

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

المدرسة الوطنية العليا لعلوم البحر وتهيئة الساحل

Ecole Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et l'Aménagement du Littoral



Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Hydrobiologie Marine et Continentale

Spécialité : Biotechnologie marine

Thème :

Caractérisation et évaluation de la virulence et de la résistance aux
antibiotiques chez

les entérocoques isolés dans le milieu marin

Présenté par :

FOUL Selma

KROURI Nouha

Soutenu le 17/07/2023 devant le jury composé de :

Mme CHAOU N.

Maitre Assistante A

Promotrice

Mme ALOUACHE S.

Maitre de conférences A

Co-Promotrice

1. Remerciements

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à ma directrice de mémoire, Madame chaou . Je la remercie de m'avoir encadré, orienté, aidé et conseillé.

J'adresse mes sincères remerciements à tous les jurys professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé mes réflexions et ont accepté de me rencontrer et de répondre à mes questions durant mes recherches.

Je remercie mes très chers parents qui ont toujours été là pour moi. Je remercie et mon frère akram , pour leurs encouragements.

À tous ces intervenants, je présente mes remerciements, mon respect et ma gratitude.

2. Dédicace

3. Liste des figures

Figure 01 : Arbre phylogénétique de genre Enterococcus basé sur le séquençage du gène codant pour ARNr 16S (D. Van Tyne, M. Gilmore, 2014).

Figure 02 : Sources d'entérocoques dans les plans d'eau. (Muruleedhara N. et al ,2021).

Figure 03 : Mode d'action de l'antibiotique www.bacteriologie.net.

Figure 04 : Formes d'acquisition d'ADN. (Theresa Wagner, 2018).

Figure 05 : Mécanismes de résistance aux antibiotiques chez les entérocoques (Alain Bousquet-Melou 2012).

Figure 06 : Localisation géographique des stations étudiées (Google Earth pro, 2022).

Figure 07 : Le test de biofilm.

Figure 08 : Disposition des disques d'antibiotiques.

Figure 09 : Aspect des bactéries sur le milieu Slanetz.

Figure 10 : Résultat de coloration de Gram.

Figure 11 : Résultat du test catalase.

Figure 12 : Résultats de test de production de biofilm par les souches étudiées.

Figure 13 : Pourcentage de production de biofilm.

Figure 14 : Prévalence de la résistance de souches d'entérocoques isolées aux antibiotiques.

Figure 15 : Aspect de l'antibiogramme d'une souche isolée d'eau de mer.

Figure 16 : Résultats de test de l'hémolyse

4. Liste des tableaux

Tableau 01 : Les différentes familles d'antibiotique et leur mécanisme d'action (**Nauciel et Vilidé, 2005**).

Tableau 02 : Liste d'antibiotiques en disque utilisés : (**krystyna et Teresa, 2022 ; CASFM, 2022**)

Tableau 03 : Résultats de l'antibiogramme des souches d'entérocoques étudiées.

Annexes

Tableau 04 : Les composants des milieux de cultures.

Tableau 05 : Code et abréviation des zones étudiées.

Tableau 06 : Code et abréviation des antibiotiques.

Sommaire

Remerciements

Dédicace

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Chapitre I : Généralités

1. Rappel sur les entérocoques	2
1.1 Historique.....	2
1.2 Taxonomie	2
1.3 Habitat.....	4
1.4 Caractères bactériologiques	5
1.5 Le risque des entérocoques.....	5
1.5.1 Facteurs contribuant à la pathogenèse des entérocoques	5
1.5.2 Résistance aux antibiotiques.....	5
1.6 Les facteurs de virulence	6
2. Formation de biofilm.....	7
3. Les antibiotiques.....	7
3.1 Définition	7
3.2 Mode d'action.....	8
3.3 Critères de Classification.....	8
3.4 Résistance aux antibiotiques.....	9
3.4.1 Résistance naturelle	10
3.4.2 Résistance acquise	10
3.4.3 Conjugaison, transformation et transduction.....	11
3.5 La résistance des entérocoques aux antibiotiques	12
3.5.1 Résistance aux bêta lactamines	13
3.5.2 Résistance aux glycopeptides	14

3.5.3 La résistance aux aminosides	14
3.5.4 La résistance aux tétracyclines :	14
3.5.5 La résistance aux macrolides	14
3.5.6 La résistance aux quinolones et fluoroquinolones	15
4. Applications biotechnologique des entérocoques	15
5. Utilisation des entérocoques comme probiotiques.....	15

Chapitre II : Matériel et méthodes

1. Présentation de la zone d'étude	18
1.1 Revivification des bactéries	19
1.2 Identification des entérocoques	21
I.2.1 Coloration de Gram.....	21
1.2.2 Test de la catalase	22
1.3 Production de biofilm.....	22
1.4 Étude de la résistance aux antibiotiques par Antibiogramme	23
1.5 Test de l'hémolyse	26

Chapitre III : Résultats et Discussion

1. Identification des entérocoques.....	29
1.1 Coloration de Gram	29
1.2 Test de la catalase.....	30
2. Production de biofilm.....	30
3. Le test de l'hémolyse.....	36
4. Discussion générale.....	37

Conclusion	40
-------------------------	----

Bibliographie

Annexes

Introduction

Introduction

Les entérocoques sont des bactéries commensales humaines et animales, présentent presque partout dans le tube digestif, principalement au niveau des conduits du côlon, ce qui permet de les considérer comme des marqueurs de contamination fécale. **A. Aguilar-Galvez et al. (2011)**. Elles ont une adaptabilité incroyable et jouent un rôle important dans la préservation et le maintien de l'environnement et/ou de l'animal grâce à leur effet probiotique.

Pendant longtemps, les entérocoques ont été considérés comme des agents pathogènes faibles responsables de certaines infections extrahospitalières, et leur pathogénicité se déploie en combinaison avec d'autres bactéries. Mais leur rôle dans les infections nosocomiales ne cesse d'augmenter. Les entérocoques occupent la troisième position, derrière *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. **(S.Francois-Ngo & J. Mainardi., 1998)**.

Ce rôle dans la pathologie nosocomiale est dû aux capacités remarquables des entérocoques, d'acquies des facteurs de virulence à savoir la production de biofilm et l'hémolyse ainsi que des marqueurs de multi résistance, en particulier aux antibiotiques couramment utilisés dans le traitement. Cette résistance s'est accrue ces dernières années du fait de l'émergence de souches résistantes. **(Fozia Z. Ahmed et al., (2011))**.

Les bactéries en question présentent une résistance multiple aux antibiotiques, notamment aux bêta-lactamines, aux aminoglycosides, aux glycoprotéines, aux quinolones et aux tétracyclines. Cette résistance constitue un problème majeur à la fois pour la santé publique et la pratique clinique. **Soussy, (2007)**

Le principal objectif de ce modeste travail est d'évaluer et de caractériser la virulence et la résistance aux antibiotiques de certaines souches d'entérocoques isolées à partir du milieu marin.

Chapitre I : Généralités

Rappel sur les entérocoques

1. Historique

Le terme entérocoque est né à la fin du 19^e siècle lorsque Thierselin qui a décrit une enveloppe saprophyte d'origine intestinale pouvant provoquer une infection. Il a décrit l'organisme comme un diplocoque à Gram positif et a proposé le nom d'*Enterococcus* pour souligner sa morphologie et son origine intestinale (**Thiercelin et Jouhaud 1899**).

Depuis, de nombreuses tentatives ont été faites pour distinguer les espèces d'*Enterococcus* des *Streptococcus*.

En 1937, Sherman a classé les espèces de *streptococcus* en quatre groupes :

- Streptocoques fécaux (entérocoques)
- Streptocoques laitiers
- Streptocoques viridis
- Streptocoques pyogenes

(**Klein,2003**)

Les espèces d'*Enterococcus* étaient à l'origine classées dans le groupe des *Streptococcus* jusqu'à 1984, date à laquelle l'analyse de l'ADN a révélé que les organismes appartenant à ce genre étaient suffisamment différenciés des *Streptococcus*. Cela a abouti à une classification à part du genre *Enterococcus* (**Schleifer & Klipper-Balz, 1984 ; Fozia Z. Ahmed et al. (2011)**).

1.1 Taxonomie

La taxonomie des entérocoques est soumise à un nombre continu de changement au fur et à mesure que la méthodologie d'identification et de différenciation évolue en combinaison avec un intérêt grandissant pour le genre.

L'identification des espèces est actuellement et principalement basée sur les puces à ADN, séquençage du gène de l'ARNr 16S et l'analyse de profilage des protéines cellulaires entières (**Euzéby,1997**).

Le genre *enterococcus* est placé dans le domaine des bacteria,

- Phylum : Firmicutes
- Classe : Bacilli
- Ordre : Lactobacillales
- Famille : Enterococcaceae

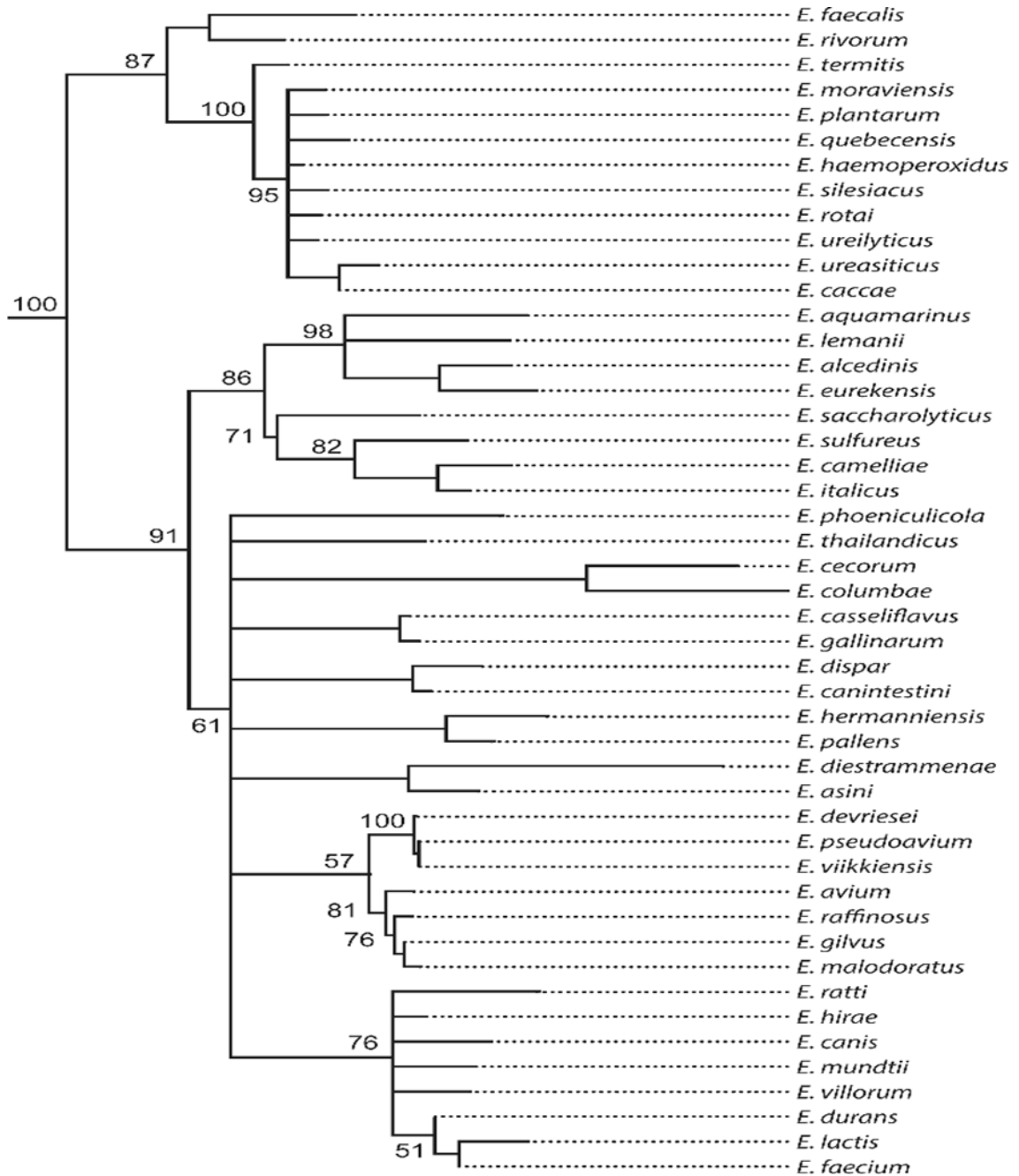


Figure 01 : Arbre phylogénétique de genre *Enterococcus* basé sur le séquençage du gène codant pour ARNr 16S (D. Van Tyne, M. Gilmore, 2014)

1.2 Habitat

Les entérocoques se trouvent dans presque tout ce avec quoi nous entrons en contact. Son ubiquité est combinée à une adaptabilité extraordinaire, car cette bactérie est spécialisée pour prospérer dans l'environnement hostile du tractus gastro-intestinal humain aux côtés d'autres mammifères, oiseaux, reptiles et insectes en raison de sa nature robuste (**Mundt 1963, Martin et al Mundt 1972**).

