ADN gyrase et de la topoisomérase IV (régions déterminant la résistance aux quinolones). Ce type de mutation a été observé dans des isolats cliniques d'*E. faecium* et d'*E. faecalis* résistants aux quinolones, empêchant une liaison efficace de l'antibiotique à l'enzyme qui permet à la réplication de l'ADN de poursuivre malgré la présence de l'antibiotique (Kristich *et al.*, 2014; Miller *et al.*, 2014).
- L'efflux de l'antibiotique hors de la cellule grâce à des pompes à efflux de type NorA ou PmrA est un autre mécanisme bien décrit de résistance aux quinolones chez *E. faecium* (Cattoir et Giard, 2014; Miller *et al.*, 2014).
- Le troisième mécanisme de résistance a été identifié chez *E. faecalis* qui est la Protection du l'ADN gyrase et de la topoisomérase IV contre l'inhibition par les quinolones par une protéine désignée famille Qnr d'origine plasmidique (Tran *et al.*, 2005; Kristich *et al.*, 2014).

3.3.8. Résistance aux oxazolidinones

Le linézolide est un antibiotique de la classe des oxazolidinones indiqué dans le traitement des infections à bactéries Gram positives, dont les ERV (**Cattoir et Giard, 2014**).

Le mécanisme de résistance le plus fréquemment rapporté implique une mutation à la position nucléotidique 2576 (G2576T) dans le domaine V de l'ARNr 23S (site de liaison aux oxazolidinones au niveau du ribosome) (**Patel et al., 2013**).

Un autre mécanisme de résistance à cet antibiotique a également été rapporté. Il est dû à la production d'une protéine codé par le gène *cfr* qui méthyle spécifiquement l'ARNr 23S au niveau du résidu A2503, empêchant ainsi l'antibiotique de se lier au site cible (**Kehrenberg et al., 2005**). Ce gène se trouve sur des plasmides et confère une résistance non seulement aux oxazolidinones mais aussi aux phénicolés, aux lincosamides, aux pleuromutilines et aux streptogramines A (**Long et al., 2006; Patel et al., 2013**).



**MATERIELS ET
METHODES**

Dans cette étude, les 8 articles reportant des données phénotypiques et/ou moléculaires sur des souches hospitalières d'*Enterococcus* isolées en Algérie ont été analysés (**Tableau 7**).

Tableau 7. Les articles reportant des données phénotypiques et/ou moléculaires sur des souches *Enterococcus* en Algérie.

Articles et Lettres à l'éditeur	Auteurs et année	Période d'étude	Lieu d'étude	Nombre de prélèvement	Services concernés	Types de prélèvement	Méthodes utilisées
Premier cas d' <i>Enterococcus faecalis</i> résistant à la vancomycine en Algérie	Aggoune <i>et al.</i> , 2008	Novembre 2006	Hôpital militaire d'Alger	/	Le service de pédiatrie de l'hôpital central de l'armée	- Urines - Selles	-L'examen cytbactériologique des urines (ECBU) -API strepto -antibiogramme (CLSI) -E-Test
Épidémiologie moléculaire d' <i>Enterococcus sp.</i> Isolé dans un hôpital universitaire en Algérie	DJAHMI <i>et al.</i> , 2012	1er janvier 2010 à 31 décembre 2010	CHU d'Annaba	/	/	- Urines - Plaies - Sang - Pus	- Vitek 2 - antibiogramme (CA-SFM) - E-test - Kit d'isolement d'ADN microbien Ultraclean - PCR - rep-PCR - MLST - PCR multiplex

Émergence d' <i>Enterococcus faecium</i> résistant aux glycopeptides en Algérie : à propos d'un cas	Hamidi <i>et al.</i> ,2013	2012	CHU Béni-Messous à Alger	4	Le service de médecine interne du CHU Béni-Messous	- Plaie opératoire - Un prélèvement Nasal - Selles	- Galrie Api Strepto - Atibiogramme E-test (CA-SFM) - Test céfinase - PCR - Electrophorèse en champ pulsé (PFGE) - Rep-PCR - MLST
Identification de clones majeurs sensibles à la vancomycine d'entérocoques cliniques d'Algérie	Bourafa <i>et al.</i> ,2016	2010 à 2013	Trois hôpitaux différents de trois villes du nord-est algérien (Annaba, Guelma, El-Kala)	/	/	-Urine -Ecouvillon vaginal - Pus - Sang - Sperme	- tests microbiologiques standard - MALDI-TOF MS - la méthode de diffusion de disque sur gélose Mueller-Hinton (antibiogramme) CA-SFM. - E-test - PCR et séquençage - MLST
Première caractérisation moléculaire de cas apparentés d'infections associées aux soins de santé impliquant <i>Enterococcus faecium vanA</i> multirésistant en Algérie	Benammar <i>et al.</i> ,2018	Novembre 2015 à avril 2016	L'hôpital universitaire de Batna	/	/	/	- Coloration de gram - API 20 Strep - MALDI-TOF MS - Antibiogramme - E-test - PCR - Rep-PCR - Electrophorèse en champ pulsé (PFGE) - MLST.

<i>Enterococcus faecium</i> résistant à la vancomycine en Algérie : caractérisation phénotypique et génotypique des isolats cliniques	Benamrouche <i>et al.</i> , 2021	Janvier 2012 à décembre 2017	Provenant de plusieurs hôpitaux algériens : - Nord (Alger, Boumerdes, Blida et Tipaza), - L'est (Constantine, Sétif et Batna) - L'ouest (Oran)	/	-unités de soins intensifs (USI). - services d'hématologie.	- Sang - Plaie - Voies urinaires - Abcès - Redon - Selles - Écouvillon rectal	- API32 strep - Antibiogrammes (CLSI pour tous les antibiotiques ; EUCAST pour la tigécycline) - E -test - test Céfinase - PCR - MLST
Fréquence et diversité élevées des entérocoques résistants à la vancomycine (ERV) dans les établissements de santé algériens.	Zerrouki <i>et al.</i> , 2021	Octobre 2016 à juin 2017	L'hôpital universitaire de Tlemcen	/	-unité de soins intensifs (USI) - chirurgies (SW) - neuro-chirurgies	- Aspiration trachéale - Liquides gastriques. - Ascitiques. - Liquides céphalorachidiens - vaginale. - urine - plaies	- MALDITOF/MS - Antibiogramme - E-test - PCP - Séquençage
Première détection du complexe clonal 17 d' <i>Enterococcus faecium vanA</i> positif dans les eaux usées hospitalières en Algérie.	Cherak <i>et al.</i> , 2022	Novembre 2018 à octobre 2019	Hôpitaux de Batna, en Algérie	Vingt-cinq	/	Eaux usées	- (MALDI-TOF). - Antibiogramme - E-test - extraction d'ADN - PCR - MLST

Les principales méthodes utilisées dans les articles analysés sont les suivants :

1. Identification

L'identification des bactéries a été réalisée par galeries API 20strep, API 32strep et spectrométrie de masse MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption and Ionization Time-Of-Flight).

1.1. Galeries API 20 Strep et ID 32 Strep

L'API 20 Strep et 32 Strep sont des systèmes standardisés avec 20 et 32 tests biochimiques respectivement qui présentent un grand pouvoir discriminant. Ils permettent l'identification de groupes ou d'espèces appartenant aux streptocoques, entérocoques et aux germes apparentés.

Ces deux galeries ont une similitude dans leurs principes, ils comprennent des microtubes contenant des substrats déshydratés pour la détection d'activités enzymatiques ou de fermentation de sucres. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. En outre, L'identification est obtenue à l'aide d'un logiciel d'identification (**Batt et Tortorello, 2014; Jensen *et al.*, 1999**).

1.2. MALDI-TOF MS (Matrix-Assisted Laser Desorption and Ionization Time-Of-Flight Mass Spectrometry method)

La spectrométrie de masse est une technique d'analyse physico-chimique permettant de détecter, d'identifier et de quantifier des molécules d'intérêt par mesure de leur masse. Chaque spectromètre de masse se compose de trois unités fonctionnelles : une chambre d'ionisation, un analyseur permettant la séparation des ions et un détecteur d'ions (**Figure 19**). Le spectre obtenu est ensuite comparé à une collection de spectres contenus dans des bases de données de façon à identifier la souche bactérienne (**Biswas et Rolain, 2013**).

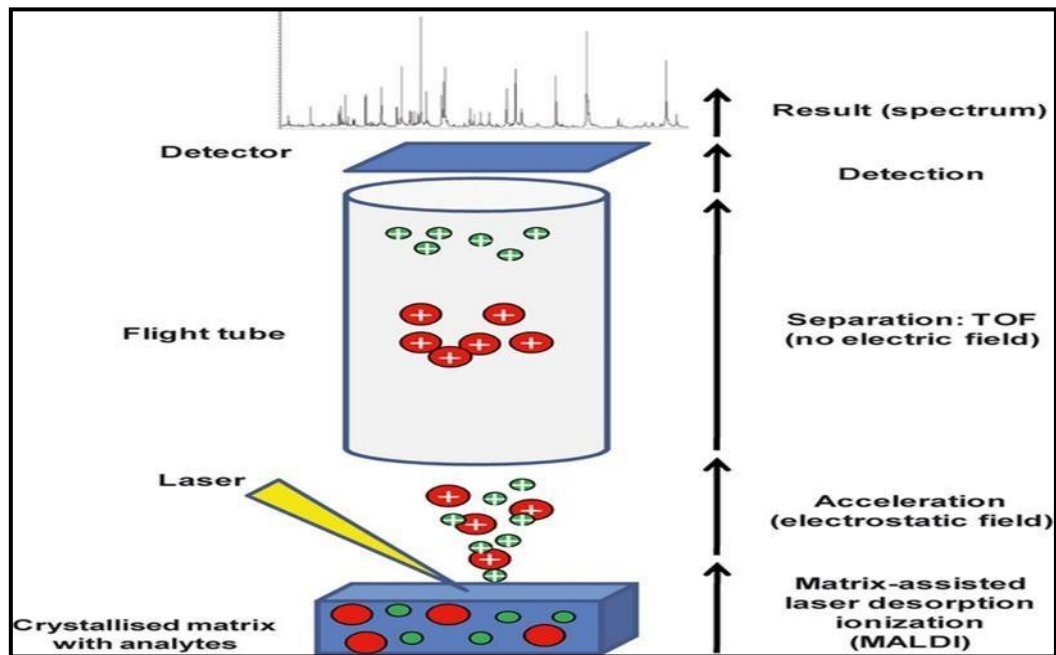


Figure 19. Descriptif technique du MALDI-TOF MS (Croxatto et al., 2012)

2. Etude de la résistance aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques a été déterminée par la méthode de diffusion des disques sur gélose Mueller-Hinton (Antibiogramme) et par la méthode E-test (CMI) selon les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) pour les articles 2,3,4, 7 et 8 ; et selon les directives de l'Institut des Standard Cliniques et de Laboratoire (CLSI) pour les articles 1, 3, 5 et 6 ; et selon les recommandations du Comité européen de l'antibiogramme (EUCAST) pour l'article 6.

2.1 Antibiogramme

L'antibiogramme est un examen bactériologique visant à déterminer la sensibilité d'une bactérie à différents antibiotiques, et d'orienter l'antibiothérapie (Nelly et Anthony, 2003).

La méthode de diffusion en gélose consiste à déposer des disques de papier imprégnés d'antibiotiques sur une gélose de Mueller Hintonensemencée avec la bactérie à étudier. Il s'établit dans la gélose un gradient de concentration d'antibiotique autour de chaque disque. Après incubation, il se produit un halo d'inhibition circulaires autour de chaque disque permettant ainsi de mesurer un diamètre, (Soude *et al.*, 2005).

Les antibiotiques les plus testés dans les articles analysés sont les suivants : Vancomycine et Gentamicine, Tétracycline, Erythromycine, Linézolide. Cependant, d'autres molécules ont

été testés seulement dans quelques articles : Tétracycline et Ampicilline dans les articles 1, 2, 3 et 6, Pristinamycine dans les articles 1, 3, 7 et 8 ; Lévofoxacine dans les articles 1, 2, 3 et 6 ; Triméthoprim et Sulfaméthoxazole dans l'article 4 ; Clindamycine dans les articles 3, 7 et 8 ; Nitrofurantoïne, Streptomycine dans les articles 1, 3 et 6 ; Doxycycline et Minocycline dans les articles 7 et 8 ; Pénicilline dans les deux articles 1 et 8 ; Amoxicilline dans les articles 4 et 7 ; Tigécycline dans les articles 4 et 6 ; Chloramphenicol dans les articles 2 et 6 ; Kanamycine dans les articles 3 et 4 ; furane dans des articles 1 et 3 et Nitrofurane, Triméthoprim et Sulfaméthoxazole dans l'article 4

2.2 Détermination des CMI par E-test

La mesure de la sensibilité aux antibiotiques par la technique des E-test repose sur l'utilisation de bandelettes imprégnées d'un gradient exponentiel d'antibiotique. Il s'agit d'une technique facile à réaliser, utile pour guider l'antibiothérapie en déterminant la sensibilité (sensible, intermédiaire, résistant). Elle permet la détermination quantitative de la concentration minimale inhibitrice (CMI) d'un antibiotique par diffusion en milieu gélosé (Jolyguillou, 2006).

Les bandelettes E-test sont des bandes de papier spécifiques imprégnées de gradients prédéfinis de concentration d'antibiotique (Klein et Gorsy, 2014).

E-test a été utilisée pour déterminer la CMI de la vancomycine dans l'ensemble des articles étudié. Pour la teicoplanine dans les articles (1,2,3,5,6,7). Pour la linézolide dans l'article (7). Pour la tigécycline dans l'article (4), et pour L'ampicilline, la gentamicine, la streptomycine, l'érythromycine, la quinupristine-dalfopristine, la lévofoxacine, la rifampicine, la tétracycline, la nitrofurantoïne, la fosfomycine, chloramphénicol, la tigécycline et la daptomycine Dans l'article (3).

3. Détection phénotypique des mécanismes de résistance aux β -lactamines

Un seul test a été réalisé dans les articles 3 et 6 pour détecter les phénotypes de résistances aux β -lactamines :

Test-Cefinase

Les enzymes inactivant les β -lactamines peuvent être détectées par une méthode chromogénique, reposant sur l'utilisation d'une céphalosporine changeant de coloration après hydrolyse. La molécule la plus utilisée est la nitrocéfine qui, après action d'une -lactamase,

vire du jaune au rouge. Des disques de papier imprégnés de nitrocéfine sont commercialisés : Test Céfinase© (Nelly et Anthony, 2003).

4. Détection et identification des gènes de résistance aux antibiotiques

4.1 Extraction de l'ADN

Les étapes essentielles de l'extraction de l'ADN consistent premièrement à une Lyse des cellules, une élimination des protéines puis une élimination des autres acides nucléiques (ARN, etc.) et concentration de l'ADN par précipitation et après chaque étape se fait une centrifugation pour la séparation des différents constituants de la cellule en fonction de leur poids moléculaire et récupération du surnageant qui contient l'acide nucléique.