Par conséquent, les entérocoques sont présents sous forme de contaminants fécaux dans l'eau douce et l'eau de mer, les sédiments, les sols, les plantes aquatiques et terrestres et les produits artificiels, y compris les produits laitiers et les aliments fermentés. Les espèces d'entérocoques courantes associées aux infections humaines sont principalement *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. casseliflavus* et *E. hirae* (**Mundy et al. 2000**).

La persistance des entérocoques dans divers types d'eau peut être supérieure à celle des autres organismes indicateurs (**Clausen et al., 1977; Edberg et al., 1997; OMS, 2000**), notamment à cause de leur résistance notoire aux agents désinfectants (**Haslay et Leclerc, 1993**), ce qui fait d'eux des indicateurs privilégiés pour évaluer l'efficacité du traitement de l'eau (**OMS, 2000**). De plus, leur grande résistance à la dessiccation fait des entérocoques des indicateurs pour le contrôle lors des réparations du réseau de distribution nécessitant un assèchement (**WHO, 1993**). Par ailleurs, puisqu'il n'y a généralement pas de croissance des entérocoques dans un réseau de distribution, leur détection témoigne généralement d'une pollution fécale (**Clausen et al., 1977**).

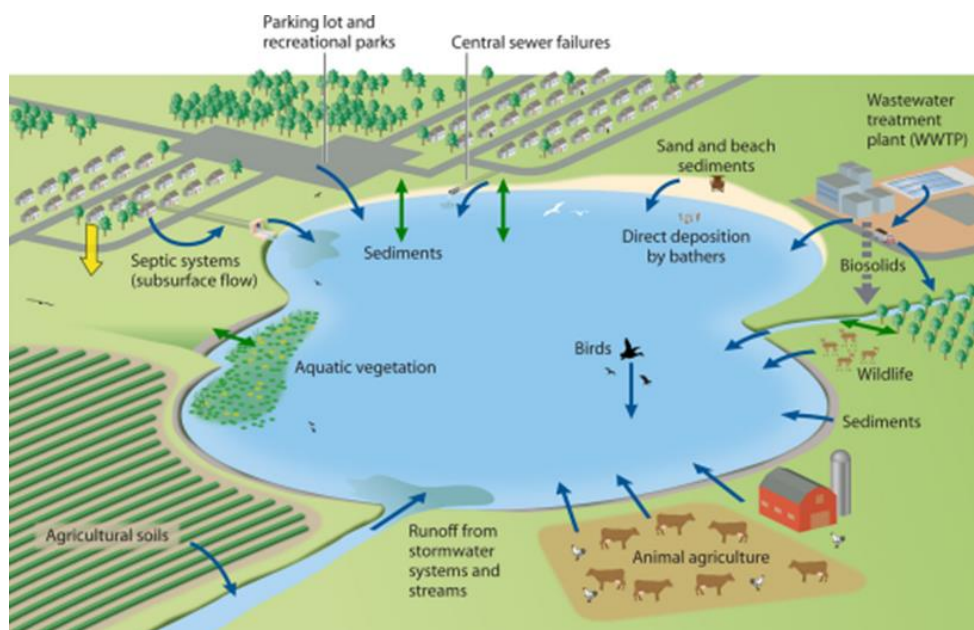


Figure 02 : Sources d'entérocoques dans les plans d'eau. (**Muruleedhara N. et al ,2021**)

1.3 Caractères bactériologiques

Le genre *Enterococci* comprend des bactéries anaérobies facultatives à Gram (+), oxydase (-) et catalase (-), bien que certaines souches produisent de la pseudo-catalase lorsqu'elles sont cultivées dans des milieux contenant du sang (**Sherman, 1937**). Ce sont des bactéries non sporulées et peuvent se présenter sous la forme de Cocci individuel, en paires ou même en chaînes (**Schleifer et al. 1984**). Généralement, les entérocoques forment des colonies blanches. Cependant, il existe aussi des espèces jaunes comme *E. mundtii*, *E. casseliflavus* et *E. sulfureus* (**Higashide et al.2005**).

1.4 Le risque des entérocoques

Les problèmes entre les entérocoques et les humains sont leur origine gastro-intestinale, leur entrée dans la chaîne alimentaire, leur résistance aux antibiotiques et leur possible rôle dans des maladies d'origine alimentaire. On peut citer également leur capacité à échanger du matériel génétique ou encore, pour quelques souches, à produire de grandes quantités d'amines biogéniques associées à la fermentation (**A Aguilar-Galvez et al.2012**)

1.4.1 Facteurs contribuant à la pathogénèse des entérocoques

Les entérocoques ne sont pas des bactéries très virulentes par rapport aux *Staphylococcus* ou aux *Pneumococcus*. Pour que les entérocoques deviennent pathogènes ils nécessitent d'exprimer des caractéristiques de virulence associées à l'adhésion, la translocation et la disparition de la réponse immunitaire (**Jett et al., 1994 ; Ben Omar et al., 2004**).

Les espèces couramment rencontrées dans ces infections sont *E. faecium* et *E. faecalis*. Cette dernière est responsable de 80 à 90 % des infections à base d'*Enterococcus*, alors que *E. faecium* n'est associé qu'à 5 à 10 % des infections (**Kayser, 2003 ; Sánchez et al., 2007**).

1.4.2 Résistance aux antibiotiques

Ce trait est principalement dû à la présence inhérente de gènes de résistance acquis via des éléments génétiques mobiles (plasmides ou transposons). La plasticité du génome des entérocoques leur permet de s'adapter en permanence à leur environnement et de résister à une grande variété d'antibiotiques appartenant à différentes classes, comme les bêta-lactamines (**Inoue et al., 2006 ; Sánchez et al.2007**). Alpha-lactamines, aminoglycosides, lincosamides ou glycopeptides.

En 1986, certains *E. faecium* ont montré une résistance aux antibiotiques glycopeptidiques (vancomycine et teicoplanine) (**LeBlanc, 2006**). L'émergence de souches résistantes à la vancomycine est d'autant plus alarmante que cet antibiotique est considéré comme un dernier recours dans le traitement des infections à entérocoques. De plus, il est souvent utilisé comme alternative à l'ampicilline, à la pénicilline et aux aminoglycosides.

1.5 Les facteurs de virulence

Les facteurs de virulence permettent la colonisation et l'invasion des tissus ainsi que la perméabilisation des cellules épithéliales contournant ainsi les défenses immunitaires de l'hôte (**Franz et al., 2004**). Les facteurs de virulence les plus couramment étudiés chez les entérocoques sont la production de substances d'agrégation, la production de cytolysine (bactériocine) et les activités enzymatiques.

La substance d'agrégation (SA) est une glycoprotéine codée par un gène plasmidique régulé par des phéromones. Ces dernières favorisent le lien à des récepteurs de la surface des eucaryotes, jouent un rôle essentiel dans la colonisation de l'hôte (**Jett et al., 1994**) et facilitent le transfert des plasmides. L'adhérence des bactéries aux tissus de l'hôte étant une étape cruciale dans le processus d'infection, la présence de SA dans les souches peut conduire à l'accroissement de la capacité de colonisation (**Eaton et al., 2001**).

La cytolysine ou β -hémolysine est le facteur de virulence le plus étudié. Cette toxine peptidique lyse les cellules animales en générant des pores dans la membrane cellulaire. La production de cytolysine semble être un facteur de risque important lié aux entérocoques pathogènes, ce mécanisme de lyse étant une stratégie bactérienne pour contourner les réactions immunitaires chez l'hôte (**LeBlanc, 2006**). Les gènes de cytolysine sont souvent portés par des plasmides et régulés par des phéromones. La fréquence de mortalité causée par une infection par entérocoque β -hémolytique est cinq fois supérieure à celle observée par une infection à entérocoques non- β -hémolytiques (**Huycke et al., 1991**). Une étude suggère que la combinaison d'hémolysine et de la substance d'agrégation entraîne une mortalité accrue dans l'endocardite due à *E. faecalis* (**Chow et al., 1993**).

Les autres facteurs sont les enzymes hydrolytiques produites telles que l'hyaluronidase, la gélatinase et la sérine protéase (**Fisher et al., 2009**). L'hyaluronidase est une enzyme qui dégrade l'acide hyaluronique, constituant majeur de la matrice extracellulaire des cellules animales (**Kayser, 2003**). La gélatinase est l'un des facteurs de virulence largement étudié chez

E. faecalis (Del Papa et al., 2007) : il s'agit d'une Zn-métalloprotéase (EC 3.4.24.4), capable d'hydrolyser la β -insuline, la gélatine, le collagène, la caséine, l'hémoglobine et d'autres peptides biologiquement actifs (Jett et al., 1994 ; Fisher et al., 2009). En outre, la gélatinase contribue au processus de formation de biofilm, ce qui peut accroître la capacité des entérocoques à coloniser les tissus et à persister dans les sites d'infection (Del Papa et al., 2007).

2. Formation de biofilm

Les biofilms bactériens sont des amas structurés de cellules bactériennes enrobés d'une matrice polymérique et attachés à une surface. Le biofilm protège les bactéries et leur permet de survivre dans des conditions environnementales hostiles. Les bactéries du biofilm peuvent résister à la réponse immunitaire de l'hôte et sont beaucoup plus résistantes aux antibiotiques. La capacité de former un biofilm est maintenant reconnue comme une caractéristique propre à plusieurs microorganismes (Yannick D.N. Tremblay et al 2012)

E. faecalis produit du biofilm plus souvent qu'*E. faecium*. La formation de biofilm peut être un facteur important dans la pathogénicité des infections à entérocoques.

3. Les antibiotiques

Depuis l'introduction de la pénicilline au cours des années quarante du siècle passé, un grand nombre d'agents antibactériens a été développé et commercialisé à des fins thérapeutiques, réduisant ainsi la morbidité et la mortalité humaine importantes associées.