4.2 Amplification de l'ADN par PCR

La réaction en chaîne par polymérase (PCR) peut être considérée comme la technique clé de la biologie moléculaire. La PCR amplifie de façon sélective certaines régions d'ADN de très faibles quantités en très grandes quantités qui peuvent être utilisées directement ou dans des applications en aval. Il y a trois étapes principales dans la PCR comme suit (**Figure 20**) :

- Étape (1) : Dénaturation : séparation des deux brins d'ADN complémentaires par la chaleur à 94–96 °C.
- Étape (2) : hybridation : La séquence d'ADN de l'amorce est complémentaire de la cible.
- Étape (3) : élongation : synthèse d'un brin complémentaire par la Taq polymérase

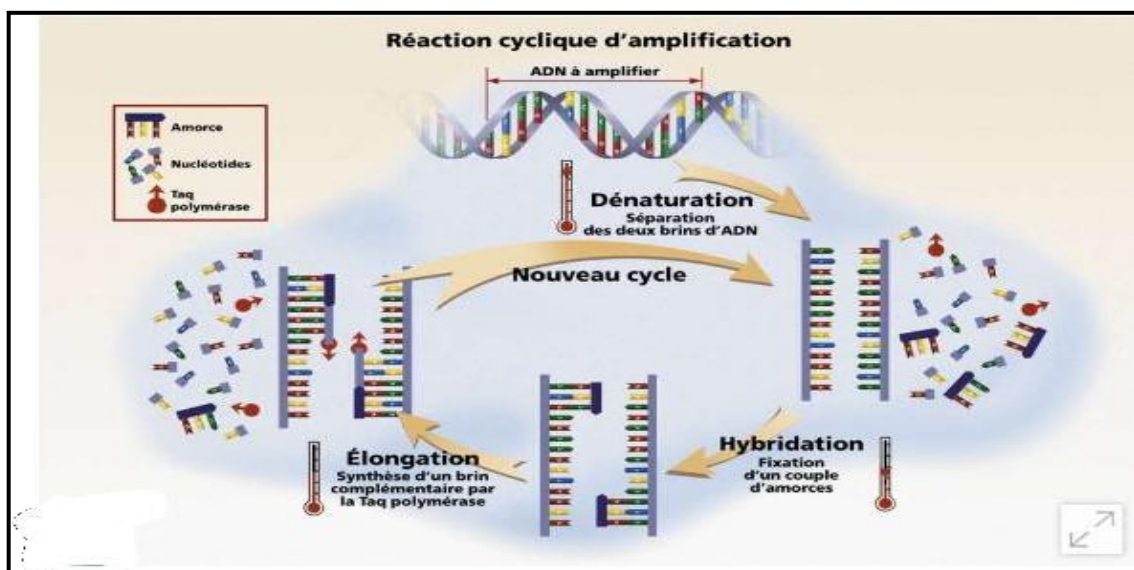


Figure 20. La technique d'amplification de l'ADN par PCR (Menu, 2019)

Cette technique a été utilisée pour rechercher les gènes suivants : les gènes codant la résistance aux glycopeptides *vanA*, *vanB*, *vanC-1* et *vanC-2/3* et les gènes codant la résistance à l'érythromycine *ermA*, *ermB*, *ermC* et *ermF*.

4.3. Séquençage

Le séquençage consiste à déterminer la séquence nucléotidique d'un fragment d'ADN amplifié. Les produits de PCR purifiés et dilués sont séquencés selon la méthode décrite par Sanger et ses collaborateurs (Sanger et al., 1977). Il s'agit d'une méthode de séquençage par synthèse. L'élongation des brins d'ADN par la polymérase est stoppée de façon aléatoire suite à l'incorporation didésoxyribonucléotide triphosphate (ddNTP). Chacun des 4 ddNTP, présent en faible proportion par rapport au dNTP correspondant, est marqué par un fluorochrome spécifique.

5. Typage moléculaire des souches étudiées

Diverses techniques basées sur les acides nucléiques ont été utilisées pour typer et caractériser la variabilité génétique des entérocoques. Ces techniques moléculaires comprennent : l'électrophorèse en champ pulsé pour les articles 3 et 5, le Typage par Séquençage Multilocus (MLTS) pour les articles 2, 3, 4, 5, 6 et 8 et rep-PCR pour les articles 2, 3 et 5.

5.1. Électrophorèse en champ pulsé

C'est une méthode très performante en épidémiologie qui permet de comparer des souches bactériennes au sein d'une même espèce. Cette méthode a été développée par Schwartz et Cantor en 1984 (Schwartz et Cantor, 1984), dans le but de séparer les grandes molécules d'ADN ayant une taille supérieure à 50 kb. Dans cette technique, l'ADN bactérien est clivé par des endonucléases, enzymes de restriction à faible nombre de sites de coupures, ce qui permet d'obtenir un nombre réduit de fragments d'ADN. Durant cette électrophorèse, l'ADN bactérien clivé est exposé à des champs électriques dont la polarité est alternée à intervalles de temps réguliers, permettant ainsi la séparation des fragments d'ADN de grande taille. Le souci de cette technique, basée sur l'analyse du chromosome bactérien intact, réside précisément au niveau de la manipulation de ces molécules de grande taille qu'il faut éviter d'endommager lors de la préparation. Pour cela, les cellules bactériennes sont incluses dans une matrice semi-solide d'agarose appelée plug ou insert (Grattard, 2007).

5.2. Typage par séquençage multilocus (Multi-locus sequence typing ou MLST)

La MLST est une méthode qui consiste à séquencer un ensemble de fragments d'ADN, amplifiés par PCR, provenant de gènes de ménage « house keeping genes », caractéristiques

de chaque espèce. Le choix de ces gènes est basé sur leur variabilité allélique, l'absence de répercussions due à la pression de sélection de milieu extérieur et leur répartition homogène sur le chromosome. Il s'agit principalement de gène codant pour des enzymes du métabolisme intermédiaire (**Maiden *et al.*, 1998**).

Au sein d'une même espèce et pour chaque locus étudié, toute mutation relevée dans la séquence, définit un nouvel allèle ou variant allélique, auquel un numéro arbitraire est attribué. La combinaison des différents allèles fournit un profil allélique qui définit un type particulier pour chaque isolat, ou Séquence Type (ST). La combinaison des allèles des différents gènes analysés est unique pour une souche donnée (**Maiden, 2006**).

5.3. Rep-PCR

La PCR palindromique extragénique répétitive (rep-PCR) est une méthode génotypique qui a été également utilisé pour la caractérisation moléculaire des espèces d'entérocoques. Des amorces oligonucléotidiques sont utilisées qui s'hybrident à des séquences répétitives non codantes dispersées dans le génome (**Wijetunge *et al.*, 2012; Figueroa *et al.*, 2015**).

Cette méthode amplifie diverses régions d'ADN entre les éléments répétitifs adjacents, conduisant à la production de divers amplicons. Ces amplicons sont ensuite caractérisés par électrophorèse et les modèles des bandes sont comparés pour déterminer la parenté génétique entre les isolats bactériens analysés (**Figueroa *et al.*, 2015**).



**RESULTAT ET
DISCUSSION**

Depuis quelque décennie les bactéries du genre *Enterococcus* ont été impliquées dans de nombreuses maladies infectieuses, principalement dans les infections associées aux soins, posant de réel problème de santé publique. Les entérocoques représentent aujourd'hui un modèle d'adaptation particulièrement efficace en terme d'antibiorésistance du fait de leur capacité à survivre de façon prolongée en milieu hospitaliers et de l'utilisation abusif des antibiotiques. Cela a été l'objectif de huit études menées en Algérie depuis 2008 rapportant les taux et pourcentages de résistance ainsi que les gènes responsables de cette résistance (**Aggoune et al., 2008; Djahmi et al., 2012; Hamidi et al., 2013; Bourafa et al., 2016; Benammar et al., 2018; Zerrouki et al., 2021; Cherak et al., 2022**).

1. Souches identifiées

Les résultats des articles analysés montrent que le nombre de souches d'*Enterococcus* isolées est très variable (**Tableau 8**). Cela est probablement lié à la différence dans le nombre de prélèvements réalisés, les types de prélèvement ainsi qu'au lieu d'étude.

Différentes espèces d'*Enterococcus* ont été identifiées avec prédominance d'*Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* chez les patients dans l'ensemble des CHU étudiés (**Bourafa et al., 2016; Cherak et al., 2022; Djahmi et al., 2012; Zerrouki et al., 2021**). Pour les échantillons d'eaux usées provenant de CHU de Batna on note l'isolement exclusif de l'espèce *E. faecium* avec 5 isolats (**Cherak et al., 2022**). La dominance de ces espèces parmi les souches d'*Enterococcus* a été également rapporté par d'autres études dans plusieurs pays en monde (**Kayser, 2003; Valenzuela et al., 2010**)

Tableau 8. Les taux d'isolement d'*Enterococcus* en Algérie

Articles	Auteur et année	Lieu d'étude	Nombre de souches entérocoques	Espèces isolés
(2)	Djahmi <i>et al.</i> ,2012.	CHU d'Annaba	125 souches d' <i>Enterococcus</i>	<i>E. faecalis</i> n=80 (64%) <i>E. faecium</i> n=39 (38,21%) Autres n=6 (4,8%)
(4)	Bourafa <i>et al.</i> ,2016	CHU Annaba CHU Guelma CHU El-Kala	85 souches	<i>E. faecalis</i> n=64 (75,3 %) <i>E. faecium</i> n=18 (21,2 %) Autres n=3 (3,6 %)
(7)	Zerrouki <i>et al.</i> ,2021	CHU de Tlemcen	191 souches	<i>E. faecalis</i> n=65 (34%) <i>E. faecium</i> n=73 (38,21%) Autres n=53 (27,53%)
(8)	Cherak <i>et al.</i> ,2022	CHU de Batna	5 souches	<i>E. faecium</i> n=5 (100%)

2. Etude de la résistance aux antibiotiques chez les entérocoques en Algérie

Différent taux de résistance ont été notés pour les antibiotiques testés dans la plupart des études analysées. Sur les huit articles étudiés quatre seulement étaient des articles d'épidémiologie pour lesquels on a présenté les taux de résistance aux antibiotiques chez les entérocoques.

2.1. Résistance aux β -lactamines (amoxicilline ou ampicilline)

Dans notre enquête, 4 articles seulement ont rapportés des taux de résistance aux β -lactamine. Les résultats ces articles montrent que les taux de résistance au β -lactamine ont été différents en fonction des différents hôpitaux et les espèces d'*Enterococcus* étudiées. En effet les taux de résistance les plus élevés ont été notés avec l'espèce *E. faecium* dans l'ensemble des CHU étudiés (Bourafa *et al.*, 2016; Djahmi *et al.*, 2012; Zerrouki *et al.*, 2021). Cependant les taux de résistance les plus faibles ont été notés avec *E. faecalis* et les autres espèces d'*Enterococcus*.

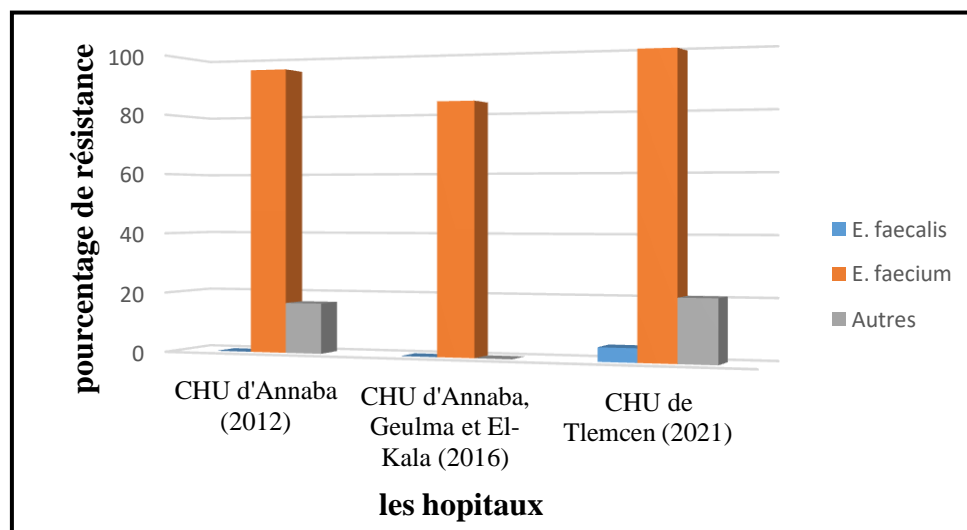


Figure 25. Taux de résistance aux β -lactamines chez *Enterococcus* en Algérie

2.2. Résistance aux glycopeptides

Concernant les glycopeptides, les taux les plus élevés de résistance aux glycopeptides ont été notés avec l'espèce *E. faecium* avec 100% de souche résistante à la vancomycine et teicoplanine dans les eaux usées du CHU de Batna (Cherak *et al.*, 2022). 60% de résistance à ces antibiotiques au CHU de Tlemcen (Zerrouki *et al.*, 2021). Ce taux de résistance élevé était également noté en Inde (53.84% avec *E. faecium*) et en Iran (70% avec *E. faecium*) (Shrestha *et al.*, 2021).

Les taux de résistance les plus faibles ont été notés avec les mêmes espèces *E. faecium* au CHU de Annaba (0% de souche résistante) (Djahmi *et al.*, 2012), et avec l'espèce *E. faecalis* 25% de souches résistantes ont été notés au CHU de Tlemcen (Zerrouki *et al.*, 2021). Concernant les autres espèces d'*Enterococcus* les taux de résistance aux glycopeptides étaient moyens, où on note 40% et 30% de souches résistantes à la vancomycine et la teicoplanine respectivement au CHU de Tlemcen (Zerrouki *et al.*, 2021), cependant au CHU de Annaba les autres espèces *Enterococcus* étaient résistantes seulement à la vancomycine (65%) (Djahmi *et al.*, 2012).

Des taux de résistance aux glycopeptides variables ont été notés chez les entérocoques dans plusieurs pays dans le monde tels que l'Irlande (44,1%), Grèce (27,9%), Slovaquie (26,4%), Pologne (25,2%) et la Hongrie (22,5%) (Gastmeier *et al.*, 2014).

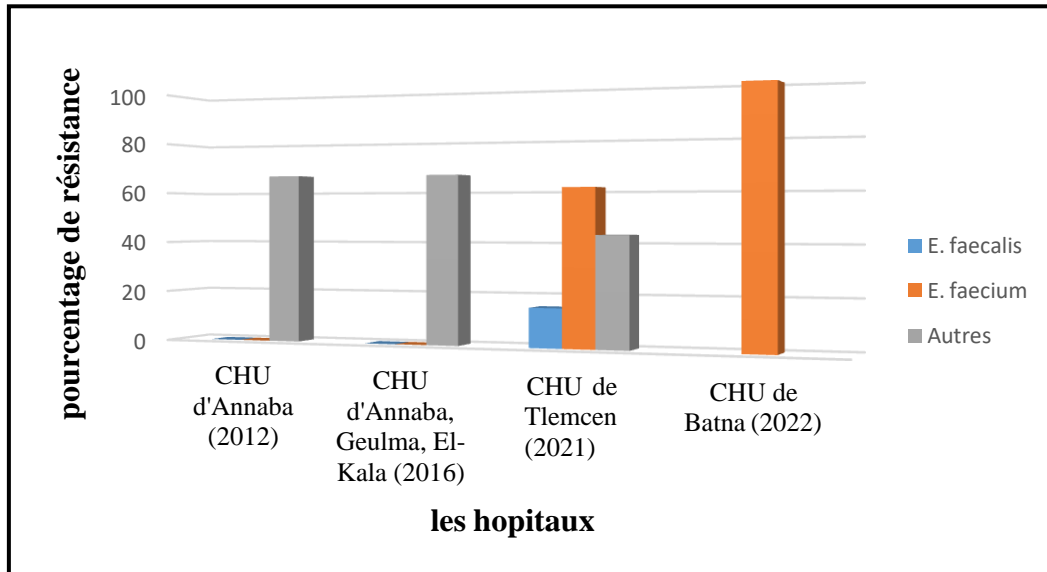


Figure 21. Taux de résistance à la vancomycine chez *Enterococcus* en Algérie

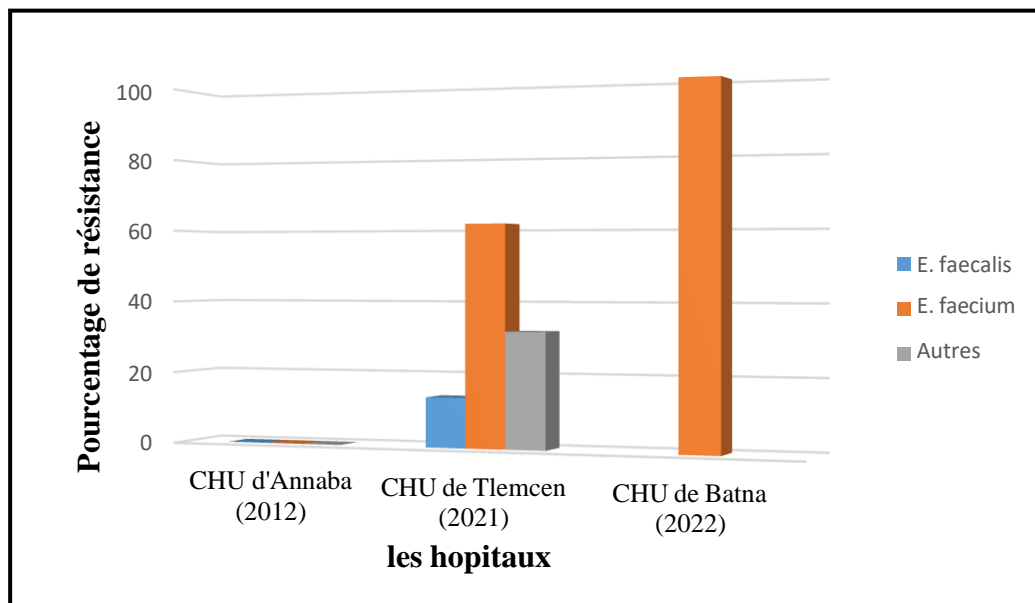


Figure 22. Taux de résistance à la teicoplanine chez *Enterococcus* en Algérie.