3.1 Définition

On appelle « Antibiotique » toute substance naturelle d'origine biologique élaborée par un organisme vivant, substance chimique produite par synthèse ou substance semi synthétique obtenue par modification chimique d'une molécule de base naturelle ayant les propriétés suivantes

- Activité antibactérienne
- Activité en milieu organique
- Une bonne absorption et bonne diffusion dans l'organisme

Les antibiotiques ont la propriété d'interférer directement avec la prolifération des micro-organismes à des concentrations tolérées par l'hôte.

3.2 Mode d'action

Les antibiotiques agissent à l'échelle moléculaire au niveau d'une ou de plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie. Ils agissent par :

- Toxicité sélective au niveau de la :
 - Synthèse de la paroi bactérienne
 - Membrane cytoplasmique
 - Synthèse des protéines
 - Acides nucléiques (**D. Mohammedi 2017**)
- Inhibition compétitive : dans ce cas l'antibiotique est un analogue structural, il interfère avec une fonction essentielle à la bactérie

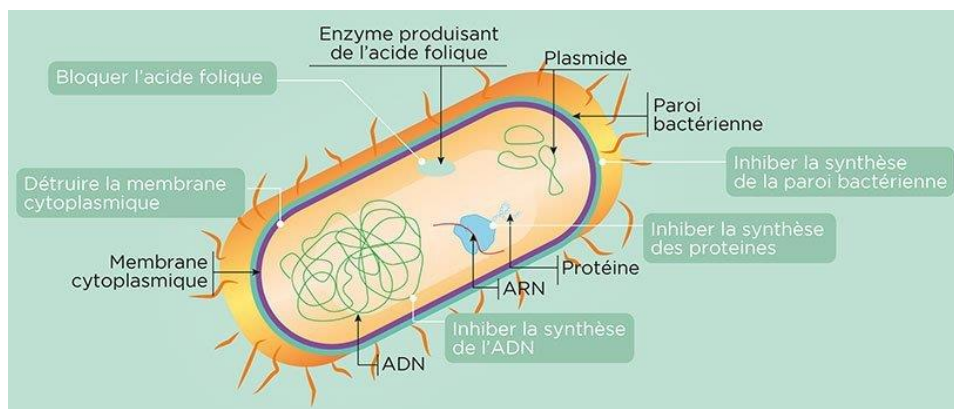


Figure 03 : Mode d'action de l'antibiotique www.bacteriologie.net

3.3 Critères de Classification

La classification des antibiotiques peut se faire selon :

- **L'origine** : élaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique)
- **Le mode d'action** : paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléiques

- **Le spectre d'activité** : liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large)
- **La nature chimique** : très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (ex : cycle β lactame) sur laquelle il y a hémi synthèse.

La classification selon la nature chimique nous permet de classer les antibiotiques en plusieurs familles (β lactamines, aminosides, tétracyclinesetc.). (**D. Mohammedi 2017**).

Tableau 01 : Les différentes familles d'antibiotique et leur mécanisme d'action (**Nauciel et Vilidé, 2005**).

Famille	Antibiotique	Mode d'action
Béta lactamines	Ampicilline amoxiline	Antibiotiques agissant sur la paroi : inhibition de la formation de la paroi bactérienne
	Céfatoxine Céftazidine	
Glycopeptides	Vancomycine Teicoplanine	
Aminosides	Gentamicine	Antibiotiques inhibant la synthèse protéique
Macrolides	Sipramicine	
Tétracyclines	Tétracycline Doxycyclines	
Quinolones et Fluroquinolones	Acide nalidixique Ciprofloxacines	Antibiotiques agissant sur les acides nucléiques : inhibition de la synthèse d'ADN et d'ARN

3.4 Résistance aux antibiotiques

En effet, il existe un grand nombre de définitions pour l'expression « résistance bactérienne aux antibiotiques », qui sont basées sur différents critères (génétiques,

biochimiques, microbiologiques et cliniques) et qui ne se recoupent pas forcément. Les définitions les plus fréquemment employées se fondent sur les critères microbiologiques (résistance *in vitro*) et sur les critères cliniques (résistance *in vivo*). Selon la définition microbiologique du terme, une souche est dite résistante lorsqu'elle se cultive en présence de concentration plus élevée en antibiotique comparativement à d'autres souches qui lui sont phylogénétiquement liées. **(D. Yala.2001)**

3.4.1 Résistance naturelle

La résistance bactérienne naturelle est permanente et d'origine chromosomique. La

Résistance naturelle est stable, transmise à la descendance (transmission verticale) lors de la division cellulaire, mais elle n'est généralement pas transférable d'une bactérie à une autre (transmission horizontale) **(Messai, 2006)**.

3.4.2 Résistance acquise

La résistance acquise est un caractère qui ne concerne que quelques souches d'une espèce donnée. Elle est moins stable, mais elle se propage souvent de façon importante dans le monde bactérien, par l'acquisition de nouveaux gènes capables de rendre la bactérie insensible à un antibiotique ou à un groupe d'antibiotique **(Yala et al., 2001 ; Sylvie-Carle, 2009)**.

Ce gain génétique permet aux bactéries de s'adapter à leur environnement en présence d'antibiotiques et donc répondre favorablement à la pression de sélection induite par ces derniers. **(Christophe ISNARD., 2017)**.

La résistance acquise, transférable par des éléments mobiles, est reliée à la présence de gènes transférables. Les éléments permettant le transfert de ces gènes sont principalement les plasmides, les transposons et les intégrons. **(Cindy-Love Tremblay, 2012)**.

✓ Les transposons :

Des éléments génétiques qui peuvent s'intégrer soit dans des plasmides ou des chromosomes et sont transférables d'une bactérie à une autre. **(D. Yala.2001)**

✓ Les intégrons :

Constitués de gènes sous forme de cassette, ces éléments sont capables d'intégrer par recombinaison. (D. Yala.2001)

L'acquisition d'ADN contenant des gènes de résistance se fait par conjugaison, transformation ou transduction.

3.4.3 Conjugaison, transformation et transduction

- **La conjugaison**

Consiste en un mécanisme sexuel de transfert de matériel génétique. Les caractéristiques importantes de la conjugaison se caractérisent par le contact des bactéries et par la polarité du transfert, c'est-à-dire toujours dans le sens d'une bactérie donatrice (mâle ou fertile) vers une bactérie réceptrice (femelle). C'est le caractère de fertilité qui est responsable du transfert. (Cindy-Love Tremblay, 2012).

- **La transformation**

Le transfert des gènes de résistance peut se faire également par transformation qui est l'incorporation d'ADN nu du milieu externe. C'est une acquisition permanente pouvant entraîner une modification héréditaire de la bactérie réceptrice. La bactérie réceptrice doit être compétente, c'est-à-dire qu'elle doit produire des protéines particulières permettant la pénétration de l'ADN étranger (Cindy-Love Tremblay, 2012).

- **La transduction**

Est un processus qui consiste en un transfert de matériel génétique (ADN bactérien), d'une bactérie donneuse à une bactérie receveuse, par l'intermédiaire d'un vecteur viral (un bactériophage) ; ce dernier rencontre la bactérie spécifique, injecte son génome pour qu'il puisse exprimer les protéines nécessaires à sa multiplication. (Cindy-Love Tremblay, 2012).

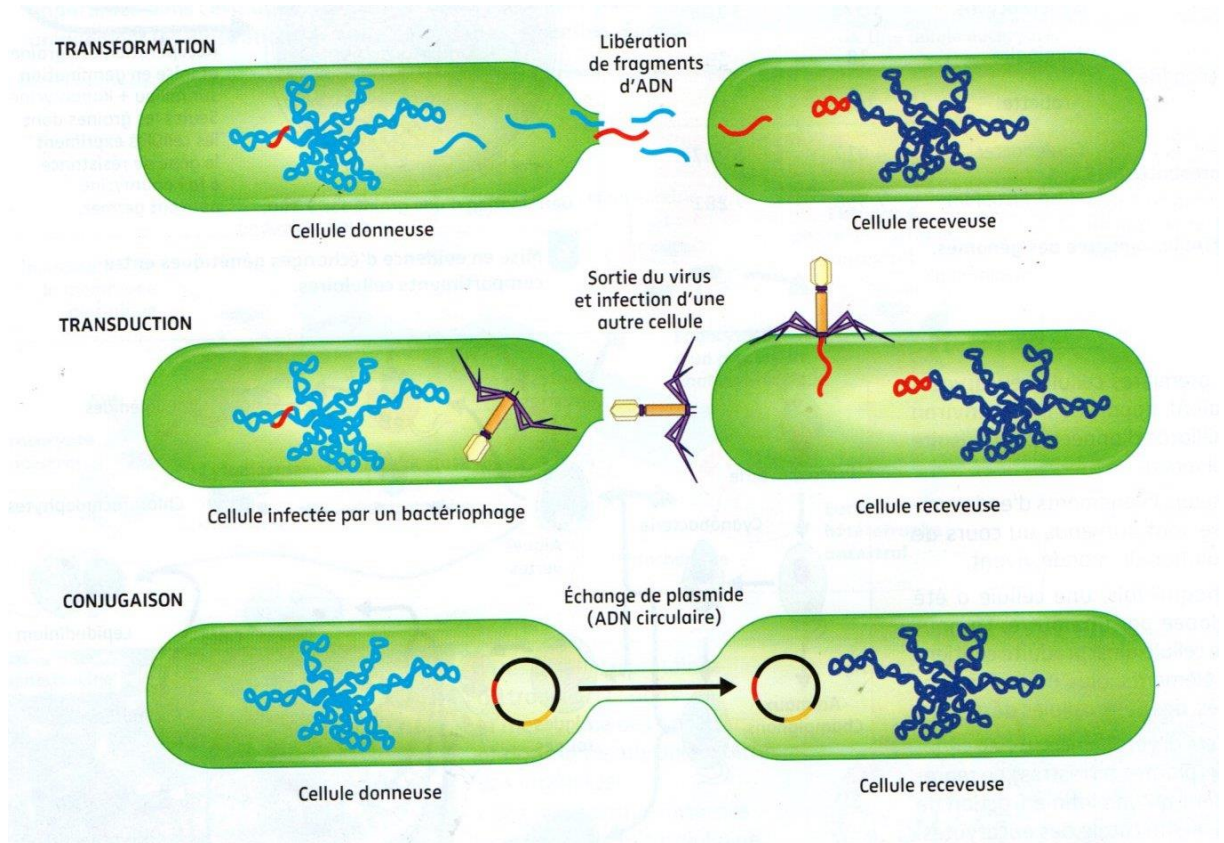


Figure 04 : Formes d'acquisition d'ADN. (Theresa Wagner, 2018)

3.5 La résistance des entérocoques aux antibiotiques

La résistance des entérocoques aux antibiotiques s'est principalement développée durant les 50 dernières années par l'utilisation répandue et fréquente des antibiotiques favorisant une pression de sélection (Matyara et al. 2008).

La résistance des bactéries aux antibiotiques est médiée par trois mécanismes : la diminution de la concentration intracellulaire de l'antibiotique par imperméabilité membranaire, la diminution d'affinité de l'antibiotique pour sa cible due à une modification ou une protection de celle-ci, la modification ou l'inactivation de l'antibiotique lui-même par un processus enzymatique (Cindy-Love Tremblay, 2012).

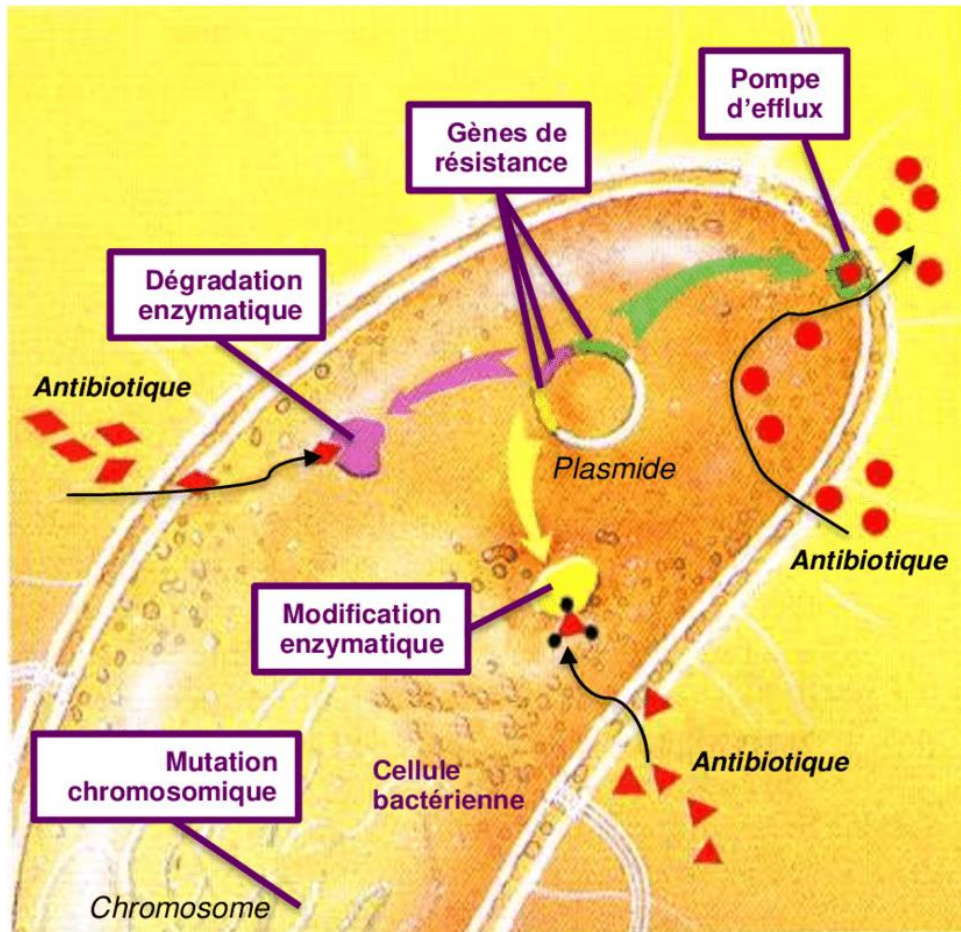


Figure 05 : Mécanismes de résistance aux antibiotiques chez les entérocoques (Alain Bousquet-Melou 2012).

Les entérocoques résistent à divers antibiotiques qui sont cités ci-dessous ;

3.5.1 Résistance aux bêta lactamines

Les β -lactamines sont des antibiotiques bactéricides largement utilisés en thérapie humaine, et ils agissent en inhibant la formation de la paroi cellulaire dans les cellules en croissance (Mainardi et al., 2008). Ces antibiotiques inactivent les protéines de liaison à la pénicilline, ce qui entraîne une inhibition de la synthèse des peptidoglycane (Singleton, 2005). Les entérocoques présentent une résistance intrinsèque à la plupart des β -lactamines, mais ils restent sensibles à un nombre limité de pénicillines, notamment l'ampicilline, la pénicilline et la piperacilline. Leur résistance aux médicaments peut être affectée par la production de β -lactamase, qui inhibe les β -lactames en rompant la liaison amide sur le cycle β -lactame (Monica G et Louis B, 2019).

3.5.2 Résistance aux glycopeptides

La résistance aux glycopeptides est due à la production de précurseurs de la paroi modifiés (terminés par D-alanyl-D-lactate ou D-alanyl-D-sérine) et à l'élimination des précurseurs naturels de haute affinité (terminés par D-Ala-D-Ala) (**P. Courvalin 2006**)

Ces molécules sont bactéricides et elles combattent les bactéries Gram-positives en inhibant la production de la paroi des peptidoglycanes (PG). Elles agissent spécifiquement sur les entérocoques en ajoutant un cinquième intermédiaire de liaison hydrogène à l'extrémité d'un précurseur de PG qui contient le motif dipeptidique D-Ala-DAla. (**Cattoir et Leclercq, 2013**)

3.5.3 La résistance aux aminosides

Les mécanismes de résistance bactérienne aux AG (aminoglycosides) sont diversifiés (Fig. 2). Le mécanisme le plus courant est l'inactivation des AG par une famille d'enzymes appelée AMEs. De plus, la résistance aux AG peut être obtenue par des mutations de la cible du ribosome et, de plus en plus fréquemment, par la modification du ribosome par une famille d'enzymes de méthylation ribosomique. (**D. N. Wilson et al 2014**) La paroi cellulaire bactérienne sert de barrière intrinsèque, et son imperméabilité peut être augmentée par des modifications lipidiques acquises qui provoquent la répulsion des AG. De plus, même si les AG pénètrent dans la cellule bactérienne, les concentrations intracellulaires peuvent rester faibles en raison de l'expulsion active des AG hors de la cellule par des pompes d'efflux

Les entérocoques sont intrinsèquement résistants. La résistance est portée par des éléments génétiques mobiles qui codent pour trois types d'enzymes : la phosphotransférase (APH), l'acétyltransférase (AAC) et la nucléotidyltransférase (ANT) (**Woodford et al. 1993**)

3.5.4 La résistance aux tétracyclines :

L'action de ces antibiotiques antibactériens à large spectre consiste à se lier au ribosome, inhibant ainsi la liaison des aminoacyl-ARNt au site A, ce qui bloque la synthèse des protéines (**Singleton, 2005**). Dans le cas des entérocoques, la résistance aux médicaments est facilitée par un mécanisme de protection ribosomique du gène tet(L) (**Monica G et Louise B, 2019**).

3.5.5 La résistance aux macrolides

Ces antibiotiques inhibent de manière réversible la synthèse des protéines interférentes en se liant à la sous-unité ribosomale 50S (**Singleton, 2005**)

3.5.6 La résistance aux quinolones et fluoroquinolones

Ce sont des dérivés de l'acide nalidixique ayant une activité inhibitrice contre l'ADN gyrase, agissant sur les sous-unités A de la topoisomérase II et de la topoisomérase IV. Ils inhibent l'activité enzymatique normale et la réplication de l'ADN. La résistance aux quinolones chez les bactéries Gram-positives est due à des mutations dans les gènes codant pour la gyrase et la topoisomérase IV. La mutation se situe au niveau du gène C (Ferrero et al., 1994).

4. Applications biotechnologiques des entérocoques

L'incorporation de micro-organismes à des aliments peut avoir quatre objectifs différents :

- Améliorer la sécurité alimentaire (inhiber des pathogènes),
- Améliorer la stabilité (prolongation de la vie du stockage),
- Offrir une diversité de produits (modification de la matière première),
- Apporter des bénéfices pour la santé (effets positifs sur la flore intestinale).

Des études de la microflore des produits traditionnels ont montré que les entérocoques jouent un rôle important dans la fermentation et la maturation de certains produits en contribuant au développement des caractéristiques organoleptiques telles que le goût et l'arôme, entre autres. En plus de la contribution sensorielle, les entérocoques ont la capacité de produire des substances antimicrobiennes, y compris les bactériocines. Ils peuvent aussi avoir des propriétés probiotiques (FAO/OMS, 2004).

5. Utilisation des entérocoques comme probiotiques

Les probiotiques sont des préparations de micro-organismes viables en quantité suffisante qui peuvent moduler le microbiote de l'organisme hôte et ainsi avoir des effets bénéfiques sur la santé (FAO/WHO, 2006).

Les souches utilisées comme probiotiques sont des bactéries lactiques provenant du tractus gastro-intestinal humain. Les bactéries les plus courantes sont les lactobacilles (*Lb. acidophilus*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. paracasei*, *Lb. plantarum* et *Lb. reuteri*) et les bifidobactéries (*B. lactis*, *B. bifidum*, *B. longum*, *B. adolescentis* et *B. animalis*). Toutefois, il existe maintenant des souches appartenant aux genres *Pediococcus*, *Propionibacterium*, *Enterococcus*, *Bacillus*, *Streptococcus*, et même à la levure *Saccharomyces*, qui montrent des effets bénéfiques pour la santé de leur hôte (Champagne et al., 2008).

L'emploi des entérocoques comme probiotiques est potentiellement possible puisqu'ils appartiennent aux bactéries lactiques et font partie intégrante de la flore commensale de l'homme et des animaux. En Suisse, l'efficacité clinique d'*E. faecium* SF68 a été démontrée dans la prévention de diarrhées associées aux antibiotiques chez l'adulte et dans le traitement de diarrhées chez l'enfant (**Bellomo et al., 1980**). Cette souche a été également testée pour traiter des diarrhées aiguës, et lors d'essais cliniques en Belgique, un raccourcissement de ces diarrhées de 1 à 3 jours a été observé (**Buydens et al., 1996**). D'autre part, une préparation probiotique, appelée Causido®, composée d'un mélange de *S. thermophilus* et d'*E. faecium*, montre un effet hypocholestérolémiant à court terme (**Bertolami et al., 2008**). Parmi les souches qui ont été proposées comme probiotiques se trouvent également *E. faecium* EF9296 possédant une activité antimicrobienne contre *Listeria spp.* (**Marciňáková et al., 2004**) et *E. mundtii* ST4V (**Todorov et al., 2009**)

Chapitre II : Matériel et méthodes

Cette étude a pour but d'évaluer et de caractériser la virulence et la résistance aux antibiotiques des entérocoques isolés à partir de plusieurs plages. On va travailler sur une collection de 80 bactéries récoltée au cours des trois dernières années (2020, 2021 et 2022).

1. Présentation de la zone d'étude



Figure 06 : Localisation géographique des stations étudiées (Google Earth pro, 2022)

De multiples échantillons d'eau et de sédiments ont été prélevés d'est en ouest au niveau de six plages le long de la côte d'Algéroise.

- **Plage Ain Taya :**

Cette plage est située dans la commune d'Ain Taya sur la côte algérienne, à 27 km au nord-est d'Alger. La plage est sablonneuse, longue de 600 mètres et large de 10 mètres. La baignade est autorisée.

- **Plage bateau cassé**

La plage bateau cassé est située dans la commune de Bordj El Kiffan dans la wilaya d'Alger. La plage est sableuse et rocheuse, elle s'étale sur une longueur de 757 mètres et sur une largeur de 50,5 mètres, La baignade est autorisée également.

- **Plage la sirène :**

Cette plage se trouve également dans la commune de Bordj El Kiffan. La plage est de type sableux et s'étale sur une longueur de 134 mètres et de largeur de 47 mètres avec une superficie de 9000 m², La baignade est autorisée.

- **Plage Sidi Fredj :**

Cette plage est située dans la commune de Staoueli dans la wilaya d'Alger, la granulométrie de cette plage est constituée de sable fin, elle s'étale sur une longueur de 100 m et sur une largeur de 5m, La baignade est autorisée.

- **Plage Kheloufi :**

Cette plage se trouve à Zéralda, elle s'étend sur un littoral sablonneux, Elle est de 1660 m de longueur et 60 m de largeur, elle est caractérisée par la présence de l'oued Mazafran à l'ouest. La baignade est autorisée également.

- **Plage Colonel Abbes :**

La plage colonel Abbes est située dans la ville marine qu'on appelle Douaouda marine, elle s'étend sur 3Km. L'oued de Mazafran se déverse directement dans cette plage, et les déchets qu'on trouve rendent la plage polluée. Elle est de type sableux avec des galets, La baignade est quand même autorisée.