2.3. Résistance à l'érythromycine

Concernant l'érythromycine des taux de résistance très proches ont été trouvés dans l'ensemble des articles analysés (Figure 23). Pour *E. faecalis* et *E. faecium* les taux de résistances de 80% ont été noté au CHU d'Annaba (Djahmi et al., 2012), de moyen allant au 60% au CHU de Tlemcen (Zerrouki et al., 2021), et aux CHU de Batna 100% de souche *E. faecium* étaient résistant à cette classe d'antibiotiques (Cherak et al., 2022). Les taux de

résistance faible en étaient identifiés chez d'autres espèces d'*Enterococcus* 66.7% au CHU d'Annaba et 25.3% au CHU de Tlemcen (Djahmi *et al.*, 2012; Zerrouki *et al.*, 2021).

En effet, des taux de résistance à l'érythromycine chez les enterocoques ont été aussi trouvés au Maroc (21.73%) (Valenzuela *et al.*, 2008), en Portugal (84%) (Sabença *et al.*, 2020) et en Iran (64 %) (Ahmadpoor *et al.*, 2021).

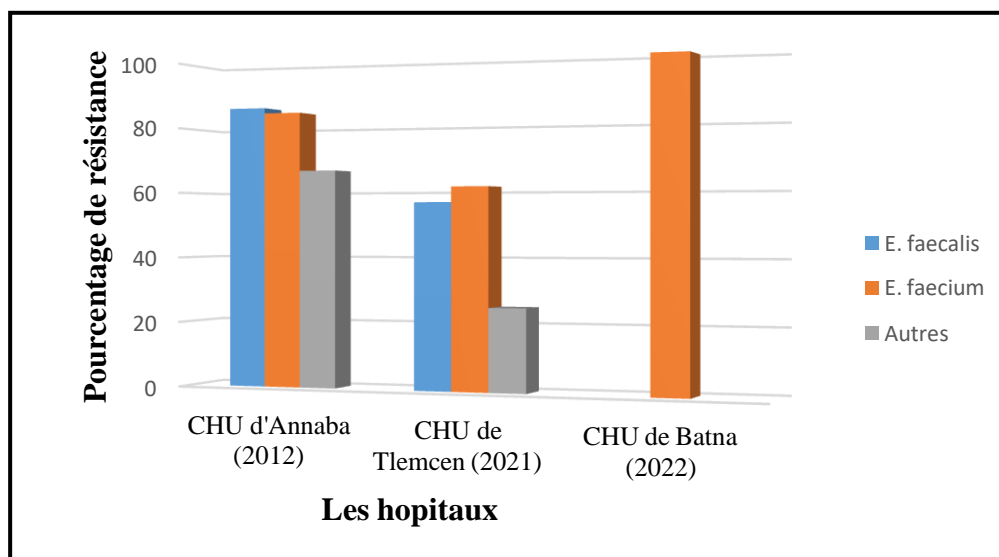


Figure 23. Taux de résistance à l'érythromycine chez *Enterococcus* en Algérie.

2.4. Résistance aux aminosides (Gentamicine)

Les taux les plus élevés de la résistance à la gentamicine ont été notés avec l'espèce *E. faecium* : 100% au CHU de Batna (Cherak *et al.*, 2022), 77.8% au CHU de Annaba Gheulma Et EL-Kala 61.5% (Bourafa *et al.*, 2016), au CHU de Annaba et 49.3% au CHU de Tlemcen (Djahmi *et al.*, 2012; Zerrouki *et al.*, 2021). Les taux de résistance moyen ont été notés chez *E. faecalis* avec 53.7% au CHU d'Annaba, 49.3% au CHU de Annaba, Guelma et EL-Kala et 35.4% au CHU de Tlemcen (Bourafa *et al.*, 2016; Djahmi *et al.*, 2012; Zerrouki *et al.*, 2021). Pour les autres espèces des taux de résistance également moyen ont été notés avec cette molécule.

Ces taux de résistance variable ont été notés également dans d'autres pays au monde (11%) au Portugal (Sabença *et al.*, 2020).

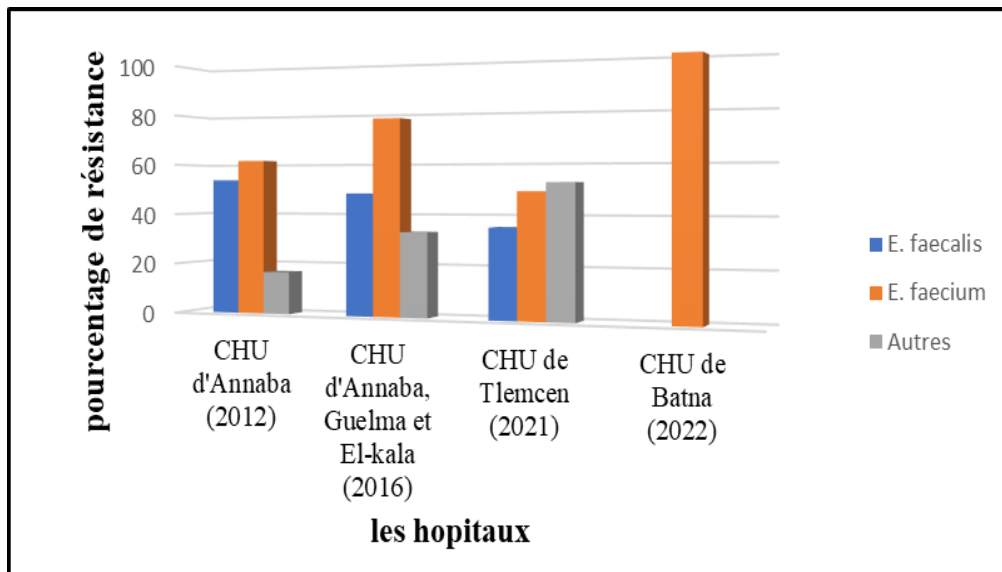


Figure 24. Taux de résistance à la gentamicine chez *Enterococcus* en Algérie

2.5. Résistance au linezolide

Le linezolide est une option thérapeutique importante pour les infections causées par des pathogènes bactériens à Gram positif, en particulier les entérocoques résistants à la vancomycine. Sur l'ensemble des articles étudiés aucune souche d'*Enterococcus* résistante au linezolide n'a été isolée. Cette situation est également observée dans plusieurs hôpitaux dans le monde (Bender *et al.*, 2018; Bi *et al.*, 2018).

3. Les gènes de résistance aux antibiotiques chez *Enterococcus* en milieu hospitalier en Algérie

La présence d'*Enterococcus* dans le monde été bien documenté et les données moléculaires sont désormais disponibles dans la plupart des pays. La résistance aux vancomycines (VRE) est médiée par les gènes *vanA* à *vanG* qui permettent à la bactérie de synthétiser des précurseurs modifiés de la paroi (peptidoglycane), ce qui aboutit à une perte d'action des glycopeptides. Le gène *vanA* est le gène le plus fréquent codant pour une résistance de haut niveau à la vancomycine et à la teicoplanine.

Tous les articles rapportant des données moléculaires sur les souches d'*Enterococcus* isolées en Algérie analysées dans cette étude, ont recherchés les gènes de résistance aux glycopeptides (vancomycine) et les gènes de résistance à l'érythromycine.

Les différents gènes de résistance détectés dans l'ensemble des études sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 9. Les gènes de résistance aux antibiotiques décrits chez *Enterococcus* en Algérie

Articles	Auteur et année	Lieu d'étude	Nombre de souches entérocoques	Gènes recherchés	Gènes retrouvés
(1)	Aggoune et al.,2008	L'hôpital militaire d'Alger	/	/	/
(2)	Djahmi et al.,2012	CHU de d'Annaba	125 souches d' <i>Enterococcus</i>	<i>vanA</i> , <i>vanB</i> , <i>vanC-1</i> et <i>vanC-2/3</i> <i>erm(A)</i> , <i>erm(B)</i> , <i>erm(C)</i> et <i>erm(F)</i>	<i>erm(B)</i>
(3)	Hamidi et al.,2013	CHU de Béni-Messous		<i>vanA</i> , <i>vanB</i> , <i>vanC1</i> , <i>vanC2/C3</i>)	<i>vanA</i>
(4)	Bourafa et al.,2016	CHU Annaba CHU Guelma CHU El-Kala	85 souches	<i>vanC</i>	<i>vanC1</i> et <i>van C4</i>
(5)	Benammar et al.,2018	CHU de Batna		<i>vanA</i> , <i>vanB</i> , <i>vanC1</i> , <i>vanC2/C3</i>)	<i>vanA</i>
(6)	Benamrouche et al.,2021	CHU d'Alger, CHU de Boumerdes CHU de Blida CHU de Tipaza CHU de Constantine CHU de Sétif CHU de Batna CHU d'Oran		<i>vanA</i> , <i>vanB</i> et <i>vanC-1/2</i>	<i>vanA</i>
(7)	Zerrouki et al.,2021	CHU de Tlemcen	5 souches	<i>vanA</i> , <i>vanB</i> , <i>vanC1</i> , <i>vanC2/C3</i>	<i>vanA</i> , <i>vanB</i> , <i>vanC1</i> et , <i>vanC2</i> , <i>vanC3</i>
(8)	Cherak et al.,2022	Hopitaux de Batna	191 souches	<i>vanA</i> , <i>vanB</i>	<i>vanA</i>

Notre étude montre que la résistance aux vancomycine et teicoplanine chez *E. faecalis* et *E. faecium* d'origine hospitalier en Algérie est due au gènes *vanA* et *vanB* qui ont été détectés dans plusieurs CHU en Algérie : CHU de Tlemcen, CHU d'Oran, CHU de Tipaza, CHU de Blida, CHU de Béni-Messous, CHU d'Alger, CHU de Boumerdes, CHU de Sétif, CHU de Batna, CHU de Constantine, CHU de Geulma et CHU d'Annaba (Hamidi et al., 2013;

Benammar et al., 2018; Benamrouche et al., 2021; Zerrouki et al., 2021; Cherak et al., 2022). D'autres variants de résistance aux glycopeptides chez *Enterococcus* ont été détectés en Algérie, il s'agit de *vanC1* qui a été identifiés deux fois en Algérie dans une étude réalisés au 3 CHU de l'est algérien CHU Annaba, CHU Guelma et CHU El-Kala (**Bourafa et al., 2016**) et dans une étude réalisée au CHU de Tlemcen en 2021 (**Zerrouki et al., 2021**). Des autres variant ont été également détectés *vanC2*, *vanC3* et *vanB* au CHU de Tlemcen et *vanC4* aux CHU Annaba, CHU Guelma et CHU El-Kala (**Bourafa et al., 2016; Zerrouki et al., 2021**).

Les gènes *vanA* et *vanB* ont été également détectés dans plusieurs pays du monde dont la majorité de souches d'*E faecium* résistants à la vancomycine (VREfm). *vanA* a été détecté aux États-Unis, en Europe, au Corée, en Amérique du Sud et en Afrique, tandis que, le gène *vanB* a été signalé dans les épidémies des VREfm en Australie et à Singapour (**Talaga-Ćwiertnia et Bulanda, 2018**). Pour le gène *ermB* a été également détectés dans plusieurs région du monde. il a été trouvé en Tunisie (**Dziri et al., 2019**), en Égypte (**Kishk et al., 2020**) et à Bangladesh (**Sarjana Safain et al., 2021**).

L'étude de typage moléculaire des souches multirésistance a révélé la détection de plusieurs clones avec la dominance de complexe clonale (CC17) dans la plupart des études étudiés (**Djahmi et al., 2012; Bourafa et al., 2016; Benammar et al., 2018; Benamrouche et al., 2021; Cherak et al., 2022**). Le complexe clonale CC17 est un clone de haut risque épidémique détecté également en Tunisie (**Dziri et al., 2019**), en Chine (**Yang et al., 2015**), en France (**Bourdon et al., 2011**).

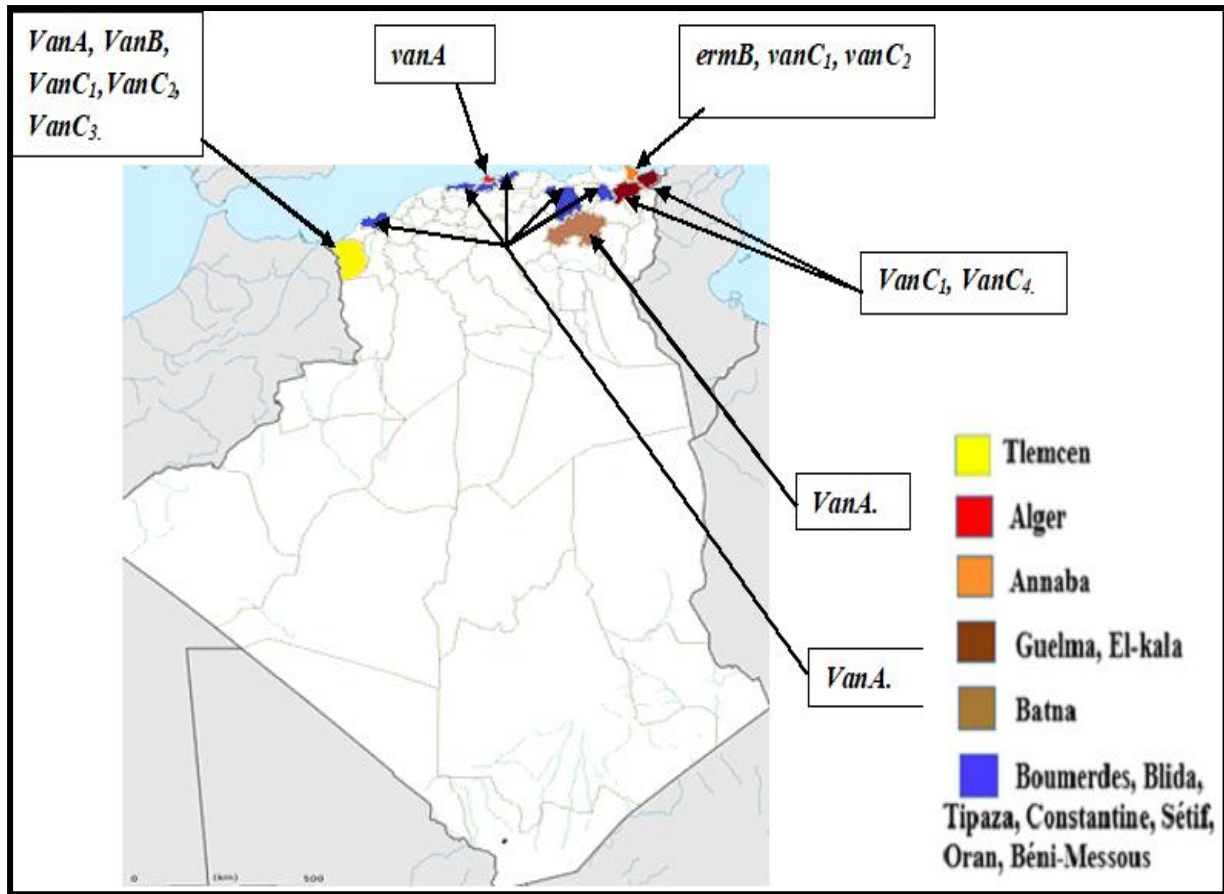


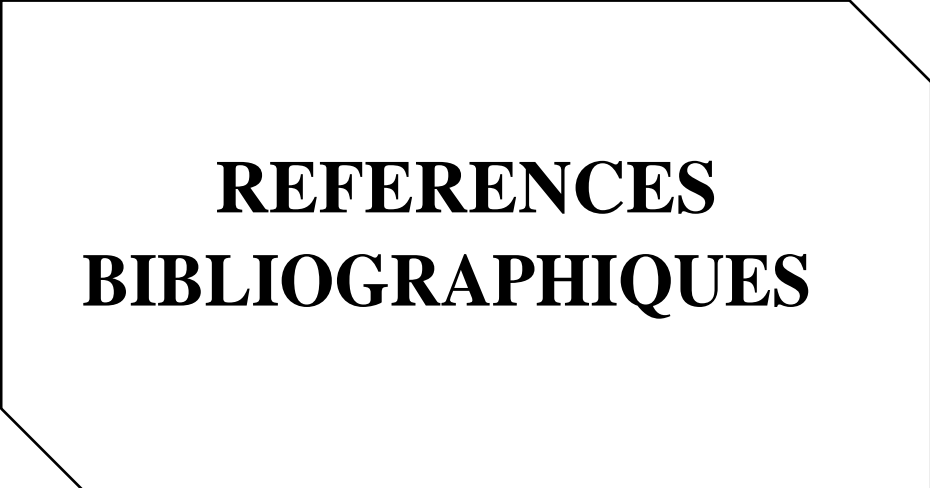
Figure 26. Carte d'Algérie montrant la localisation géographique des gènes de résistance aux antibiotiques chez *Enterococcus*.