1.1 Revivification des bactéries

Les bactéries prélevées à partir d'une culture conservée (80 bactéries), ont été introduite dans le milieu BHIB, chacune dans un tube différent pour une revivification.

Le milieu de culture est ensuite mis dans une étuve à 37°C pendant 24h pour permettre la croissance des bactéries de nouveau.

L'observation de trouble après incubation, est signe que les bactéries se sont multipliées.

Pour confirmer que nos bactéries sont bien des entérocoques on a fait deux tests : le test présomptif puis le test confirmatif.

- **Test présomptif :**

Les bactéries sont ensemencées sur le milieu gélosé Slanetz, puis incubées à 37° pendant 24h, les entérocoques se caractérisent par des colonies rouges ou roses.

La gélose Slanetz : contient de l'azide de sodium qui sélectionne les bactéries à Gram positif par inhibition des microorganismes à Gram négatif,

La réduction de TTC (chlorure de 2, 3,5 triphényltétrazolium) par les bactéries donne une coloration rouge à rose.

- **Test confirmatif :**

Deux à trois bactéries issues des colonies rouges à roses sont ensemencées dans le milieu BEA (gélose bile Esculine Azide). Après incubation à 37° pendant 24h, l'apparition de colonies noires confirme que ces bactéries sont des entérocoques.

La gélose BEA est un milieu sélectif destiné à l'isolement des entérocoques et des streptocoques fécaux.

La bile : permet la croissance des entérocoques par l'inhibition des autres bactéries à Gram positif. (Madjmaa et Boulmaize ,2016)

L'esculine : les entérocoques hydrolysent l'esculine en aglycone en présence de sel de fer qui va donner des colonies noires sur la surface de la gélose. (Madjmaa et Boulmaize ,2016)

L'azide de sodium : supprime la croissance des bactéries à Gram négatif (Madjmaa et Boulmaize ,2016)

Plusieurs ré- isolement ont été effectué pour obtenir des bactéries pures.

1.2 Identification des entérocoques

I.2.1 Coloration de Gram

La coloration de Gram, est une méthode couramment utilisée en microbiologie pour différencier et classer les bactéries en fonction de leur réaction face à des colorants spécifiques. Cette technique doit son nom au scientifique danois Hans Christian Gram, qui l'a développée en 1884.

Mode opératoire

A - Faire un frottis :

1. Nettoyer une lame à l'alcool.
3. Frotter l'anse qui contient les entérocoques sur la lame
4. Laisser sécher à l'air.
5. Passer 3 fois la lame dans la petite flamme du bec Bunsen pour fixer l'échantillon à la chaleur.

B - Coloration :

1. Déposer quelques gouttes de solution de violet de gentiane sur le frottis fixé. Laisser agir 1 minute. (Le violet de gentiane colore le cytoplasme des bactéries.)
2. Jeter l'excès de colorant dans un bécher.
3. Rincer très brièvement en faisant couler de l'eau sur la lame au-dessus du frottis (pas directement sur le frottis).
4. Déposer quelques gouttes de Lugol sur le frottis. (Le Lugol permet de fixer le violet dans les bactéries.)
5. Laisser agir 1 minute.
6. Jeter la solution de Lugol dans un bécher et rincer brièvement à l'eau courante comme précédemment décrit.
7. Décolorer en faisant couler la solution de décoloration sur la lame jusqu'à ce que le violet ne s'écoule plus du frottis (5 à 10 secondes). (La solution de décoloration contient un mélange d'alcool et d'acétone.)
8. Rincer encore une fois à l'eau.
9. Laisser sécher à l'air libre.
10. Observer au microscope, à l'objectif x40 puis x100 en ajoutant une goutte de l'huile à immersion.

Les bactéries à Gram positif ont une coloration violette alors que les bactéries à Gram négatif ont une coloration rose.

1.2.2 Test de la catalase

Certaines bactéries ont la capacité de décomposer le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en présence de l'enzyme catalase qui libère l'oxygène gazeux (**François Denis et al, 2007**)

Selon la réaction suivante :



Mode opératoire :

- Sur une lame, déposer une goutte de H_2O_2
- Étaler une colonie sur la lame à l'aide d'une anse de platine.

Le dégagement des bulles d'air signifie une catalase positive contrairement à une catalase négative.

1.3 Production de biofilm

Les biofilms bactériens sont des amas structurés de cellules bactériennes enrobés d'une matrice polymérique et attachés à une surface. Le biofilm protège les bactéries et leur permet de survivre dans des conditions environnementales hostiles. Les bactéries produisant du biofilm sont beaucoup plus résistantes aux antibiotiques. (**Yannick D.N. Tremblay et al 2012**)

Mode opératoire :

- Mettre quelques colonies bien isolées dans l'eau physiologique
- Lire la densité optique à une longueur d'onde de 540 nm.
- Déposer les bactéries dans une microplaque de titration et incubé pendant 6h à 37°C.
- Après incubation, ajouter du cristal violet à 1% dans chaque puits.
- Laisser reposer 15min à température ambiante
- On effectue 3 lavages au PBS, puis avec de l'éthyle d'alcool.
- Mettre le contenu de chaque puits dans un tube stérile qui contient de l'alcool.
- Après agitation du tube, on lit la DO à 540nm (**Maldonado et al, 2007**).

•Les souches bactériennes sont classées en trois catégories selon la DO :

- 1) **DO > 0.5** Forte production de biofilm
- 2) **0.1 < DO < 0.5** Production Moyenne de biofilm
- 3) **DO < 0.1** Faible production de biofilm

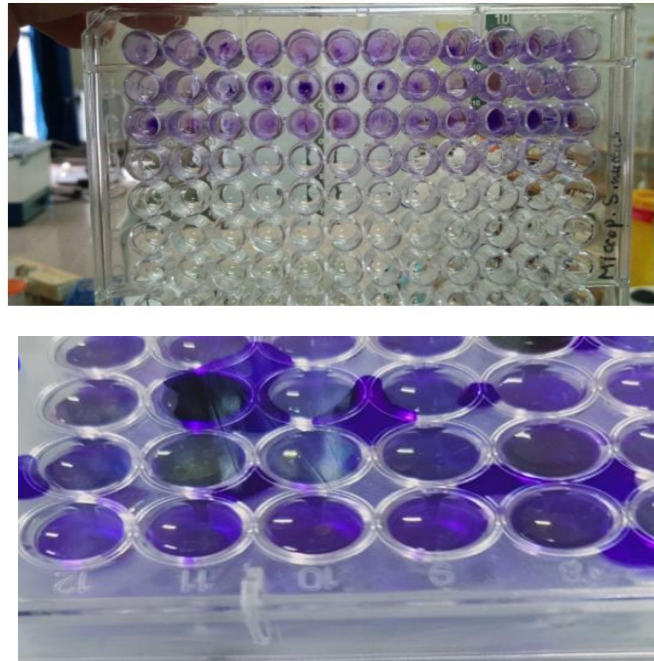


Figure 07 : Le test de biofilm.

1.4 Étude de la résistance aux antibiotiques par Antibiogramme

Un antibiogramme est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou de plusieurs antibiotiques supposés ou connus.

Mode opératoire :

1- Préparation de la suspension :

- Préparer une solution bactérienne 0,5 Mc Farland (10⁸ cellules /ml).
- L'inoculum doit être utilisé dans les 15 minutes suivant la préparation.

2- **Ensemencement :**

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne et secouer l'écouvillon contre la paroi du tube pour éliminer l'excès de liquide. Il est important de jeter l'excès de liquide pour éviter de surcharger la boîte.
- Ensemencer en stries sur toute la surface de la boîte. Répétez ce processus deux fois de plus pour écouvillonner la totalité de la surface de la gélose. Faites pivoter la boîte de 60 degrés (dans trois directions) à chaque fois. N'oubliez pas de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même et de passer l'écouvillon sur la périphérie de la gélose (pourtour de la gélose).

3- **Dépôt des disques :**

- Placer le disque d'antibiotique sur la gélose inoculée à l'aide de pinces stériles.
- Ne déplacez pas le disque une fois qu'il a été placé, car le disque se répandra rapidement.
- Ne laissez pas la boîte sur la paillasse plus de 15 minutes. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures.

4- **Lecture des boîtes :**

L'apparition d'une zone d'inhibition à la surface de la gélose, nous permet de classer les bactéries dans l'une de ces catégories : sensible, intermédiaire ou résistante en mesurant son diamètre par une règle graduée en mm (**CASFM, 2022**)

Les associations d'antibiotiques sont caractérisées par ces deux types majeurs d'interactions :

- **Synergie** : l'effet de l'association est significativement supérieur à la somme des activités de chaque antibiotique. (**É. Denes a et N. Hidri, 2009**)
- **Antagonisme** : l'association diminue l'effet de l'un ou l'autre des antibiotiques. L'activité de cette association est inférieure à la somme des effets de chaque Antibiotique. (**É. Denes a et N. Hidri, 2009**)

Tableau 02 : Liste d'antibiotiques en disque utilisés : (krystyna et Teresa, 2022 ; CASFM, 2022)

Famille	Nom de l'antibiotique	Abréviation	Charge (µg)
Béta-lactamines	Amoxiline +acide clavulanique	AMC	30
	Céfotaxime	CTX	30
	Céftazidime	CAZ	30
	Aztréoname	ATM	30
	Ampiciline	AM	10
Sulfamides	Triméthoprine	TMP	5
	Triméthoprine-sulfaméthoxazole	SXT	25
Aminosides	Amikacine	AK	30
	Gentamicine	CN	10
Quinolones	Acide nalidixique	NA	30
Tétracyclines	Tétracycline	TE	30
Glycopeptides	Vancomycine	VA	30
	Ampiciline	AMP	10

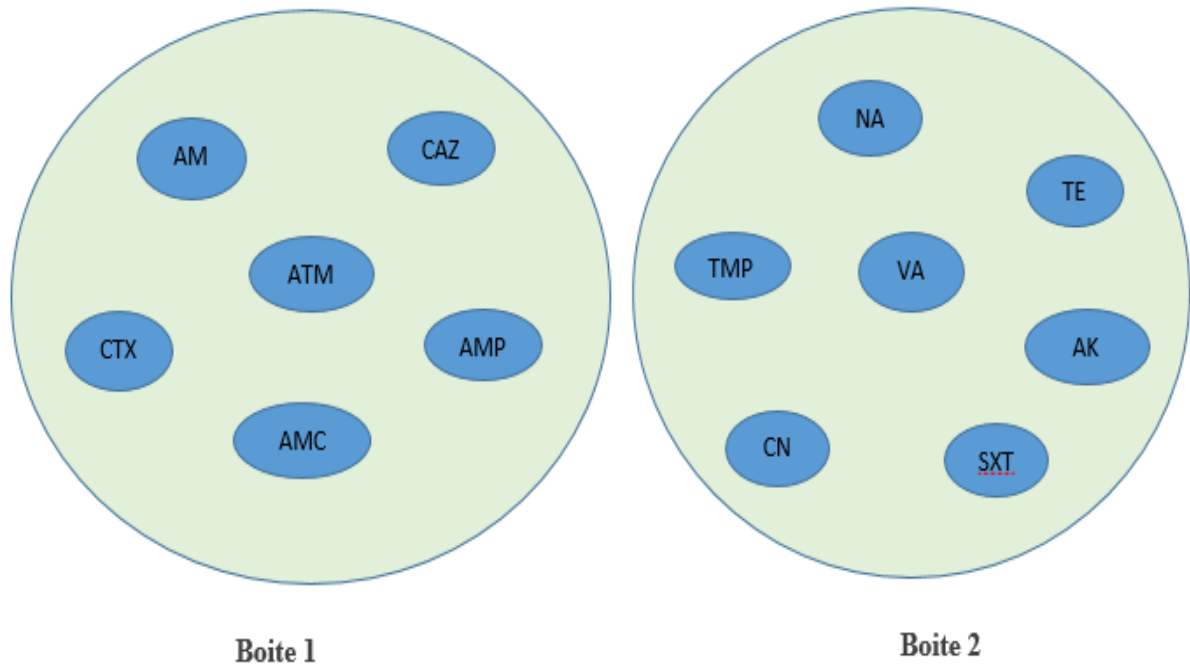


Figure 08 : Disposition des disques d'antibiotiques.