CONCLUSION

Les résultats des articles étudiés montrent que les Entérocoques montrent des taux de résistance élevés aux β -lactamines, l'érythromycine, la gentamycine et aux glycopeptides. Cependant, les espèces du genre *Enterococcus* dans les hôpitaux algérien restent sensibles au linézolide, ce qui est indispensables pour le traitement des infections nosocomiales sévères à ces espèces résistantes. Ces études ont rapporté aussi la détection de plusieurs gènes de résistance aux antibiotiques chez les espèces d'*Enterococcus* dans les hôpitaux algériens et les eaux usées hospitaliers. Il s'agit de gènes de résistance aux glycopeptides (*vanA*, *vanB*, *vanC1* et *vanC2/C3*), et à l'érythromycine (*erm(B)*).

De ce fait Nous réalisons, que les antibiotiques perdent leur efficacité au fil du temps à cause des bactéries qui développent des résistances à diverses familles d'antibiotiques a force d'être fréquemment en contact avec ces molécules.

pour cela, il est recommandé de prévenir la sélection et la diffusion de ces bactéries multirésistantes par l'utilisation raisonnable de l'antibiothérapie, la surveillance et contrôle de la diffusion des *Enterococcus* résistants à la vancomycine dans les hôpitaux et les services, la surveillance continue pour détecter la résistance aux nouveaux antibiotiques et aux désinfectants tout en donnant plus d'importance aux études concernant le développement de nouvelles molécules à effet antibactérien-t-elle que les huiles essentielles et les métabolites secondaires en générale produits par les végétaux, ou par le développement des alternatives antibactériennes tel que La phagothérapie (Farha *et al.*, 2020; Lin *et al.*, 2017).



**REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

Références bibliographiques

- Aggoune, N., CHABANI, A., TIOUIT, D., NAIM, M., & RAHAL, K. (2008). Premier cas d'Enterococcusfaecalis résistant à la vancomycine en Algérie. *Premier cas d'Enterococcusfaecalis résistant à la vancomycine en Algérie*, 38(10), 557- 558.
- Aguilar-Galvez, A., Dubois-Dauphin, R., Destain, J., Campos, D., & Thonart, P. (2012). Les entérocoques : Avantages et inconvénients en biotechnologie (synthèse bibliographique). *BASE*. <https://popups.uliege.be/1780-4507/index.php?id=8423>
- Ahmadpoor, N., Ahmadrajabi, R., Esfahani, S., Hojabri, Z., Moshafi, M. H., & Saffari, F. (2021). High-Level Resistance to Erythromycin and Tetracycline and Dissemination of Resistance Determinants among Clinical Enterococci in Iran. *Medical Principles and Practice: International Journal of the Kuwait University, Health Science Centre*, 30(3), 272- 276. <https://doi.org/10.1159/000516216>
- 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. <https://doi.org/10.1089/mdr.2017.0147>
- Andriole, V. T. (2000). *The Quinolones*. Elsevier.
- Appelbaum, P. C., & Hunter, P. A. (2000). The fluoroquinolone antibacterials : Past, present and future perspectives. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 16(1), 5- 15. [https://doi.org/10.1016/S0924-8579\(00\)00192-8](https://doi.org/10.1016/S0924-8579(00)00192-8)
- Arias, C. A., & Murray, B. E. (2012). The rise of the Enterococcus : Beyond vancomycin resistance. *Nature Reviews Microbiology*, 10(4), 266- 278. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2761>
- Aslam, B., Wang, W., Arshad, M. I., Khurshid, M., Muzammil, S., Rasool, M. H., Nisar, M. A., Alvi, R. F., Aslam, M. A., Qamar, M. U., Salamat, M. K. F., & Baloch, Z. (2018). Antibiotic resistance : A rundown of a global crisis. *Infection and Drug Resistance, Volume 11*, 1645- 1658. <https://doi.org/10.2147/IDR.S173867>
- Asseray, N., Jacqueline, C., Le Mabecque, V., Batard, E., Bugnon, D., Potel, G., & Caillon, J. (2005). Activity of Glycopeptides against Staphylococcus aureus Infection in a Rabbit Endocarditis Model : MICs Do Not Predict In Vivo Efficacy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49(2), 857- 859. <https://doi.org/10.1128/AAC.49.2.857-859.2005>
- Ball, P. (2000). Quinolone generations : Natural history or natural selection? *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 46(suppl_3), 17- 24. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jac.a020889>
- Barna, J. C. J., & Williams, D. H. (1984). The Structure and Mode of Action of Glycopeptide Antibiotics of the Vancomycin Group. *Annual Review of Microbiology*, 38(1), 339- 357. <https://doi.org/10.1146/annurev.mi.38.100184.002011>
- Batt, C. A., & Tortorello, M. L. (Éds.). (2014). *Encyclopedia of food microbiology* (Second edition). Academic Press.
- Beargie, R., Lynd, P., Tucker, E., & Duhring, J. (1975). Perinatal infection and vaginal flora. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 122(1), 31- 33. [https://doi.org/10.1016/0002-9378\(75\)90611-0](https://doi.org/10.1016/0002-9378(75)90611-0)
- Benammar, S., Pantel, A., Aujoulat, F., Benmehidi, M., Courcol, R., Lavigne, J.-P., Romano-Bertrand, S., & Marchandin, H. (2018). First molecular characterization of related cases of healthcare-associated infections involving multidrug-resistant Enterococcus

Références bibliographiques

- faecium vanA in Algeria. *Infection and Drug Resistance*, Volume 11, 1483- 1490. <https://doi.org/10.2147/IDR.S164487>
- Benamrouche, N., Guettou, B., Henniche, F. Z., Assaous, F., Laouar, H., Ziane, H., Djennane, F., Tiouit, D., Bentchouala, C., Yamouni, F., Rahal, K., & Tali Maamar, H. (2021). Vancomycin-resistant Enterococcus faecium in Algeria : Phenotypic and genotypic characterization of clinical isolates. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 15(01), 95- 101. <https://doi.org/10.3855/jidc.12482>
- Bender, J. K., Cattoir, V., Hegstad, K., Sadowy, E., Coque, T. M., Westh, H., Hammerum, A. M., Schaffer, K., Burns, K., Murchan, S., Novais, C., Freitas, A. R., Peixe, L., Del Grosso, M., Pantosti, A., & Werner, G. (2018). Update on prevalence and mechanisms of resistance to linezolid, tigecycline and daptomycin in enterococci in Europe : Towards a common nomenclature. *Drug Resistance Updates: Reviews and Commentaries in Antimicrobial and Anticancer Chemotherapy*, 40, 25- 39. <https://doi.org/10.1016/j.drup.2018.10.002>
- Bertholom, C. (2021). Épidémiologie des complications bactériennes post-Covid : Place des céphalosporines de cinquième génération. *Option/Bio*, 32(629- 630), 22- 23. [https://doi.org/10.1016/S0992-5945\(21\)00049-0](https://doi.org/10.1016/S0992-5945(21)00049-0)
- Bevilacqua, S., Demoré, B., Boschetti, E., Doco-Lecompte, T., May, I., May, T., Rabaud, C., & Thilly, N. (2011). 15 years of antibiotic stewardship policy in the Nancy Teaching Hospital. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 41(10), 532- 539. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2011.08.001>
- Bi, R., Qin, T., Fan, W., Ma, P., & Gu, B. (2018). The emerging problem of linezolid-resistant enterococci. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 13, 11- 19. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2017.10.018>
- Biswas, S., & Rolain, J.-M. (2013). Use of MALDI-TOF mass spectrometry for identification of bacteria that are difficult to culture. *Journal of Microbiological Methods*, 92(1), 14- 24. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2012.10.014>
- Bottone, E. J. (1999). Encapsulated Enterococcus faecalis : Role of encapsulation in persistence in mouse peritoneum in absence of mouse lethality. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 33(1), 65- 68. [https://doi.org/10.1016/s0732-8893\(98\)00125-4](https://doi.org/10.1016/s0732-8893(98)00125-4)
- Bourafa, N., Abat, C., Loucif, L., Olaitan, A. O., Bentorki, A. A., Boutefnouchet, N., & Rolain, J.-M. (2016). Identification of vancomycin-susceptible major clones of clinical Enterococcus from Algeria. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 6, 78- 83. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2016.03.009>
- Bourdon, N., Fines-Guyon, M., Thiolet, J.-M., Maugat, S., Coignard, B., Leclercq, R., & Cattoir, V. (2011). Changing trends in vancomycin-resistant enterococci in French hospitals, 2001-08. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 66(4), 713- 721. <https://doi.org/10.1093/jac/dkq524>
- Bourgeois-Nicolaos, N., & Doucet-Populaire, F. (2010). Oxazolidinones. *EMC - Maladies infectieuses*, 7(2), 1- 13. [https://doi.org/10.1016/S1166-8598\(10\)53772-4](https://doi.org/10.1016/S1166-8598(10)53772-4)
- Bush, K., & Bradford, P. A. (2016). β -Lactams and β -Lactamase Inhibitors : An Overview. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 6(8), a025247. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025247>

Références bibliographiques

- Butler, M. S., & Cooper, M. A. (2011). Antibiotics in the clinical pipeline in 2011. *The Journal of Antibiotics*, 64(6), 413- 425. <https://doi.org/10.1038/ja.2011.44>
- Butler, M. S., Hansford, K. A., Blaskovich, M. A. T., Halai, R., & Cooper, M. A. (2014). Glycopeptide antibiotics : Back to the future. *The Journal of Antibiotics*, 67(9), 631- 644. <https://doi.org/10.1038/ja.2014.111>
- Byappanahalli, M. N., Nevers, M. B., Korajkic, A., Staley, Z. R., & Harwood, V. J. (2012). Enterococci in the Environment. *Microbiology and Molecular Biology Reviews : MMBR*, 76(4), 685- 706. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00023-12>
- Capelo-Martínez, J.-L., & Igrejas, G. (Éds.). (2020a). *Antibiotic drug resistance* (First edition). Wiley.
- Capelo-Martínez, J.-L., & Igrejas, G. (Éds.). (2020b). *Antibiotic drug resistance* (First edition). Wiley.
- Cattoir, V. (2012). Quinolones : De l'antibiogramme aux phénotypes de résistance. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 2012(445), 79- 87. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(12\)71679-9](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(12)71679-9)
- Cattoir, V., & Giard, J.-C. (2014). Antibiotic resistance in *Enterococcus faecium* clinical isolates. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 12(2), 239- 248. <https://doi.org/10.1586/14787210.2014.870886>
- Cattoir, V., & Leclercq, R. (2010). Les entérocoques résistants aux glycopeptides. *médecine/sciences*, 26(11), 936- 942. <https://doi.org/10.1051/medsci/20102611936>
- Cattoir, V., & Leclercq, R. (2013). Twenty-five years of shared life with vancomycin-resistant enterococci : Is it time to divorce? *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 68(4), 731- 742. <https://doi.org/10.1093/jac/dks469>
- Cavallo, J.-D., Fabre, R., Jehl, F., Rapp, C., & Garrabé, E. (2004). Bêtalactamines. *EMC - Maladies Infectieuses*, 1(3), 129- 202. <https://doi.org/10.1016/j.emcmi.2004.03.003>
- Celiberto, L. S., Bedani, R., Dejana, N. N., Medeiros, A. I. de, Zuanon, J. A. S., Spolidorio, L. C., Adorno, M. A. T., Varesche, M. B. A., Galvão, F. C., Valentini, S. R., Valdez, G. F. de, Rossi, E. A., & Cavallini, D. C. U. (2017). Effect of a probiotic beverage consumption (*Enterococcus faecium* CRL 183 and *Bifidobacterium longum* ATCC 15707) in rats with chemically induced colitis. *PLOS ONE*, 12(4), e0175935. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175935>
- Charles, P.-E., Dargent, A., & Andreu, P. (2017). Nouvelles molécules anti-infectieuses. Quelle place en médecine intensive réanimation pour le tédizolide, la ceftaroline et le ceftobiprole ? *Médecine Intensive Réanimation*. <https://doi.org/10.1007/s13546-017-1271-2>
- Cherak, Z., Bendjama, E., Moussi, A., Benbouza, A., Grainat, N., Rolain, J.-M., & Loucif, L. (2022). First detection of vanA positive *Enterococcus faecium* clonal complex 17 in hospital wastewater in Algeria : An epidemiological report. *New Microbes and New Infections*, 47, 100977. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2022.100977>
- Chopra, I., & Roberts, M. (2001). Tetracycline Antibiotics : Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 65(2), 232- 260. <https://doi.org/10.1128/MMBR.65.2.232-260.2001>

Références bibliographiques

- Clancy, J., Petitpas, J., Dib-Hajj, F., Yuan, W., Cronan, M., Kamath, A. V., Bergeron, J., & Retsema, J. A. (1996). Molecular cloning and functional analysis of a novel macrolide-resistance determinant, *mefA*, from *Streptococcus pyogenes*. *Molecular Microbiology*, 22(5), 867- 879. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1996.01521.x>
- Croxatto, A., Prod'hom, G., & Greub, G. (2012). Applications of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology. *FEMS Microbiology Reviews*, 36(2), 380- 407. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00298.x>
- Djahmi, N., Boutet-Dubois, A., Nedjai, S., Dekhil, M., Sotto, A., & Lavigne, J.-P. (2012). Molecular epidemiology of *Enterococcus* sp. Isolated in a university hospital in Algeria. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 44(9), 656- 662. <https://doi.org/10.3109/00365548.2012.673232>
- Drlica, K., Malik, M., Kerns, R. J., & Zhao, X. (2008). Quinolone-Mediated Bacterial Death. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 52(2), 385- 392. <https://doi.org/10.1128/AAC.01617-06>
- Duval, J., & Soussy, C. J. (1990). *Antibiothérapie*, 4 ème éd. Paris.-Ed. Masson.-39 p.
- Dziri, R., El Kara, F., Barguellig, F., Ouzari, H.-I., El Asli, M. S., & Klibi, N. (2019). Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium* in Tunisia : Emergence of Novel Clones. *Microbial Drug Resistance (Larchmont, N.Y.)*, 25(4), 469- 474. <https://doi.org/10.1089/mdr.2018.0158>
- Echeverría-Esnal, D., Sorli, L., Prim, N., Martin-Ontiyuelo, C., Horcajada, J. P., & Grau, S. (2021). Daptomycin versus Glycopeptides for the Treatment of *Enterococcus faecium* Bacteraemia : A Cohort Study. *Antibiotics*, 10(6), 716. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10060716>
- Facklam, R., & Elliott, J. A. (1995). Identification, classification, and clinical relevance of catalase-negative, gram-positive cocci, excluding the streptococci and enterococci. *Clinical Microbiology Reviews*, 8(4), 479- 495. <https://doi.org/10.1128/CMR.8.4.479>
- Facklam, R. R., Carvalho, M. da G. S., & Teixeira, L. M. (2014). History, Taxonomy, Biochemical Characteristics, and Antibiotic Susceptibility Testing of Enterococci. In M. S. Gilmore, D. B. Clewell, P. Courvalin, G. M. Dunny, B. E. Murray, & L. B. Rice (Éds.), *The Enterococci* (p. 1- 54). ASM Press. <https://doi.org/10.1128/9781555817923.ch1>
- Farha, A. K., Yang, Q.-Q., Kim, G., Li, H.-B., Zhu, F., Liu, H.-Y., Gan, R.-Y., & Corke, H. (2020). Tannins as an alternative to antibiotics. *Food Bioscience*, 38, 100751. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100751>
- Ferrero, L., Cameron, B., Manse, B., Lagneaux, D., Crouzet, J., Famechon, A., & Blanche, F. (1994). Cloning and primary structure of *Staphylococcus aureus* DNA topoisomerase IV : A primary target of fluoroquinolones. *Molecular Microbiology*, 13(4), 641- 653. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.1994.tb00458.x>
- Figueroa, C. J., Tang, Y.-W., & Taur, Y. (2015). Principles and Applications of Genomic Diagnostic Techniques. In *Molecular Medical Microbiology* (p. 381- 397). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397169-2.00022-6>
- Fiore, E., Van Tyne, D., & Gilmore, M. S. (2019). Pathogenicity of Enterococci. *Microbiology Spectrum*, 7(4). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0053-2018>

Références bibliographiques

- Fisher, K., & Phillips, C. (2009). The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. *Microbiology (Reading, England)*, 155(Pt 6), 1749- 1757. <https://doi.org/10.1099/mic.0.026385-0>
- FLAHAUT, (S.), FLAHAUT (S.), BOUTIBONNES (P.), & AUFRAY (Y.). (1997). Les entérocoques dans l'environnement proche de l'homme. *Les entérocoques dans l'environnement proche de l'homme*.
- Fontana, R., Bertoloni, G., Amalfitano, G., & Canepari, P. (1984). Characterization of penicillin-resistant *Streptococcus faecium* mutants. *FEMS Microbiology Letters*, 25(1), 21- 25.
- Foti, C., Piperno, A., Scala, A., & Giuffrè, O. (2021). Oxazolidinone Antibiotics : Chemical, Biological and Analytical Aspects. *Molecules*, 26(14), 4280. <https://doi.org/10.3390/molecules26144280>
- Foulquié Moreno, M. R., Sarantinopoulos, P., Tsakalidou, E., & De Vuyst, L. (2006). The role and application of enterococci in food and health. *International Journal of Food Microbiology*, 106(1), 1- 24. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.06.026>
- Franz, C. M., Holzapfel, W. H., & Stiles, M. E. (1999). Enterococci at the crossroads of food safety? *International Journal of Food Microbiology*, 47(1- 2), 1- 24. [https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(99\)00007-0](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(99)00007-0)
- Gastmeier, P., Schröder, C., Behnke, M., Meyer, E., & Geffers, C. (2014). Dramatic increase in vancomycin-resistant enterococci in Germany. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 69(6), 1660- 1664. <https://doi.org/10.1093/jac/dku035>
- Gaudy Catherine & Buxeraud Jacques. (2005). *Antibiotiques : Pharmacologie et thérapeutique / coordinateurs Catherine Gaudy, Jacques Buxeraud ; [préface Laurent Mereghetti]*. Elsevier.
- Gawryszewska, I., Żabicka, D., Bojarska, K., Malinowska, K., Hryniewicz, W., & Sadowy, E. (2016). Invasive enterococcal infections in Poland: The current epidemiological situation. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 35(5), 847- 856. <https://doi.org/10.1007/s10096-016-2607-y>
- Gellert, M., Mizuuchi, K., O'Dea, M. H., & Nash, H. A. (1976). DNA gyrase : An enzyme that introduces superhelical turns into DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 73(11), 3872- 3876. <https://doi.org/10.1073/pnas.73.11.3872>
- Hamidi, M., Ammari, H., Ghaffor, M., Benamrouche, N., Tali-Maamar, H., Tala-Khir, F., Younsi, M., & Rahal, K. (2013). Emergence of glycopeptide resistant *Enterococcus faecium* in Algeria : A case report. *Annales de biologie clinique*, 71(1), 104- 106. <https://doi.org/10.1684/abc.2012.0781>
- Hijazi, K. (2019). *Résistance microbienne : À l'hôpital, les désinfectants devraient être aussi contrôlés que les antibiotiques*. <https://abdn.pure.elsevier.com/en/publications/microbial-resistance-in-the-hospital-disinfectants-should-be-as-c>
- Hollenbeck, B. L., & Rice, L. B. (2012). Intrinsic and acquired resistance mechanisms in enterococcus. *Virulence*, 3(5), 421- 569. <https://doi.org/10.4161/viru.21282>
- Hooper, D. C. (2001). Emerging mechanisms of fluoroquinolone resistance. *Emerging Infectious Diseases*, 7(2), 337- 341.

Références bibliographiques

- Hooper, D. C. (2014). Mechanisms of Quinolone Resistance. In D. C. Hooper & E. Rubinstein (Éds.), *Quinolone Antimicrobial Agents* (p. 41- 67). ASM Press. <https://doi.org/10.1128/9781555817817.ch3>
- Hooper, D. C., & Jacoby, G. A. (2015). Mechanisms of drug resistance : Quinolone resistance: Mechanisms of quinolone resistance. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1354(1), 12- 31. <https://doi.org/10.1111/nyas.12830>
- Hufnagel, M., Hancock, L. E., Koch, S., Theilacker, C., Gilmore, M. S., & Huebner, J. (2004). Serological and Genetic Diversity of Capsular Polysaccharides in *Enterococcus faecalis*. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(6), 2548- 2557. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.6.2548-2557.2004>
- Id, H. (1989). *Prise en charge d'une épidémie d'entérocoques résistants aux glycopeptides*. 96.
- Isnard, C. (2017). *Enterococcus spp. : Entre pathogènes opportunistes et probiotiques* [PhD Thesis]. Normandie.
- Jensen, T. G., Konradsen, H. B., & Bruun, B. (1999). Evaluation of the Rapid ID 32 Strep system. *Clinical Microbiology and Infection*, 5(7), 417- 423. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.1999.tb00165.x>
- Jett, B. D., Huycke, M. M., & Gilmore, M. S. (1994). Virulence of enterococci. *Clinical Microbiology Reviews*, 7(4), 462- 478. <https://doi.org/10.1128/CMR.7.4.462>
- Jolyguillou, M. (2006). Intérêt du E-test dans le suivi de l'antibiothérapie. *Réanimation*, 15(3), 237- 240. <https://doi.org/10.1016/j.reaurg.2006.02.003>
- Jung, D., Powers, J. P., Straus, S. K., & Hancock, R. E. W. (2008). Lipid-specific binding of the calcium-dependent antibiotic daptomycin leads to changes in lipid polymorphism of model membranes. *Chemistry and Physics of Lipids*, 154(2), 120- 128. <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2008.04.004>
- Kayser, F. H. (2003). Safety aspects of enterococci from the medical point of view. *International Journal of Food Microbiology*, 88(2- 3), 255- 262. [https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(03\)00188-0](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(03)00188-0)
- Kehrenberg, C., Schwarz, S., Jacobsen, L., Hansen, L. H., & Vester, B. (2005). A new mechanism for chloramphenicol, florfenicol and clindamycin resistance : Methylation of 23S ribosomal RNA at A2503. *Molecular Microbiology*, 57(4), 1064- 1073. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2005.04754.x>
- Kiruthiga, A., & Padmavathy, K. (2020). *Mechanisms of Intrinsic Antibiotic Resistance in Enterococci Alexander Kiruthiga1,2, Kesavaram Padmavathy1**. Docslib. <https://docslib.org/doc/740115/mechanisms-of-intrinsic-antibiotic-resistance-in-enterococci-alexander-kiruthiga1-2-kesavaram-padmavathy1>
- Kishk, R. M., Anani, M. M., Nemr, N. A., Soliman, N. M., & Fouad, M. M. (2020). Inducible clindamycin resistance in clinical isolates of staphylococcus aureus in Suez Canal University Hospital, Ismailia, Egypt. *Journal of Infection in Developing Countries*, 14(11), 1281- 1287. <https://doi.org/10.3855/jidc.12250>
- Klein, J.-P., & Gorsy, T. (2014). Vérification des performances d'une méthode : L'étude de la sensibilité aux antibiotiques par la technique des E-test®. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2014(461), 47- 58. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(14\)72445-1](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(14)72445-1)

Références bibliographiques

- Kristich, C. J., & Little, J. L. (2012). Mutations in the β subunit of RNA polymerase alter intrinsic cephalosporin resistance in Enterococci. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 56(4), 2022- 2027. <https://doi.org/10.1128/AAC.06077-11>
- Kristich, C. J., Rice, L. B., & Arias, C. A. (2014). Enterococcal Infection—Treatment and Antibiotic Resistance. In M. S. Gilmore, D. B. Clewell, Y. Ike, & N. Shankar (Éds.), *Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection*. Massachusetts Eye and Ear Infirmary. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK190420/>
- Lancefield, R. C. (1933). A SEROLOGICAL DIFFERENTIATION OF HUMAN AND OTHER GROUPS OF HEMOLYTIC STREPTOCOCCI. *The Journal of Experimental Medicine*, 57(4), 571- 595.
- Landecker, H. (2021). La résistance aux antibiotiques et la biologie de l'Histoire (L. Blackman, Trad.). *Revue d'anthropologie des connaissances*, 15(3), Article 3. <https://journals.openedition.org/rac/22123>
- Leavis, H., Top, J., Shankar, N., Borgen, K., Bonten, M., van Embden, J., & Willems, R. J. L. (2004). A Novel Putative Enterococcal Pathogenicity Island Linked to the esp Virulence Gene of Enterococcus faecium and Associated with Epidemicity. *Journal of Bacteriology*, 186(3), 672- 682. <https://doi.org/10.1128/JB.186.3.672-682.2004>
- Leblanc, D. J. (2006). Enterococcus. In M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K.-H. Schleifer, & E. Stackebrandt (Éds.), *The Prokaryotes: Volume 4: Bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria* (p. 175- 204). Springer US. https://doi.org/10.1007/0-387-30744-3_6
- Leclercq, R. (1997). Enterococci Acquire New Kinds of Resistance. *Clinical Infectious Diseases*, 24(Supplement_1), S80- S84. https://doi.org/10.1093/clinids/24.Supplement_1.S80
- Leclercq, R. (2002). Mechanisms of Resistance to Macrolides and Lincosamides: Nature of the Resistance Elements and Their Clinical Implications. *Clinical Infectious Diseases*, 34(4), 482- 492. <https://doi.org/10.1086/324626>
- Leclercq, R., & Cattoir, V. (2012). Bactéries à Gram positif et glycopeptides. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 445(2012), 41- 46. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(12\)71675-1](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(12)71675-1)
- Lee, T., Pang, S., Abraham, S., & Coombs, G. W. (2019). Antimicrobial-resistant CC17 Enterococcus faecium: The past, the present and the future. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 16, 36- 47. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2018.08.016>
- Levy, S. B., & Marshall, B. (2004). Antibacterial resistance worldwide: Causes, challenges and responses. *Nature Medicine*, 10(12), S122- S129. <https://doi.org/10.1038/nm1145>
- Lin, D. M., Koskella, B., & Lin, H. C. (2017). Phage therapy: An alternative to antibiotics in the age of multi-drug resistance. *World Journal of Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics*, 8(3), 162- 173. <https://doi.org/10.4292/wjgpt.v8.i3.162>
- Long, K. S., Poehlsgaard, J., Kehrenberg, C., Schwarz, S., & Vester, B. (2006). The Cfr rRNA methyltransferase confers resistance to Phenicol, Lincosamides, Oxazolidinones, Pleuromutilins, and Streptogramin A antibiotics. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50(7), 2500- 2505. <https://doi.org/10.1128/AAC.00131-06>

Références bibliographiques

- Magill, S. S., Edwards, J. R., Bamberg, W., Beldavs, Z. G., Dumyati, G., Kainer, M. A., Lynfield, R., Maloney, M., McAllister-Hollod, L., Nadle, J., Ray, S. M., Thompson, D. L., Wilson, L. E., & Fridkin, S. K. (2014). Multistate Point-Prevalence Survey of Health Care–Associated Infections. *New England Journal of Medicine*, 370(13), 1198- 1208. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1306801>
- Maiden, M. C., Bygraves, J. A., Feil, E., Morelli, G., Russell, J. E., Urwin, R., Zhang, Q., Zhou, J., Zurth, K., Caugant, D. A., Feavers, I. M., Achtman, M., & Spratt, B. G. (1998). Multilocus sequence typing : A portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(6), 3140- 3145. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.6.3140>
- Maiden, M. C. J. (2006). Multilocus Sequence Typing of Bacteria. *Annual Review of Microbiology*, 60(1), 561- 588. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.59.030804.121325>
- Martinez-Murcia, A. J., & Collins, M. D. (1991). Enterococcus sulfureus, a new yellow-pigmented Enterococcus species. *FEMS Microbiology Letters*, 80(1), 69- 73. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1991.tb04638.x>
- Menu, E. (2019). *Née le 4 Février 1992 à Quimperlé*. 110.
- 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. <https://doi.org/10.1586/14787210.2014.956092>
- Min, Y.-H., Jeong, J.-H., Choi, Y.-J., Yun, H.-J., Lee, K., Shim, M.-J., Kwak, J.-H., & Choi, E.-C. (2003). Heterogeneity of Macrolide-Lincosamide-Streptogramin B Resistance Phenotypes in Enterococci. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47(11), 3415- 3420. <https://doi.org/10.1128/AAC.47.11.3415-3420.2003>
- Moellering, R. C. (1992). Emergence of Enterococcus as a significant pathogen. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 14(6), 1173- 1176. <https://doi.org/10.1093/clinids/14.6.1173>
- Monnet, D. L., Hemborg, H. D., Andersen, S. R., Scholler, C., Sorensen, T. L., & Bager, F. (2000). Surveillance of antimicrobial resistance in Denmark. *Euro Surveillance: Bulletin Europeen Sur Les Maladies Transmissibles = European Communicable Disease Bulletin*, 5(12), 129- 132. <https://doi.org/10.2807/esm.05.12.00021-en>
- Monstein, H.-J., Quednau, M., Samuelsson, A., Ahrné, S., Isaksson, B., & Jonasson, J. (1998). Division of the genus Enterococcus into species groups using PCR-based molecular typing method. *Microbiology (Reading, England)*, 144 (Pt 5), 1171- 1179. <https://doi.org/10.1099/00221287-144-5-1171>
- Murray, B. E. (1990). The life and times of the Enterococcus. *Clinical Microbiology Reviews*, 3(1), 46- 65. <https://doi.org/10.1128/CMR.3.1.46>
- Murray, B. E. (1992). Beta-lactamase-producing enterococci. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 36(11), 2355- 2359. <https://doi.org/10.1128/AAC.36.11.2355>
- Nagarajan, R. (1991). Antibacterial activities and modes of action of vancomycin and related glycopeptides. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 35(4), 605- 609. <https://doi.org/10.1128/AAC.35.4.605>