1.5 Test de l'hémolyse

Un test hémolytique évalue la capacité d'une substance à induire la destruction des globules rouges, également appelée hémolyse. Il existe de nombreux types de tests d'hémolyse, mais l'un des plus couramment utilisés est le test d'hémolyse sur gélose.

Dans ce test, des bactéries ou des substances à tester sontensemencées sur des plaques de gélose avec du sang. Si la substance testée a la capacité de provoquer une hémolyse des globules rouges, une zone claire ou décolorée se formera autour de la colonie bactérienne. Cette zone indique que les globules rouges sont lysés ou détruits.

Les tests hémolytiques sont souvent utilisés en microbiologie pour distinguer les bactéries pathogènes et non pathogènes. Certaines bactéries pathogènes produisent des enzymes appelées hémolysines qui détruisent les globules rouges et contribuent à la virulence bactérienne.

Il existe trois principaux types d'hémolyse observés dans le test de l'hémolyse :

- **Hémolyse alpha** : Il s'agit d'une hémolyse partielle où la zone autour des colonies bactériennes présente une coloration verdâtre. Cela indique une dégradation partielle de l'hémoglobine.

Chapitre II : Matériel et méthodes

- **Hémolyse bêta** : Il s'agit d'une hémolyse complète où la zone autour des colonies bactériennes est transparente. Cela indique une dégradation complète de l'hémoglobine.
- **Hémolyse gamma** : Il n'y a pas d'hémolyse observée. Aucun changement de couleur ou de transparence n'est visible autour des colonies bactériennes

Mode opératoire :

Pour faire le test il faut avoir une culture jeune, on ensemence les bactéries sur gélose Columbia contenant 5% de sang frais puis on incube à 37°C pendant 24h.

Chapitre III : Résultats et Discussion

Au cours de notre étude, des échantillons d'eau de mer et de sédiments ont été analysés ces derniers ont été récoltés en 2020, 2021 et 2022. Les résultats obtenus des différentes analyses sont cités ci-dessous :

1. Identification des entérocoques

Afin d'identifier les entérocoques, différents tests ont été effectués, sur des souches isolées à partir des plages citées précédemment, dans l'eau de mer et dans le sédiment. Les résultats obtenus sont présentés ci-dessous :

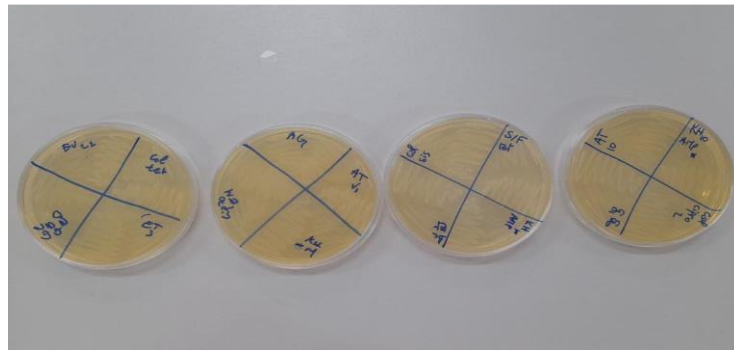


Figure 09 : Aspect des bactéries sur le milieu Slanetz.

1.1 Coloration de Gram

Après la coloration de Gram, on a observé au microscope optique grossissement x100, les souches des entérocoques isolées sous forme de cocci disposées en paire (diplocoque), ou en chaînettes de couleur violette, donc les souches sont des Gram positif.



Figure 10 : Résultat de coloration de Gram.

1.2 Test de la catalase

L'absence de dégagement des bulles d'air dans toutes les souches isolées indique une catalase négative.

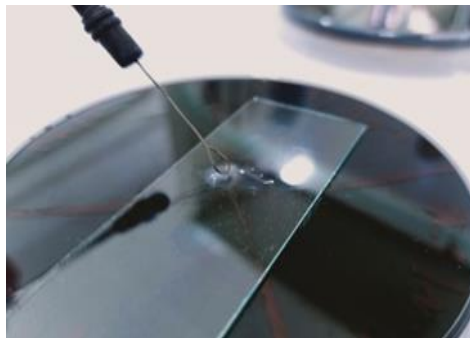


Figure 11 : Résultat du test catalase.

2. Production de biofilm

Les figures 12 et 13 résument les résultats de la production de biofilm. D'après ces résultats, presque toutes les souches étudiées ont montré une capacité à produire du biofilm.

A partir de la figure 13, on remarque que la majorité des souches étudiées sont moyennement productrice de biofilms (68 %) avec une densité optique comprise entre 0.1 et 0.5. Nos résultats sont en parfaite concordance avec ceux trouvés par Bouatrous et kara en 2022.

La DO la plus élevée est observée au niveau de la souche « SF EM » 0.74 .

Les stations « Kh zith » « kh zith3 » « col em » « kh ed zith » « kh14 amp » « Ev22 » « kh em » « fort tet » sont des souches fortes productrices de biofilms. Toutes les souches fortement productrices de biofilm ont été retrouvées à proximité de l'oued mazafran notamment au niveau des deux plages colonel Abes et Kheloufi à l'exception d'une souche retrouvée au niveau de la plage la sirène. De là nous concluons que la forte charge en polluants de l'oued mazafran a une conséquence directe sur la virulence de ces entérocoques.

Nos résultats peuvent être comparés à ceux d'une étude rétrospective menée en Italie, où il a été déterminé que 80 % des isolats cliniques *d'E. faecalis* et 48 % des isolats *d'E. faecium* formaient des biofilms (**Baldassarri L et al., 2001**) Une étude ultérieure menée dans la même région géographique a révélé que 96% des 52 *E. faecalis* provenant d'infections orthopédiques ont produit des biofilms in vitro (**Baldassarri L et al., 2006**).

Nos résultats concordent également avec ceux d'OSMAN et al (2019) qui ont rapporté que toutes les souches d'entérocoques isolés ont la capacité de former des biofilms.

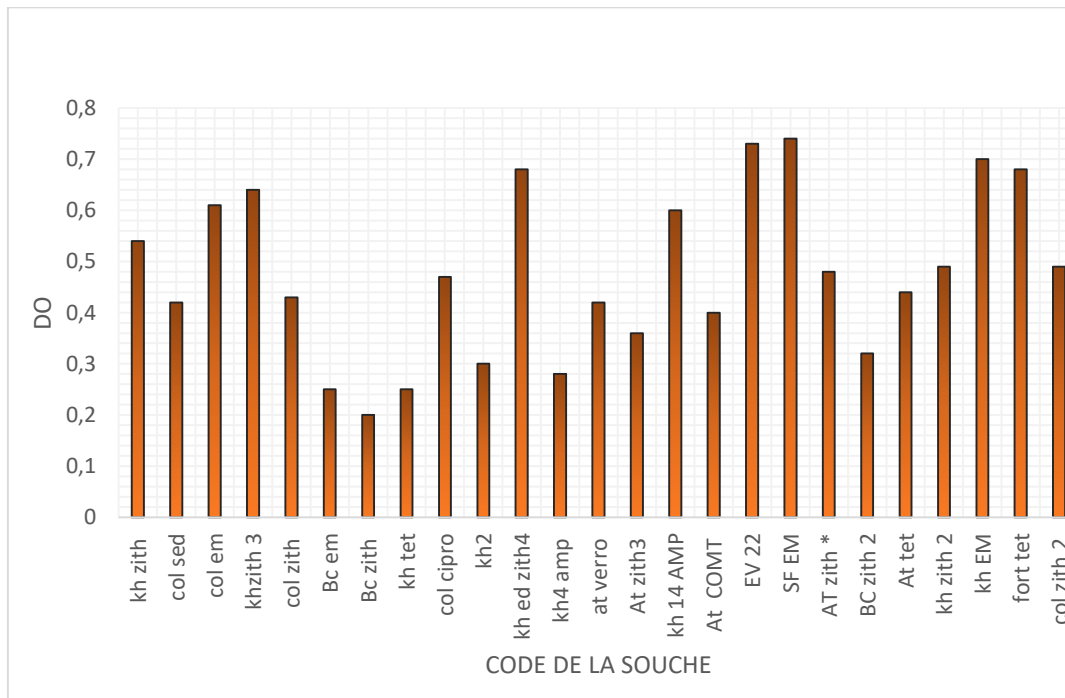


Figure 12 : Résultats de test de production de biofilm par les souches étudiées.

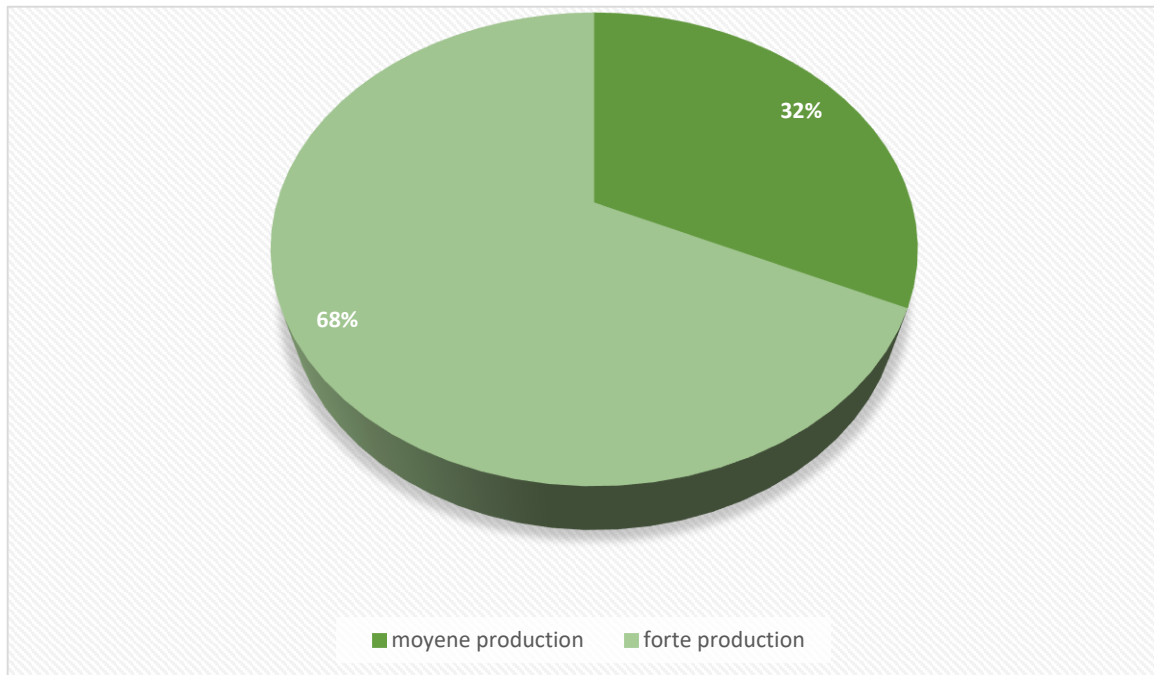


Figure 23 : Pourcentage de production de biofilm.