Références bibliographiques

- Nelly, B., & Anthony, T. (2003). *DES bactériologie – Semestre été 2003 Exposé du 20 juin 2003*. 29.
- Patel, S. N., Memari, N., Shahinas, D., Toyé, B., Jamieson, F. B., & Farrell, D. J. (2013). Linezolid resistance in *Enterococcus faecium* isolated in Ontario, Canada. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 77(4), 350- 353. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2013.08.012>
- Philippon, A. (2008). Résistance bactérienne : Définitions, mécanismes, évolution. *EMC - Maladies infectieuses*, 5(3), 1- 13. [https://doi.org/10.1016/S1166-8598\(08\)26016-3](https://doi.org/10.1016/S1166-8598(08)26016-3)
- Pinkston, K. L., Singh, K. V., Gao, P., Wilganowski, N., Robinson, H., Ghosh, S., Azhdarinia, A., Sevick-Muraca, E. M., Murray, B. E., & Harvey, B. R. (2014). Targeting Pili in Enterococcal Pathogenesis. *Infection and Immunity*, 82(4), 1540- 1547. <https://doi.org/10.1128/IAI.01403-13>
- Portenier, I., Waltimo, T. M. T., & Haapasalo, M. (2003). *Enterococcus faecalis*– the root canal survivor and ‘star’ in post-treatment disease. *Endodontic Topics*, 6(1), 135- 159. <https://doi.org/10.1111/j.1601-1546.2003.00040.x>
- Prescott, L. M., Harley, J. P., Klein, D. A., Gamazo de la Rasilla, C., & Uzcudum, I. L. (2011). *Microbiolog??a*. <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&scope=site&db=nlebk&db=nlabk&AN=866953>
- Quincampoix, J. C., & Mainardi, J. L. (2001). *Mécanismes de résistance des cocci à Gram positif*. 9.
- Reissier, S. (2016). Daptomycine et infections sévères à entérocoques. *Journal des Anti-infectieux*, 18(4), 177- 181. <https://doi.org/10.1016/j.antinf.2016.09.002>
- Revest, M. (2011). *Daptomycine : Quelle utilisation ?* 6.
- Reynolds, P. E. (1989). Structure, biochemistry and mechanism of action of glycopeptide antibiotics. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 8(11), 943- 950. <https://doi.org/10.1007/BF01967563>
- Rice, L. B., Lakticová, V., Carias, L. L., Rudin, S., Hutton, R., & Marshall, S. H. (2009). Transferable capacity for gastrointestinal colonization in *Enterococcus faecium* in a mouse model. *The Journal of Infectious Diseases*, 199(3), 342- 349. <https://doi.org/10.1086/595986>
- Roberts, M. C., Sutcliffe, J., Courvalin, P., Jensen, L. B., Rood, J., & Seppala, H. (1999). Nomenclature for Macrolide and Macrolide-Lincosamide-Streptogramin B Resistance Determinants. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 43(12), 2823- 2830. <https://doi.org/10.1128/AAC.43.12.2823>
- Ruppé, E. (2010). Épidémiologie des bêta-lactamases à spectre élargi : L’avènement des CTX-M. *Antibiotiques*, 12(1), 3- 16. <https://doi.org/10.1016/j.antib.2010.01.003>
- Saadaoui, M. (2008). *La fréquence des bactéries multi résistante a l’hôpital Hassan ii de Settat* [Thesis]. <http://ao.um5.ac.ma/xmlui/handle/123456789/14715>
- Sabença, C., Sousa, T. de, Oliveira, S., Viala, D., Théron, L., Chambon, C., Hébraud, M., Beyrouthy, R., Bonnet, R., Caniça, M., Poeta, P., & Igrejas, G. (2020). Next-Generation Sequencing and MALDI Mass Spectrometry in the Study of Multiresistant Processed Meat Vancomycin-Resistant Enterococci (VRE). *Biology*, 9(5), E89. <https://doi.org/10.3390/biology9050089>

Références bibliographiques

- Sanlibaba, P. (2018). *Antibiotic Resistance and Virulence Factors of Enterococci* (p. 9- 18).
- Sarjana Safain, K., Bhuyan, G. S., Hassan Hasib, S., Islam, M. S., Mahmud-Un-Nabi, M. A., Sultana, R., Tasnim, S., Noor, F. A., Sarker, S. K., Islam, M. T., Rahat, A., Leung, D. T., Domman, D., Manzoor, F., Anwar, S., Majid Bhuiyan, M. A., Chowdhury, E. K., Qadri, S. S., Qadri, F., & Mannoor, K. (2021). Genotypic and phenotypic profiles of antibiotic-resistant bacteria isolated from hospitalised patients in Bangladesh. *Tropical Medicine & International Health: TM & IH*, 26(7), 720- 729. <https://doi.org/10.1111/tmi.13584>
- Schleifer, K. H., & Kilpper-Balz, R. (1984). *Transfer of Streptococcus faecalis and Streptococcus faecium to the Genus Enterococcus norn. Rev. As Enterococcus faecalis comb. Nov. And Enterococcus faecium comb. Nov.* 4.
- Schloissnig, S., Arumugam, M., Sunagawa, S., Mitreva, M., Tap, J., Zhu, A., Waller, A., Mende, D. R., Kultima, J. R., Martin, J., Kota, K., Sunyaev, S. R., Weinstock, G. M., & Bork, P. (2013). Genomic variation landscape of the human gut microbiome. *Nature*, 493(7430), 45- 50. <https://doi.org/10.1038/nature11711>
- Schwartz, D. C., & Cantor, C. R. (1984). Separation of yeast chromosome-sized DNAs by pulsed field gradient gel electrophoresis. *Cell*, 37(1), 67- 75. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(84\)90301-5](https://doi.org/10.1016/0092-8674(84)90301-5)
- Sherman, J. M. (1937). THE STREPTOCOCCI. *Bacteriological Reviews*, 1(1), 3- 97.
- Shrestha, S., Kharel, S., Homagain, S., Aryal, R., & Mishra, S. K. (2021). Prevalence of vancomycin-resistant enterococci in Asia-A systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 46(5), 1226- 1237. <https://doi.org/10.1111/jcpt.13383>
- Soude, S. G. A. A., Sanogo, M., & Diallo, G. (2005). *Professeur Sévérin Yèhouenou ANAGONOU*. 138.
- Soussy, C. J. (2006). Quinolones et bactéries à Gram négatif. *De BARBEYRAC B*.
- Speranza, E. (2001). *Effet de la 2-pyrrolidone sur les paramètres pharmacocinétiques de l'oxytétracycline administrée par voie intraveineuse chez le mouton [Other]*. <https://oatao.univ-toulouse.fr/237/>
- Stettler, R., & Trampuz, A. (2014). [The « second life » of rifampicin]. *Revue medicale suisse*, 10(422), 670- 672.
- Stiles, M. E., & Holzapfel, W. H. (1997). Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International Journal of Food Microbiology*, 36(1), 1- 29. [https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(96\)01233-0](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(96)01233-0)
- Tacconelli, E. (2017). *Global Priority List of Antibiotic-Resistant Bacteria to Guide Research, Discovery, and Development*. <https://policycommons.net/artifacts/1818147/global-priority-list-of-antibiotic-resistant-bacteria-to-guide-research-discovery-and-development/2555608/>
- Tagliabue, A., & Rappuoli, R. (2018). Changing Priorities in Vaccinology : Antibiotic Resistance Moving to the Top. *Frontiers in Immunology*, 9, 1068. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01068>
- Talaga-Ćwiertnia, K., & Bulanda, M. (2018). Analysis of the world epidemiological situation among vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* infections and the current situation in Poland. *Przegląd Epidemiologiczny*, 72(1), 3- 15.

Références bibliographiques

- Tang, S. S., Apisarnthanarak, A., & Hsu, L. Y. (2014). Mechanisms of β -lactam antimicrobial resistance and epidemiology of major community- and healthcare-associated multidrug-resistant bacteria. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 78, 3- 13. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2014.08.003>
- Tannock, G. W. (2002). Analysis of the intestinal microflora using molecular methods. *European Journal of Clinical Nutrition*, 56(4), S44- S49. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1601661>
- Thiercelin, M. E. (1899). Morphologie et modes de reproduction de l'enterocoque. *Comptes Rendus des Seances de la Societe de Biologie et des ses Filiales*, 11, 551- 553.
- Tran, J. H., Jacoby, G. A., & Hooper, D. C. (2005). Interaction of the plasmid-encoded quinolone resistance protein Qnr with Escherichia coli DNA gyrase. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49(1), 118- 125. <https://doi.org/10.1128/AAC.49.1.118-125.2005>
- Tran, T., Munita, J. M., & Arias, C. A. (2015). Mechanisms of drug resistance : Daptomycin resistance. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1354, 32- 53. <https://doi.org/10.1111/nyas.12948>
- Tsui, W. H. W., Yim, G., Wang, H. H., McClure, J. E., Surette, M. G., & Davies, J. (2004). *Dual Effects of MLS Antibiotics : Transcriptional Modulation and Interactions on the Ribosome*. 10.
- Valenzuela, A. S., Benomar, N., Abriouel, H., Cañamero, M. M., & Gálvez, A. (2010). Isolation and identification of Enterococcus faecium from seafoods : Antimicrobial resistance and production of bacteriocin-like substances. *Food Microbiology*, 27(7), 955- 961. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.05.033>
- Valenzuela, A. S., Omar, N. B., Abriouel, H., López, R. L., Ortega, E., Cañamero, M. M., & Gálvez, A. (2008). Risk factors in enterococci isolated from foods in Morocco : Determination of antimicrobial resistance and incidence of virulence traits. *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, 46(8), 2648- 2652. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.04.021>
- Van Tyne, D., & Gilmore, M. S. (2014). Friend turned foe : Evolution of enterococcal virulence and antibiotic resistance. *Annual Review of Microbiology*, 68, 337- 356. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-091213-113003>
- Vázquez-Laslop, N., & Mankin, A. S. (2018). How Macrolide Antibiotics Work. *Trends in Biochemical Sciences*, 43(9), 668- 684. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2018.06.011>
- Ventola, C. L. (2015). The antibiotic resistance crisis : Part 1: causes and threats. *P & T: A Peer-Reviewed Journal for Formulary Management*, 40(4), 277- 283.
- Verdier, M. C., Tribut, O., Bentué-Ferrer, D., & Bellissant, E. (2011). *Pharmacologie de la daptomycine*. 5.
- Walsh, C. (2003). Antibiotics : Actions, origins, resistance. *Antibiotics: Actions, Origins, Resistance*. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20043133125>
- Wax, R. G. (Éd.). (2008). *Bacterial resistance to antimicrobials* (2nd ed). CRC Press.
- Wheeler, A. L., Hartel, P. G., Godfrey, D. G., Hill, J. L., & Segars, W. I. (2002). Potential of Enterococcus faecalis as a human fecal indicator for microbial source tracking.

Références bibliographiques

- Journal of Environmental Quality*, 31(4), 1286- 1293.
<https://doi.org/10.2134/jeq2002.1286>
- Wijetunge, D. S., Dunn, P., Wallner-Pendleton, E., Lintner, V., Lu, H., & Kariyawasam, S. (2012). Fingerprinting of poultry isolates of *Enterococcus cecorum* using three molecular typing methods. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 24(6), 1166- 1171. <https://doi.org/10.1177/1040638712463563>
- Willems, R. J. L., & Bonten, M. J. M. (2007). Glycopeptide-resistant enterococci : Deciphering virulence, resistance and epidemicity. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 20(4), 384- 390. <https://doi.org/10.1097/QCO.0b013e32818be63d>
- Yala, D., Merad, A. S., Mohamedi, D., & Korich, M. N. O. (2001). *Classification et mode d'action des antibiotiques*. 8.
- Yang, J., Li, T., Ning, Y., Shao, D., Liu, J., Wang, S., & Liang, G. (2015). Molecular characterization of resistance, virulence and clonality in vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* : A hospital-based study in Beijing, China. *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases*, 33, 253- 260. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2015.05.012>
- Yushchuk, O., Binda, E., & Marinelli, F. (2020). Glycopeptide Antibiotic Resistance Genes : Distribution and Function in the Producer Actinomycetes. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2020.01173>
- Zeng, D., Debatov, D., Hartsell, T. L., Cano, R. J., Adams, S., Schuyler, J. A., McMillan, R., & Pace, J. L. (2016). Approved Glycopeptide Antibacterial Drugs : Mechanism of Action and Resistance. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 6(12), a026989. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a026989>
- Zerrouki, H., Rebiahi, S.-A., Hadjadj, L., Ahlem, F., Elhabiri, Y., Sedrati, T., Rolain, J.-M., & Diene, S. M. (2021). High frequency and diversity of Vancomycin-resistant Enterococci (VRE) in Algerian healthcare settings. *Infection, Genetics and Evolution*, 92, 104889. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2021.104889>

Annexe 1. Première caractérisation moléculaire de cas apparentés d'infections associées aux soins de santé impliquant *Enterococcus faecium vanA* multirésistant en Algérie.

Infection and Drug Resistance downloaded from https://www.dovepress.com/ by 69.67.1.148 on 24-Oct-2018
For personal use only.

First molecular characterization of related cases of healthcare-associated infections involving multidrug-resistant *Enterococcus faecium vanA* in Algeria

Sonia Benammar^{1,2}
Alix Pante^{3,4}
Fabien Aujoulat⁵
Messaoud Benmehidj^{1,2}
René Courcol^{6,7}
Jean-Philippe Lavigne^{3,4}
Sara Romano-Bertrand^{5,8}
Hélène Marchandin^{3,5}

¹Department of Microbiology, University Hospital Center Touhami Benflis, Batna, Algeria; ²Department of Medicine, University Batna 2, Batna, Algeria; ³Department of Microbiology, Nîmes University Hospital, Nîmes, France; ⁴Faculty of Medicine, National Institute of Health and Medical Research, INSERM U1047, University of Montpellier, Nîmes, France; ⁵HydroSciences Montpellier, CNRS, IRD, University of Montpellier, University Hospital of Montpellier-Nîmes, Montpellier, France; ⁶Faculty of Medicine, University of Lille, Lille, France; ⁷Department of Bacteriology, Institute of Microbiology, Lille University Hospital, Lille, France; ⁸Department of Infection Control, Montpellier University Hospital, Montpellier, France

Correspondence: Hélène Marchandin UMR 5569 HydroSciences Montpellier, Equipe Pathogènes Hydriques Santé Environnements, UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université de Montpellier, 15, Avenue Charles Flahault, BP 14491, 34093 Montpellier, France
Email helene.marchandin@umontpellier.fr

Purpose: Vancomycin-resistant *Enterococcus* (VRE) *faecium* (VREfm) are highly resistant bacteria emerging worldwide and rarely studied using molecular tools in Algeria since their first report in 2006. The aim of the study was to investigate healthcare-associated infections (HAIs) involving the first VRE in Batna University Hospital, Algeria, and characterize isolates using molecular tools.

Patients and methods: Medical charts were reviewed for patients with VREfm. *van* genes were detected by multiplex polymerase chain reaction (PCR), and strains were characterized by automated repetitive sequence-based PCR (rep-PCR), multiplex rep-PCR, pulsed-field gel electrophoresis (PFGE), and multilocus sequence typing (MLST).

Results: During a 6-month period, VREfm infections occurred in four patients hospitalized in three wards. The four isolates were *E. faecium vanA* belonging to the hospital-adapted clonal complex 17. PCR-based methods did not discriminate the isolates but MLST and PFGE delineated a subgroup of three VREfm of identical pulsotype and sequence type (ST) 80 (yet identified for five isolates in the international PubMLST database) while the fourth isolate was of ST789 (not previously identified for a VREfm) and displayed an unrelated pulsotype. The three genotypically related isolates were recovered in patients who underwent surgery in the same department, suggesting an outbreak for which the source and route of transmission remained unidentified.

Conclusion: This first molecular epidemiology study of VRE in Algeria was useful in delimiting an outbreak involving three of the four HAI cases and revealed rarely encountered genotypes. Considering the threat and burden of VRE infections worldwide, particularly in the USA, and the late emergence in Algeria, our study supports the urgent need for improved and early adequate infection control measures to avoid VRE spread in North African hospitals.

Keywords: outbreak, genotyping, MLST, rep-PCR, PFGE, molecular epidemiology

Introduction


Vancomycin-resistant enterococci (VRE) raise major concerns in medical practice due to the limited therapeutic options. They have emerged as an important cause of healthcare-associated infections (HAIs) and outbreaks worldwide, associated with a high mortality in patients with impaired host defenses.¹⁻³ Nowadays, the most commonly reported clinical VRE isolates are multidrug-resistant (MDR) VanA-type *Enterococcus faecium*, displaying high-level resistances to both vancomycin and teicoplanin, for which a clonal spread has been demonstrated, especially through

submit your manuscript | www.dovepress.com

Dovepress   
http://dx.doi.org/10.2147/IDR.S14487

Infection and Drug Resistance 2018:11 1483-1490

1483

 © 2018 Benammar et al. This work is published and licensed by Dove Medical Press Limited. The full terms of this license are available at <http://www.dovepress.com/terms.php> and incorporate the Creative Commons Attribution – Non Commercial (unported, v3.0) License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>). By accessing the work you hereby accept the Terms. Non-commercial uses of the work are permitted without any further permission from Dove Medical Press Limited, provided the work is properly attributed. For permission for commercial use of this work, please see paragraphs 4.2 and 5 of our Terms (<http://www.dovepress.com/terms.php>).