3. L'antibiogramme :

D'après la figure 14, les isolats montrent une sensibilité de haut niveau à la vancomycine 84 %. Nos résultats sont en concordances avec ceux décrits par une étude multicentrique française qui a rapporté qu'uniquement deux souches sur 1310 souches *d'Enterococcus faecalis* sont résistantes à la vancomycine. (Leclercq, 1994 ; Streff et al., 1996). Et également avec les résultats de 2012, mené au CHU de Annaba où le taux de résistance à la vancomycine était faible (3,2%) (Djahmi et al., 2012).

Nos résultats sont également en adéquation avec ceux de Rekik (2020). Les résultats obtenus montrent que toutes les souches isolées ont montré une sensibilité à la Vancomycine.

D'après la figure 14, les isolats montrent également une résistance de 60% à la Tétracycline (TE) qui va avec le résultat obtenu par (A. Younes et al, 2022) 86.66%.

Une résistance a été enregistrée pour la (AMC), (AK), (CN), (TMP), (SXT), (VA) avec des pourcentages respectivement de 4%, 36%, 4%, 24% 44%, 8%.

Les souches avec une zone d'inhibition ≥ 14 mm sont considérées sauvages avec une résistance naturelle de bas niveau. Une synergie avec les pénicillines ou les glycopeptides est attendue si la souche est sensible à ces classes d'antibiotiques. (CASFM 2023)

Pour la triméthoprim-sulfaméthoxazole (SXT), nos résultats montrent une résistance de 44%. Ce résultat est en adéquation avec ceux de Chaachoua qui a trouvé une résistance de 36%. (Chaachoua ,2021). Et ceux de (Kacimi amel et Ouazzi thiziri, 2017) avec un pourcentage de 21 %.

Le taux de résistance le plus bas a été observé vis-à-vis de l'ampicilline (AMP) (AML) (CTX) et (CAZ).

Nos résultats montrent aussi des taux de résistance très faible à la céfotaxime par rapport à 63% retrouvé par Adel M. (Adel M et al, 2017). Et 83% retrouvé par Rekik en 2020. (Rekik M., 2020).

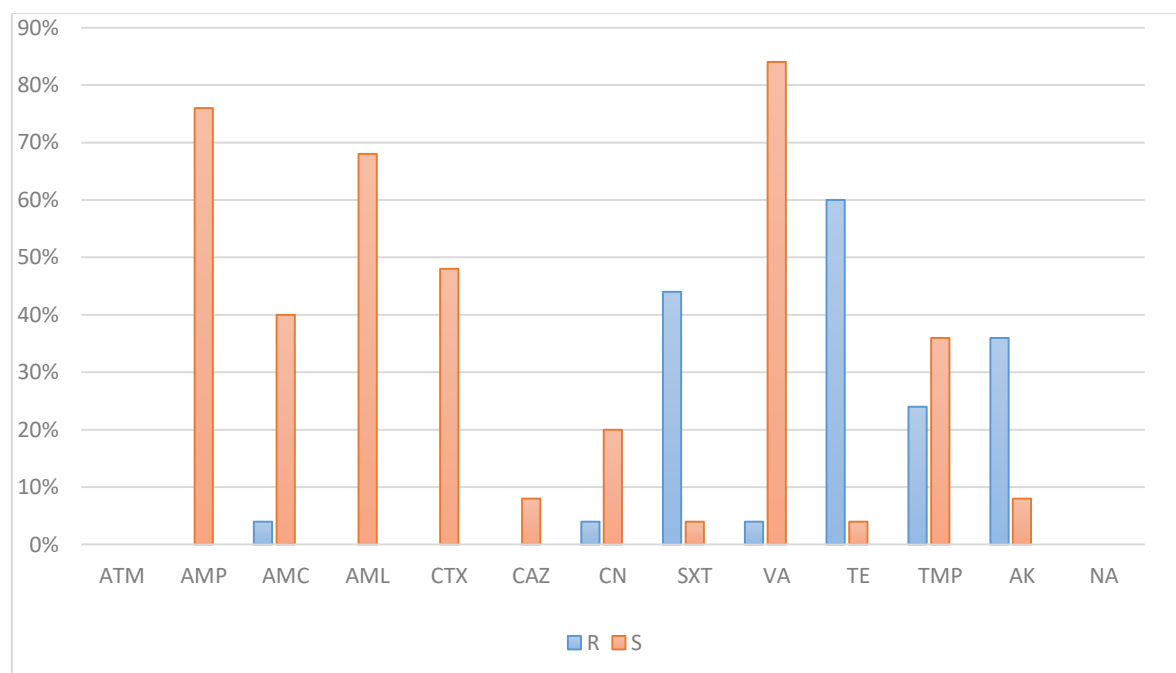


Figure 14 : Prévalence de la résistance de souches d'entérocoques isolées aux antibiotiques.

Chapitre III : Résultats et Discussion

Tableau 03 : Résultats de l'antibiogramme des souches d'entérocoques étudiées.

	ATM	AMP	AMC	AML	CTX	CAZ	CN	SXT	VA	TE	TMP	AK	NA
KhZith	0	27S	0	30S	0	0	0	0	20S	15 R	20S	0	0
Ev22	0	28S	14S	35S	25S	0	10 S	0	20S	15 R	0	0	0
ColZith	0	30S	15S	33S	28S	0	10 S	0	10R	15 R	20S	20R	0
BcEm	0	0	0	0	0	0	0	20R	26S	18 R	20S	0	0
Kh14Am p	0	0	0	12S	0	0	0	5S	20S	15 R	20S	0	0
ATcomt	0	34S	16S	38S	20S	0	10 S	0	25S	15 R	0	15R	0
BcZith2	0	23S	0	30S	15S	0	0	0	20S	15 R	20S	0	0
ATtet	0	28S	0	36S	30S	0	0	0	20S	10 R	24R	5S	0
ColEm	0	24S	0	30S	0	0	0	0	20S	15 R	0	0	0
Khzith3	0	28S	8R	34S	24S	0	0	10R	15S	15 R	0	15R	0
BcZith	0	23S	0	33S	0	0	0	20R	20S	0	27R	0	0
ATZith*	0	28S	0	24S	0	0	0	15R	23S	0	20S	13R	0
Fort tet	0	26S	12S	30S	0	0	0	0	20S	15 R	20S	0	0
Colsed	0	35S	13S	36S	27S	0	26 S	0	19S	20 R	22S	13S	0
ATZith	0	30S	15S	39S	26S	0	0	15R	25S	12 R	0	15R	0
Khtet	0	29S	19S	40S	26S	0	5R	15R	23S	0	25R	14R	0

Chapitre III : Résultats et Discussion

Colcipro	0	0	0	0	0	0	10 S	20R	20S	5R	15S	6S	0
ATverro	0	24S	0	0	0	0	0	20R	20S	15 R	29R	0	0
KhEDZit h4	0	27S	0	38S	0	0	14 S	20R	23S	34 S	22S	16R	0
KhZith4	0	25S	14S	0	32S	23S	13 S	0	27S	0	0	10R	0
ColZith2	0	26S	12S	0	32S	22S	0	20R	24S	20 S	0	10R	0
Kh4Amp	0	0	0	0	0	0	10 S	25R	20S	15 R	25R	0	0
KhEm	0	27S	21S	38S	22S	0	10 S	0	20S	0	30R	0	0
Kh2	0	0	0	0	0	0	6R	13R	20S	16 R	19S	18R	0

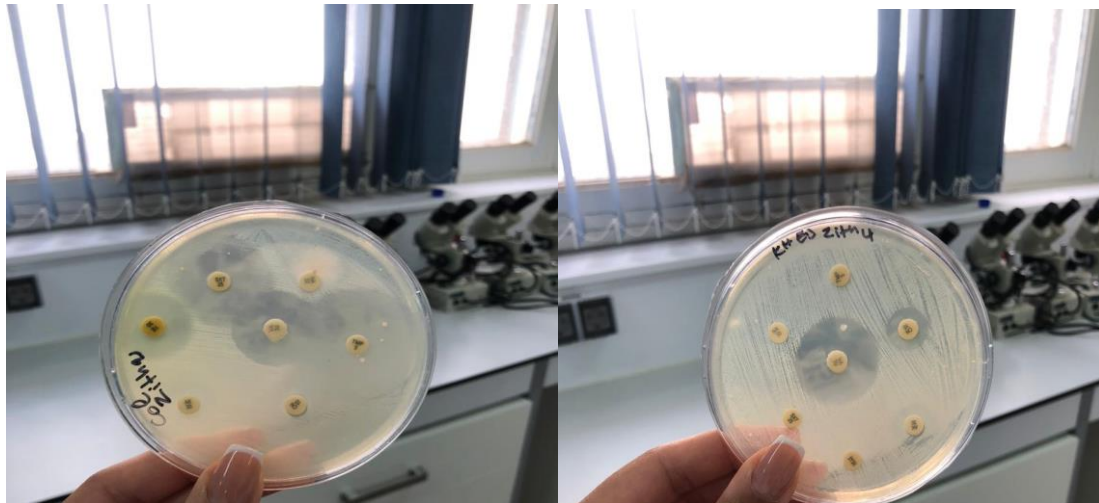


Figure 15 : Aspect de l'antibiogramme d'une souche isolée d'eau de mer.

4. Le test de l'hémolyse

Sur un total de 25 isolats de souches obtenu, l'identification phénotypique de ces isolats ensemencés sur gélose au sang humain, a permis de distinguer trois profils d'hémolyse représentés dans la figure 14 :

- 16 isolats alpha- hémolytique.
- 8 isolats gamma- hémolytique.
- 1 isolat beta-hémolytique.

La caractérisation phénotypique des souches d'*Enterococcus* nous a permis de mettre en évidence certains facteurs de virulence dans les isolats. Nos résultats indiquent qu'uniquement une seule souche d'*Enterococcus spp* est β hémolytiques (4 %) « BC zith ».

Les travaux de Ngbede et al en 2017, ont montré que 14,6% des souches étaient capables de produire de l'hémolysine. Dans une autre étude réalisée par Semedo-Lemsaddek et al (2021), Aucune souche d'*Enterococcus haemolyticus* n'a été détectée.

Nos résultats concordent avec ces résultats, car il y a une faible présence de souches d'entérocoques β hémolytiques.

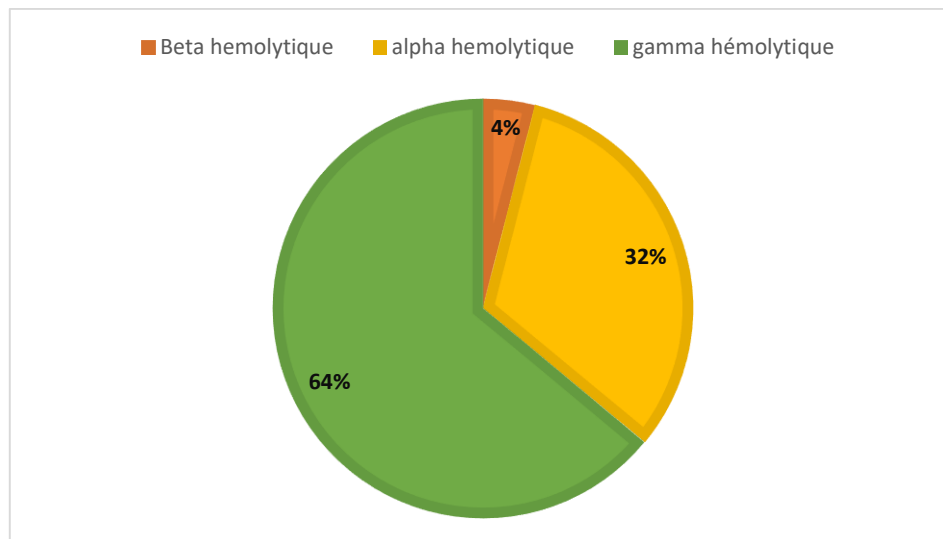


Figure 16 : Résultats de test de l'hémolyse.