Annexe 2. Épidémiologie moléculaire d'*Enterococcus* sp. Isolé dans un hôpital universitaire en Algérie

Scandinavian Journal of Infectious Diseases, 2012; 44: 656–662

informa
healthcare

ORIGINAL ARTICLE

Molecular epidemiology of *Enterococcus* sp. isolated in a university hospital in Algeria

NASSIMA DJAHMI^{1,2}, ADELINÉ BOUTET-DUBOIS^{1,3}, SABRINA NEDJAI², MAZOUZ DEKHIL², ALBERT SOTTO^{1,4} & JEAN-PHILIPPE LAVIGNE^{1,3}

From the ¹Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Université Montpellier 1, UFR de Médecine, Nîmes, France, ²Service de Microbiologie, CHU Ibn Rochd, Annaba, Algeria, ³Laboratoire de Bactériologie, and ⁴Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, Groupe Hospitalo-Universitaire de Carêmeau, Nîmes, France

Abstract

Background: The aim of this study was to describe the epidemiology of enterococci isolated from infections at an Algerian university hospital, and to evaluate the prevalence of vancomycin-resistant enterococci (VRE) and the clonal cluster present in this country. **Methods:** Patients who presented at Annaba University Hospital with *Enterococcus* infections were prospectively included over a 1-y period (2010). All *Enterococcus* sp. isolated were characterized by antibiotic resistance, *van* and *erm* genes, repetitive sequence-based polymerase chain reaction (rep-PCR), multi-locus sequence typing (MLST), and virulence genes. **Results:** A total of 125 *Enterococcus* isolates recovered from 125 patients (59% female; median age 54 y, range 2–86y) were studied. No differences in epidemiological data were observed between infections by *Enterococcus faecalis* vs *Enterococcus faecium*. However a high proportion of *E. faecium* were resistant to ampicillin (95%). The prevalence of VRE, corresponding to 4 *vanC1*-*Enterococcus gallinarum*, was 3.2%. A high level of genomic diversity among strains was noted, with the importance of sequence type (ST) 78 (which belongs to clonal complex (CC) 17) in *E. faecium* and ST317 and CC2 in *E. faecalis*. **Conclusions:** This first study on enterococci isolated in Algeria shows the low prevalence of VRE, but the presence of clonal complexes linked to VRE and vancomycin-sensitive enterococci associated with hospital infections. Moreover the high level of macrolide resistance and/or ampicillin resistance in *E. faecium* suggests close monitoring of the epidemiology of these strains.

Keywords: Clonal complex, clonality, *Enterococcus*, MLST, virulence

Introduction

Although classically considered a commensal of the gastrointestinal tract of humans and animals rather than a specialized human pathogen, enterococci have become relevant in hospital-acquired infections [1]. Two species cause most enterococcal infections, *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*. Originally, the majority of clinical infections, such as bacteraemia, endocarditis, and urinary tract and surgical wound infections, were caused by *E. faecalis* (80–90%), while *E. faecium* was found much less frequently (isolated in almost 10% of the infections) [1]. However, the importance of *E. faecium* in infections has recently increased in several countries, notably

in the USA and Europe, and mostly in association with high levels of resistance to vancomycin and ampicillin, which are rare among *E. faecalis* [1,2]. Vancomycin-resistant enterococci (VRE) have tended to be associated with community carriage in Europe and nosocomial outbreaks in the USA, but human infections caused by VRE are now widely spread across different continents [2,3]. Thus a clonal cluster (clonal complex (CC) 17 multi-locus sequence typing (MLST) type) associated with *E. faecium* has a worldwide propagation [2].

To date very few data are available concerning the molecular epidemiology of enterococci in Algeria. Only 1 report has described a case of VRE in Algeria

This work was presented in part at the 31st Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse (RICAI), Paris, France, December 2011 (Abstract 10138).

Correspondence: Jean-Philippe Lavigne, INSERM U1047, Université Montpellier 1, UFR de Médecine, 186 Chemin du Carreau des Lanes, CS83021, 30908 Nîmes cedex 01, France. Tel: +33 466 028 159. Fax: +33 466 028 148. E-mail: jean.philippe.lavigne@chu-nimes.fr

(Received 14 January 2012; accepted 29 February 2012)

ISSN 0036-5548 print/ISSN 1651-1980 online © 2012 Informa Healthcare
DOI: 10.3109/00365548.2012.673232

RIGHTS LINK
UNIVERSITY MICROFILMS
SERIALS ACQUISITION

Annexe 3. *Enterococcus faecium* résistant à la vancomycine en Algérie : caractérisation phénotypique et génotypique des isolats cliniques

Original Article

Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in Algeria: phenotypic and genotypic characterization of clinical isolates

Nabila Benamrouche¹, Badia Guettou¹, Fatma Zohra Henniche², Farida Assaous¹, Houcine Laouar³, Hanifa Ziane⁴, Fazia Djennane⁴, Djamel Tiouit², Chafia Bentchouala³, Ferroudja Yamouni⁵, Kheira Rahal¹, Hassiba Tali Maamar¹

¹ Medical Bacteriology Laboratory, Institut Pasteur, Algiers, Algeria

² Microbiology Laboratory, Mohamed Seghir Nekkache Central Hospital of Army, Algiers, Algeria

³ Department of Microbiology, University Hospital of Constantine, Constantine, Algeria

⁴ Department of Microbiology, Mustapha University Hospital, Algiers, Algeria

⁵ Central Laboratory, University Regional Military Hospital of Oran, Oran, Algeria

Abstract

Introduction: vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* (VREfm) is a major public health problem worldwide. The aim of our study was to determine the microbiological, epidemiological and molecular characteristics of VREfm isolated in north-central, eastern and western Algeria. **Methodology:** a collection of 48 VREfm isolated from September 2010 to April 2017 in several Algerian hospitals were studied. Minimum inhibitory concentrations (MICs) were determined by E-test method according to CLSI guidelines. the detection of *van* genotype of all strains was performed by PCR. Clonal relationship of five VREfm targeted by region were characterized using multilocus sequence typing (MLST). **Results:** All isolates have multidrug-resistance (MDR) and were resistant to at least five classes of antibiotics; however, all were susceptible to tigecycline and daptomycin with MIC₅₀ at 0.094 µg/mL and 2 µg/mL respectively. All strains belonged to *vanA* genotype and have high level of resistance to vancomycin and teicoplanin. MLST revealed two sequence types (STs): ST80 (from the four regions of Algeria) and ST789, both belonging to the former hospital-adapted clonal complex CC17. **Conclusion:** the alarming dissemination of MDR *E. faecium vanA* and the ST80 in several regions of Algeria suggest a clonal spread of VREfm strains, which urgently require implementation of adequate infection control measures.

Key words: Vancomycin-resistant *E. faecium*; antimicrobial susceptibility; *vanA*; MLST; Algeria.

J Infect Dev Ctries 2021; 15(1):95-101. doi:10.3855/jidc.12482

(Received 28 January 2020 – Accepted 30 July 2020)

Copyright © 2021 Benamrouche *et al.* This is an open-access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Introduction

Enterococcus faecium has become an important nosocomial pathogen, involved in healthcare-associated infections (HAIs), especially among severely ill and/or immunocompromised patients and causes multiples infections (e.g. urinary tract infections, surgical site infections, bacteremia and endocarditis) [1-3]. *E. faecium* characterized by its remarkable survival abilities in harsh conditions and by its capacity to colonize and persist in gastrointestinal tract of healthy carriers and patients, leading to rapid spread and outbreaks [2-4]. *E. faecium*, naturally resistant to many antimicrobial agents, has acquired resistance to almost all drugs, including the glycopeptides [2-4]. Therefore, multidrug-resistant (MDR) *E. faecium* has significantly limited therapeutic options for treating serious and sometimes deadly infections due to these pathogens. In this context, the World Health

Organization recognized VREfm as a high priority in its list of 12 resistant-bacteria that pose the greatest threat to human health [5]. Moreover, VREfm can serve as a reservoir of resistance genes and can also transfer to other strains of bacteria such as *Staphylococcus aureus* [2,4,6]. Over last 30 years, VREfm has increased worldwide and becomes a cause of concern [2-4, 7]. The European Antimicrobial hold Surveillance Network (EARS-Net) showed that the detection rate of VREfm from 2015 to 2018 increased from 10.5 to 17.3% [8]. In 2014, the detection rate of VRE in the United States was 8.1% [9]. Furthermore, according to the Korean Antimicrobial hold state Monitoring System (KARMS) from 2013 to 2015, the detection rate of VREfm grew from 29 to 31% [10]. The Algerian Antimicrobial Resistance Network (AARN) indicated that the VREfm rate from 2014 to 2017 similarly rose from 7.1 to 16% [11,12]. Vancomycin-resistant

Annexe 4. Premier cas d'*Enterococcus faecalis* résistant à la vancomycine en Algérie

Disponible en ligne sur www.sciencedirect.com

ScienceDirect

Médecine et maladies infectieuses 38 (2008) 557–558

Médecine et
maladies infectieuses

<http://france.elsevier.com/direct/MEDMAL/>

Lettre à la rédaction

Premier cas d'*Enterococcus faecalis* résistant à la vancomycine en Algérie

First case of vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* in Algeria

Mots clés : *Enterococcus faecalis* ; Résistance à la vancomycine

Keywords : *Enterococcus faecalis*; Resistance to vancomycin

1. Introduction

Longtemps considérées comme des bactéries commensales du tube digestif de l'homme, les entérocoques ont vu ces dernières années leur rôle prendre de l'importance dans les infections nosocomiales [1] et chez les sujets ayant des terrains débilisés (insuffisants rénaux, diabétiques, immunodéprimés et transplantés [2–7]).

Ces bactéries sont dangereuses de part leur multirésistance naturelle à de nombreuses familles d'antibiotiques [1–3], aggravée ces dernières années par l'émergence de souches résistantes aux glycopeptides [1–7].

L'apparition de ces souches a pour origines :

- l'utilisation abusive de la vancomycine dans le traitement des entérocolites [1];
- la chaîne alimentaire, essentiellement par l'usage vétérinaire de l'avoparcine (glycopeptide), promoteur de croissance des animaux d'élevage [1–6].

Dans cet article nous rapportons le premier cas d'*Enterococcus faecalis* résistant à la vancomycine isolé en Algérie.

2. Observation

Il s'agit d'un patient âgé de 24 ans né à Alger et y demeurant, régulièrement suivi par le service de pédiatrie de l'hôpital central de l'armée depuis sa naissance pour uropathie malformative. Dans ses antécédents, on retrouve plusieurs interventions chirurgicales effectuées dans des hôpitaux français et dont la dernière en date est une colcystoplastie pratiquée en 1988 à l'hôpital Necker. Le patient, de par sa pathologie, a toujours reçu un traitement antibiotique préventif. Les antibiotiques administrés chez lui étaient le cotrimoxazole et la nitroxo-line; à noter l'introduction ces trois dernières années de l'amoxicilline + acide clavulanique.

Au sein de notre laboratoire, nous effectuons régulièrement des examens cytotabactériologiques des urines (ECBU) dudit patient (les urines sont recueillies chez lui à partir de la poche de colcystoplastie).

L'examen cytotabactériologique d'un échantillon d'urines reçu en novembre 2006 a donné les résultats suivants :

- une leucocyturie à 30 polynucléaires par millimètre cube ;
- une bactériurie de plus de 10^5 unités formant colonie par millilitre (UFC/ml), positive à deux germes différents ;
- les tests biochimiques API 20E et API strepto (Biomérieux) ont permis d'identifier *Klebsiella pneumoniae* et *E. faecalis*.

Les antibiogrammes réalisés par la technique *clinical laboratory standards institute* (CLSI) ont donné les résultats suivants : *K. pneumoniae*, souche sauvage résistante à l'ampicilline et à la ticarcilline, *Enterococcus faecalis* pour lequel les résultats de l'antibiogramme sont reportés dans le Tableau 1.

Tableau 1
Antibiogramme de la souche de *E. faecalis*
Antibiogram for the E. faecalis strain

Antibiotique	Diamètre (mm)	Interprétation
Ampicilline	27	Sensible
Pénicilline	24	Sensible
Gentamycine (HN) 120 µg	19	Sensible
Streptomycine (HN) 300 µg	17	Sensible
Érythromycine	12	Résistant
Lincomycine	6	Résistant
Pristinamycine	13	Résistant
Linézolide	29	Sensible
Lévofloxacine	20	Sensible
Rifampicine	11	Résistant
Tétracycline	6	Résistant
Furanes	23	Sensible
Cotrimoxazole	6	Résistant
Vancomycine	6	Résistant
Téicoplanine	10	Résistant

HN : haut niveau.

Annexe 5. Identification de clones majeurs sensibles à la vancomycine d'entérocoques cliniques d'Algérie

Journal of Global Antimicrobial Resistance 6 (2016) 78–83

Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Global Antimicrobial Resistance

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jgar






Identification of vancomycin-susceptible major clones of clinical *Enterococcus* from Algeria

Nadjette Bourafa^{a,b,c}, Cédric Abat^a, Lotfi Loucif^{a,d}, Abiola Olumuyiwa Olaitan^a, Ahmed Aimen Bentorki^e, Nafissa Boutefnouchet^b, Jean-Marc Rolain^{a,*}

^a Unité de recherche sur les maladies infectieuses et tropicales émergentes (URMITE), UM 63, CNRS 7278, IRD 198, INSERM U 1905, IHU Méditerranée Infection, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Aix-Marseille Université, Marseille, France
^b Laboratoires de microbiologie et biochimie appliquée, Département de biochimie, Faculté des sciences, Université Badji Mokhtar-Annaba, Annaba 23000, Algeria
^c Département de biologie, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Mohamed Cherif Messaadia de Souk Ahras, Souk Ahras, Algeria
^d Laboratoire de Biotechnologie des Molécules Bioactives et de la Physiopathologie Cellulaire (LBMBC), Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Batna 2, Batna, Algeria
^e Laboratoire de microbiologie, CHU Dorbani, Annaba, Algeria

ARTICLE INFO

Article history:
 Received 2 February 2016
 Received in revised form 20 March 2016
 Accepted 22 March 2016

Keywords:
 Epidemiological features
 Clonality analysis
 High-risk hospital lineages
 Algeria

ABSTRACT

The main objectives of this study were to characterize clinical strains of *Enterococcus* spp. isolated from Algerian inpatients and outpatients, to investigate their susceptibility to antibiotics and to analyse their phylogenetic relatedness. A total of 85 non-duplicate *Enterococcus* spp. isolates collected between 2010 and 2013 from various clinical samples, including urine, vaginal swab, pus, blood and semen, from Algerian inpatients ($n = 62$) and outpatients ($n = 23$) were identified using matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF/MS). Antibiotic susceptibility testing was performed using disk diffusion and Etest methods. Clonal relatedness was analysed using multilocus sequence typing (MLST). *Enterococcus faecalis* was the most predominant species (75.3%), followed by *Enterococcus faecium* (21.2%), *Enterococcus gallinarum* (2.4%) and *Enterococcus casseliflavus* (1.2%). High-level resistance to aminoglycosides was significantly more prevalent in hospitalized patients than in outpatients. None of the *E. faecalis* and *E. faecium* isolates were resistant to vancomycin. High genetic diversity was observed among the *E. faecalis* isolates, with the identification of a new clonal complex (CC256), as well as the detection of *E. faecalis* ST6 and *E. faecium* lineages ST17, ST18 and ST78 associated with hospital isolates. This is the first report of *E. faecalis* ST6 and *E. faecium* ST17 and ST18 in Algeria. Although acquired vancomycin resistance was not observed among the enterococcal strains, there is a continued need to monitor the level of antibiotic resistance among enterococci as well as the evolution of the *E. faecalis*/*E. faecium* ratio.

© 2016 International Society for Chemotherapy of Infection and Cancer. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Enterococci are part of the commensal flora of the intestinal tract of humans and animals; they also colonize the skin, oral cavity and genital tract and are widespread in the environment [1]. Despite their commensal lifestyle, enterococci may cause serious and even fatal human infections and have become one of the main pathogens causing nosocomial and extrahospital infections [1,2]. *Enterococcus faecalis* has been the most frequently species encountered in human pathology [3,4]. However, currently there has been an increase in clinical cases caused by *Enterococcus faecium* reported in the USA and Europe [4–7]. The rise of *E. faecium* hospital-acquired infections is essentially due to the increasing use of vancomycin and broad-spectrum antimicrobials in hospital settings [5]. The *E. faecium* species is characterized by its remarkable genome plasticity, making it capable of acquiring multiple resistance genes, colonizing patients and persisting in hospital settings [2,5,6,8].

The ability of enterococci to grow and persist in hostile conditions and their transmission through hand contact ensures their survival in hospital environments and increases the species reservoirs [1]. Enterococci are inherently resistant to certain

* Corresponding author. Tel.: +33 4 91 32 43 75; fax: +33 4 91 38 77 72.
 E-mail address: jean-marc.rolain@univ-amu.fr (J.-M. Rolain).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jgar.2016.03.009>
 2213-7165/© 2016 International Society for Chemotherapy of Infection and Cancer. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

Annexe 6. Émergence d'*Enterococcus faecium* résistant aux glycopeptides en Algérie : à propos d'un cas

Biologie au quotidien

Ann Biol Clin 2013 ; 71 (1) : 104-6



Émergence d'*Enterococcus faecium* résistant aux glycopeptides en Algérie : à propos d'un cas

Emergence of glycopeptide resistant *Enterococcus faecium* in Algeria: a case report

Moufida Hamidi¹
 Houria Ammari¹
 Mohamed Ghaffor¹
 Nabila Benamrouche²
 Hassiba Tali-Maamar²
 Farida Tala-Khir³
 Mokhtar Younsi³
 Kheira Rahal²

¹ Laboratoire central de biologie,
 CHU Béni-Messous, Alger, Algérie
 <moulhamidi@gmail.com>

² Service de bactériologie médicale,
 Institut Pasteur, Alger, Algérie

³ Service de médecine interne,
 CHU Béni-Messous, Alger, Algérie

Article reçu le 4 février 2012,
 accepté le 14 mai 2012

L'entérocoque résistant aux glycopeptides (ERG) est responsable de nombreuses infections nosocomiales posant de réels problèmes de santé publique [1]. Ces problèmes sont de trois ordres : transmission croisée importante causant des épidémies à BMR (bactéries multi résistantes), impasse thérapeutique : les glycopeptides étant des antibiotiques de dernier recours dans le traitement des infections sévères à cocci à Gram positif, risque de transfert du gène de la résistance aux glycopeptides aux patients porteurs de souches de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) [2, 3].

Bien qu'il soit moins virulent qu'*Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* est plus concerné par la résistance aux antibiotiques [1, 4]. L'ERG est endémique aux USA alors qu'il est d'apparition récente en Europe. Le premier cas d'*E. faecium* résistant à la vancomycine a été décrit en Europe en 1986 [1, 3, 4]. En 2007, un premier cas d'*E. faecalis* résistant à la vancomycine a été rapporté en Algé-

Résumé. Une souche d'*Enterococcus faecium* résistant aux glycopeptides (EFRG) a été isolée à partir d'une plaie opératoire chez un patient hospitalisé dans un CHU d'Alger. Cette souche était résistante à plusieurs autres antibiotiques. La recherche du portage a permis de retrouver cette souche au niveau du tube digestif. La comparaison génotypique des deux échantillons par électrophorèse en champ pulsé a montré qu'il s'agissait de la même souche. La résistance aux glycopeptides était due à la présence du gène *vanA*. La vigilance est nécessaire devant l'émergence de souches d'EFRG dans nos hôpitaux.

Mots clés : Algérie, enterocoques résistant aux glycopeptides, *Enterococcus faecium*, gène *vanA*

Abstract. A glycopeptide-resistant *Enterococcus faecium* (EFRG) was isolated from a wound in a patient hospitalized in a university hospital in Algiers. This strain was resistant to several antibiotics. This patient was carrying this strain in the digestive tract which may partly explain its origin. Genotypic comparison of the two strains by pulsed field gel electrophoresis showed that it was the same strain. Glycopeptide resistance was due to the presence of the *vanA* gene. Vigilance is required facing the emergence of strains of EFRG in our hospitals.

Key words: Algeria, glycopeptide-resistant Enterococci, *Enterococcus faecium*, *vanA* gene

rie [5]. Dernièrement, deux cas d'infections à *E. faecium* résistant aux glycopeptides (EFRG) ont été signalés [6] ; nous décrivons ici un cas d'isolement d'EFRG au CHU Béni-Messous à Alger.


L'observation

Il s'agit d'un patient de sexe masculin âgé de 24 ans hospitalisé au niveau du service de médecine interne du CHU Béni-Messous pour syndrome infectieux sévère. Dans ses antécédents, ce patient a été hospitalisé dans une clinique privée pour syndrome abdominal douloureux. Une laparoscopie-biopsie a été effectuée et a permis de poser le diagnostic de péritonite tuberculeuse. Les suites immédiates de l'intervention se sont compliquées par la perforation du côlon transverse. Opéré en urgence, le patient a été mis le jour de l'intervention sous ceftiozime et métró-

Annexe 7. Fréquence et diversité élevées des entérocoques résistants à la vancomycine


Infection, Genetics and Evolution 92 (2021) 104889

Contents lists available at ScienceDirect



Infection, Genetics and Evolution

journal homepage: www.elsevier.com/locate/meegid



Research paper

High frequency and diversity of Vancomycin-resistant Enterococci (VRE) in Algerian healthcare settings

Hanane Zerrouki^{a,c}, Sid-Ahmed Rebiahi^a, Linda Hadjadj^{b,c}, Fatmi Ahlem^a, Yamina Elhabiri^a, Tahar Sedrati^d, Jean-Marc Rolain^{b,c}, Seydina M. Diene^{b,c,*}

^a Laboratoire de microbiologie appliquée à l'agroalimentaire, au biomédical et à l'environnement, Université de Tlemcen, Algeria
^b Aix-Marseille Univ., MEPHI, IRD, APHM, IHU-Méditerranée Infection, Marseille, France
^c IHU-Méditerranée Infection, Marseille, France
^d Laboratoire de recherche Gestion des Ressources Animales Locales, Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire, Algiers, Algeria

ARTICLE INFO

Keywords:
Algeria
Healthcare settings
vanA
vanB
Vancomycin-resistant *Enterococci*

ABSTRACT

The spread of vancomycin-resistant Enterococci (VRE) in Algerian hospital settings is poorly reported. Since the first report in 2006, few data have been available on the molecular mechanism of this resistance across the country. In this study, we investigate the frequency and antibiotic resistance mechanisms of *Enterococci* strains isolated from hospitalised patients in the Tlemcen university hospital. 191 *Enterococcus* spp. strains were collected from various clinical samples and were identified using MALDI-TOF-MS. The presence of van genes was investigated by standard PCR and sequencing. Results revealed that *E. faecium* and *E. faecalis* strains are the main pathogens identified in the study. Antibiotic susceptibility testing revealed that the resistance rate was high for the majority of antibiotic classes, including glycopeptides, and only linezolid was effective on all strains. Molecular analysis revealed that 52.2% of strains from intensive care unit (ICU) were positive for the vanA gene, including 44.44% *E. faecium*, 5.55% *E. faecalis* and 2.22% *E. avium*. 25.5% of these isolates co-harboured both the vanA and vanC genes, including *E. gallinarum* (*n* = 16) and *E. faecium* (*n* = 6). In surgical wards (SW) 29.70% of strains harboured the van genes, including 4.90% of *E. faecalis* harbouring the vanB gene, and of the rest of strains, (24.80%) harboured the vanC genes. Indeed, 9.90% *E. gallinarum* and 4.90% *E. faecalis* were positive for vanC1 and 9.90% of *E. casseliflavus* were positive for the vanC2/C3 gene. The glycopeptide resistance rate was higher among strains from the ICU and was mainly composed by *E. faecium* strains compared with surgical wards where resistant *E. faecalis* strains were predominant.

1. Introduction

Mostly *E. faecium*, and to some extent *E. faecalis*, are involved in healthcare-associated infections and nosocomial outbreaks. These can cause serious infections ranging from urinary tract infections to endocarditis, meningitis or bacteraemia, which are sources of significant morbidity and mortality (O'Driscoll and Crank, 2015). Enterococci are naturally resistant to many routinely used antibiotics such as cephalosporins, low concentrations of aminoglycosides, clindamycin, fluoroquinolones, trimethoprim-sulfamethoxazole (Cetinkaya et al., 2000). They are characterised by particular genome plasticity allowing them to resist other antibiotics (Bender et al., 2018). Vancomycin, considered as drug of last resort, has long been used against Gram-positive bacteria which are resistant to β -lactams responsible for serious infections

including sepsis, meningitis, endocarditis, pneumonia, enterocolitis and osteomyelitis (Rivera and Boucher, 2011). Vancomycin-resistant Enterococci (VREs) are easily transmitted through asymptomatic patients, caregivers, and contaminated environments or instruments (Escaut et al., 2013). VREs can persist on inanimate surfaces for a long time and show a remarkable ability to colonise gastrointestinal (GI) tracts of hospitalised patients (Vehreschild et al., 2019). An imbalance in hospital hygiene coupled with the excessive use of broad-spectrum antibiotics frequently results in VRE nosocomial outbreaks in high-risk departments such as transplant departments (Kreidl et al., 2018), oncology (Oh et al., 2004) and intensive care units (ICU) (Hughes et al., 2019). As reported, the resistance mechanism to vancomycin is mediated by the modification of vancomycin-binding targets leading to alterations in the peptidoglycan synthesis. Indeed, the terminal d-Ala-d-

* Corresponding author at: MEPHI, IHU-Méditerranée Infection, 19-21 Boulevard Jean Moulin, 13005 Marseille, France.
E-mail address: seydina.diene@univ-amu.fr (S.M. Diene).

<https://doi.org/10.1016/j.meegid.2021.104889>
Received 8 January 2021; Received in revised form 17 April 2021; Accepted 27 April 2021
Available online 30 April 2021
1567-1348/© 2021 Elsevier B.V. All rights reserved.

(ERV) dans les établissements de santé algériens.

Annexe 8. Première détection du complexe clonal 17 d'*Enterococcus faecium* vanA positif

ORIGINAL ARTICLE

First detection of vanA positive *Enterococcus faecium* clonal complex 17 in hospital wastewater in Algeria: an epidemiological report

Z. Cherak^{1,2}, E. Bendjama^{3,4}, A. Moussi¹, A. Benbouza⁵, N. Grainat⁵, J.-M. Rolain^{6,7,8} and L. Loucif³

1) Laboratoire de Génétique, Biotechnologie et Valorisation des Bio-ressources (GBVB), Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de La Nature et de La Vie, Université Mohamed Khider, Biskra, 2) Faculté des Sciences de La Nature et de La Vie, 3) Laboratoire de Biotechnologie des Molécules Bioactives et de La Physiopathologie Cellulaire (LMBPC), Faculté des Sciences de La Nature et de La Vie, Université de Batna 2, 4) Département de Technologie Alimentaire, Institut des Sciences Vétérinaires et des Sciences Agronomiques, Université El Hadj Lakhder-Batna 1, 5) Faculté de Médecine, Université de Batna 2, Batna, Algeria, 6) Aix Marseille Univ, IRD, MEPHI, Faculté de Médecine et de Pharmacie, 7) IHU Méditerranée Infection and 8) Assistance Publique des Hôpitaux de Marseille, Marseille, France

Abstract

Enterococcus spp. are Gram-positive cocci that are recognised as critical opportunistic pathogens, especially in immunocompromised patients. Vancomycin is considered as the drug of last resort for the treatment of infections caused by *Enterococcus* species, making vancomycin resistance a serious public health concern. In this article, we report the first environmental vanA positive *Enterococcus faecium* isolates in Algeria. The strains were selectively isolated from hospital wastewater and then identified using matrix-assisted laser desorption and ionisation time-of-flight mass spectrometry. Antibiotic susceptibility testing was performed using the disc diffusion method. Vancomycin resistance genes were searched for by standard PCR and the clonal relatedness of our isolates was investigated by multilocus sequence typing. A total of five highly vancomycin-resistant Gram-positive bacteria were isolated and identified as *Enterococcus faecium*. The isolates harboured the vanA gene and were assigned to the clonal complex 17. Our findings confirm the great potential of hospital wastewater as a reservoir and dissemination pathway of multidrug resistant organisms, and alert to the need for better regulation of hospital waste management in order to reduce their impact on the environment.

© 2022 Published by Elsevier Ltd.

Keywords: Algeria, *Enterococcus faecium*, hospital wastewater, vanA, vancomycin resistance

Original Submission: 23 August 2021; **Revised Submission:** 18 March 2022; **Accepted:** 21 March 2022

Article published online: 14 April 2022

Corresponding author: L. Loucif
E-mail: lotfilouci@hotmail.fr

Introduction

Enterococcus spp. are Gram-positive cocci that are ubiquitous in the environment and feature among the normal inhabitants of the gastrointestinal tract of humans and animals [1]. However, they are also recognised as critical opportunistic pathogens, especially in immunocompromised patients, where *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* are the most important species

[2]. They can cause a variety of life-threatening infections such as urinary tract and surgical wound infections, bacteraemia, and endocarditis [3]. With the rapid emergence and dissemination of antibiotic resistance among these pathogens, vancomycin is considered as the drug of last resort for the treatment of such infections [4]. Vancomycin is a glycopeptide antibiotic which acts by inhibiting the cell wall biosynthesis of Gram-positive bacteria. This inhibition is based on binding to the terminus of the murein pentapeptide precursors, the D-alanyl-D-alanine, which is the target of glycopeptides [2,5]. However, after thirty years of glycopeptide use, the first vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* (VREfm) emerged in 1986 [6]. Acquired vancomycin resistance is mediated by different clusters (vanA, B, D, E, F, G, L, M, and N), with vanA being the most clinically

New Microbe and New Infect 2022; 47: 100977

© 2022 Published by Elsevier Ltd

This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)
<https://doi.org/10.1016/j.nmi.2022.100977>

dans les eaux usées hospitalières en Algérie.

ملخص

تشكل زيادة مقاومة المضادات الحيوية وانتشارها في المكورات المعوية تهديداً كبيراً للصحة العامة. يهدف هذا العمل إلى تقييم مقاومة المضادات الحيوية ووبائيات المكورات المعوية في الجزائر. تم تحليل المقالات الثمانية التي تشير إلى بيانات النمط الظاهري و / أو الجزيئية عن سلالات المستشفيات من المكورات المعوية، ولا سيما *Enterococcus faecium* و *Enterococcus faecalis* في الجزائر. كشفت نتائجهم عن معدلات مقاومة متغيرة بشكل كبير اعتماداً على المضادات الحيوية التي تم اختبارها. في الواقع، فإن المضاد الحيوي الذي اظهر فعالية جد معتبرة ضد السلالات المدروسة هو لينيزوليد.

تم الكشف عن جينات مختلفة لمقاومة الفانكوميسين (*vanA* ، *vanB* ، *vanC1*, *C2* / *C3*) مع هيمنة جين *VanA*. تم تحديد جين اخر مقاوم لإريثروميسين (*ermB*) في سلالات المستشفيات من المكورات المعوية في الجزائر.

أخيراً، تسلط هذه الدراسة الضوء على زيادة وتيرة سلالات المكورات المعوية متعددة المقاومة مع تراكم العديد من آليات المقاومة في المستشفيات الجزائرية، الأمر الذي يتطلب وضع تدابير رقابية لمنع انتشارها.

الكلمات المفتاحية: المكورات المعوية، مقاومة المضادات الحيوية، جينات المقاومة، المستشفيات الجزائرية.