5. Discussion générale

Les entérocoques sont intrinsèquement résistants à plusieurs antibiotiques, ce qui limite systématiquement le choix d'antibiotiques pour ces organismes ; *Enterococcus faecalis* vient en premier, suivi d'*Enterococcus faecium*. Le rôle d'*Enterococcus faecalis* dans les infections à entérocoques humaines sont généralement associées à des infections nosocomiales, c'est-à-dire des infections contractées à l'hôpital ou dans d'autres établissements de soins de santé. *Enterococcus faecalis* est l'un des agents pathogènes les plus courants responsables des infections urinaires, en particulier chez les patients cathétérisés ou atteints de troubles urinaires sous-jacents. Il peut coloniser la vessie et se propager aux voies urinaires, provoquant des tels symptômes que des brûlures lors de la miction, des envies manifestées d'uriner et des douleurs pelviennes. (Sujatha R. et al. 2007).

Les entérocoques sont des micro-organismes présents dans le sol, les surfaces d'eau, les plantes et les légumes, ainsi que dans les aliments, et peuvent provoquer des infections telles que l'endocardite, la bactériémie, les voies urinaires et le botulisme néonatal. Leur capacité à développer une résistance à plusieurs antibiotiques peut être une des raisons de l'augmentation des infections nosocomiales à entérocoques. (Luciana Frannetto Maya et al., 2013)

Les entérocoques sont naturellement résistants à divers types d'antibiotiques, y compris les aminoglycosides et les bêta lactamines (à de faibles niveaux), ces derniers sont moyennement résistants aux sulfamides.

De plus, une résistance dite acquise (résistance de haut niveau) se produit lorsque des classes majeures d'antibiotiques tels que les tétracyclines et les glycopeptides sont utilisés en combinaison. (Cattoir et Leclercq 2013).

La résistance des entérocoques aux β -lactamines repose sur deux mécanismes principaux : la résistance extrinsèque par la production d'enzymes (β -lactamase, qui hydrolyse le cycle β -lactame de la pénicilline pour l'inactiver), et la modification de la pénicilline, mécanisme de résistance intrinsèque. Binding protein (PLP) ou en acquérant un nouveau PLP. (Quincampoix, J.L. Mainardi, 2001).

Nos résultats en ce qui concerne la vancomycine montrent que toutes les souches isolées ont une sensibilité à la Vancomycine. De point de vue clinique, le faible taux de résistance à l'Ampicilline et à la Vancomycine semble être favorable, parce que la résistance à ces molécules réduit considérablement les traitements thérapeutiques dans les infections à entérocoques

Chapitre III : Résultats et Discussion

(Klare et al. 2003). La résistance à la vancomycine est due à l'acquisition de la souche de l'opéron Van, codant pour des enzymes impliquées dans la synthèse de précurseurs du peptidoglycane de faible affinité pour la vancomycine **(Cattoire et Leclercq, 2010).**

La résistance des entérocoques aux aminosides, en particulier à la gentamicine et à la streptomycine, est essentielle en raison de leur utilisation (en association avec l'ampicilline) dans le traitement empirique des infections à entérocoques **(Klein et al.1998 ; Arias et al.2010 ; Kristich et al. 2011 ; Werner, 2012).**

Les entérocoques sont capables d'acquérir une résistance aux antibiotiques par échange chromosomique, transfert de transposons ou de plasmides, ou mutations, rendant difficile la mise en place de mesures thérapeutiques appropriées. **(Fateme Shahi et al, 2020).**

Les résultats obtenus dans notre étude montrent une résistance de 18% pour l'amikacine (AK) et 20% pour la gentamicine (CN).

En ce qui concerne le profil de résistance des souches d'entérocoques aux antibiotiques, l'antibiogramme ne montre aucune résistance par rapport à l'acide nalidixique contrairement à la tétracycline 60%. Cette dernière est due à une protection de la cible ribosomale par le gène tet M ou par un efflux. **(Garcia Solache M. et Rice I. B., 2014).**

Conclusion

Conclusion

Cette étude avait comme objectifs : l'évaluation de la résistance aux antibiotiques et la virulence des souches d'*Enterococcus* au niveau de 6 plages de la cote algéroise, cette dernière est faite via la mise en évidence de quelques facteurs de virulence tels que l'hémolyse et la formation de biofilm ainsi que l'étude de la sensibilité des isolats aux antibiotiques

L'étude de la sensibilité des souches isolées vis-à-vis quelques de molécules d'antibiotiques a révélé l'existence de fortes résistances vis-à-vis de Tétracycline (TE). De faibles résistances à l'encontre des autres antibiotiques ont été observées. Un très faible taux de résistance à la vancomycine 8%. Presque toutes les souches étudiées sont multi résistantes aux antibiotiques.

L'étude de la résistance a montré également que les bactéries résistantes ont été retrouvées essentiellement au niveau de la plage Colonel Abbes. Il existe donc une corrélation entre le niveau de résistance et l'état du milieu en rapport avec les apports anthropiques.

L'acquisition de gènes par les bactéries leur permet de persister dans un milieu aquatique hostile. Le contact permanent avec l'homme permet de propager de nombreuses maladies pour lesquelles la résistance peut conduire à l'échec du traitement.

Une souche β -hémolytiques a été retrouvée et presque la totalité (90%) des souches avaient la capacité de former moyennement des biofilms in vitro.

En perspective, il est important de **caractériser génotypiquement** les mécanismes de résistance et de virulence chez ces souches afin de comprendre leur mécanisme de dissémination.

D'après notre étude on peut classer les entérocoques en souches partiellement virulentes et d'autres qui le sont moins. Ces dernières peuvent avoir un intérêt dans des applications biotechnologiques telles que le traitement de l'eau et aussi pour leur potentiel probiotique.

Références bibliographiques

6. Bibliographie

- Adel, M., El-Sayed, A et al .(2017).** Effect of potential probiotic *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* on growth performance, intestinal microbiota, digestive enzyme activities, and disease resistance of *Litopenaeus vannamei*. *Probiotics and antimicrobial proteins*, P.P 150 ,156.
- Aguilar Galvez, A. C., Dubois Dauphin, et al. (2012).** Les entérocoques: avantages et inconvénients en biotechnologie (synthèse bibliographique). *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*,
- Aguilar-Galvez, A., Guillermo, et al. (2011).** The influence of growth conditions on enterocin-like production by *Enterococcus faecium* CWBI-B1430 and *Enterococcus mundtii* CWBI-B1431 isolates from artisanal Peruvian cheeses. *Annals of microbiology*, P.P 955,964.
- Ahmed, F. Z., Baig, M. W et al . (2011).** *Enterococcus cecorum* aortic valve endocarditis. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 70(4) P.P 525-527.
- Baldassarri, L., Cecchini, R (2001).** *Enterococcus* spp. produces slime and survives in rat peritoneal macrophages. *Medical microbiology and immunology*, 190, P.P 113,120.
- Bittencourt de Marques, E., & Suzart, S. (2004).** Occurrence of virulence-associated genes in clinical *Enterococcus faecalis* strains isolated in Londrina, Brazil. *Journal of medical microbiology*, 53(11), P.P 1069,1073.
- Buydens, P., & Debeuckelaere, S. (1996).** Efficacy of SF 68 in the treatment of acute diarrhea a placebo-controlled trial. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 31(9), P.P 887,891.
- Carle, S. (2009).** La résistance aux antibiotiques: un enjeu de santé publique important. *Pharmactuel*, 42(2),P.P 6,21.
- 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.
- Champagne, C. P., Gardner, N. J. (2008).** Effect of storage in a fruit drink on subsequent survival of probiotic lactobacilli to gastro-intestinal stresses. *Food Research International*, 41(5), 539,543.
- Chow, J. W., Kuritza et al. (1993).** Clonal spread of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* between patients in three hospitals in two states. *Journal of Clinical Microbiology*, 31(6), 1609,1611.
- Costerton, J. W., Cheng, K. J., (1987).** Bacterial biofilms in nature and disease. *Annual Reviews in Microbiology*, 41(1), P.P 435,464.
- Courvalin, P. (2006).** Vancomycin resistance in gram-positive cocci. *Clinical infectious diseases*, 42(Supplement_1), S25-S34.

Références bibliographiques

- Del Papa, M. F., Hancock et al . (2007).** Full activation of *Enterococcus faecalis* gelatinase by a C-terminal proteolytic cleavage. *Journal of bacteriology*, P.P 8835,8843.
- Denes, É., & Hidri, N. (2009).** Synergie et antagonisme en antibiothérapie. *Antibiotiques*, 11(2), 106,115.
- Denis, F., Ploy, M et al. (2016).** *Bactériologie médicale: techniques usuelles*. Elsevier Health Sciences.
- Doublet, B., Bousquet-Mélou, A., Madec, J. Y. (2012).** Le concept «One Health» en antibiorésistance et les flux de gènes. *Innovations agronomiques*,
- Eaton, T. J., Gasson, M. J. (2001).** Molecular screening of *Enterococcus* virulence determinants and potential for genetic exchange between food and medical isolates. *Applied and environmental microbiology*, .
- Euzéby, J. P. (1997).** List of Bacterial Names with Standing in Nomenclature: a folder available on the Internet. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, .
- Ferrero, L., Cameron, B., (1994).** Cloning and primary structure of *Staphylococcus aureus* DNA topoisomerase IV: a primary target of fluoroquinolones. *Molecular Microbiology*, P.P 641,653.
- Francois-Ngo, S., Mainardi, J. L. (1998).** *Enterococcus faecalis*: aspects bactériologique, épidémiologique et thérapeutique. *Feuillets de biologie*, P.P 21,26.
- García-Solache, M., Rice, L. B. (2019).** The *Enterococcus*: a model of adaptability to its environment. *Clinical microbiology reviews*, P.P 10,1128.
- GASMI, K., SAHRAOUI, H.** Antibiorésistance des souches bactériennes impliquées dans les infections du pied diabétique.
- Hammami, F., Koubaa, M et al . (2020).** Paroxysmal Atrial Fibrillation Induced by Ciprofloxacin: A Rare Adverse Effect. *Journal of Pharmaceutical Care*, P.P 90,92.
- Haslay, C., & Leclerc, H. (1993).** *Microbiologie des eaux d'alimentation*. Technique & Documentation.
- Huycke, M. M., Spiegel, C. A (1991).** Bacteremia caused by hemolytic, high-level gentamicin-resistant *Enterococcus faecalis*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, P.P 1626,1634.
- Huycke, M. M., Spiegel, C. A., & Gilmore, M. S. (1991).** Bacteremia caused by hemolytic, high-level gentamicin-resistant *Enterococcus faecalis*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 35(8), 1626,1634.
- Isnard, C. (2017).** *Enterococcus spp.: entre pathogènes opportunistes et probiotiques* (Doctoral dissertation, Normandie Université).

Références bibliographiques

- Jett, B. D., Huycke, M. M., et al.(1994).** Virulence of enterococci. *Clinical microbiology reviews*, P.P 462,478.
- Kayser, F. H. (2003).** Safety aspects of enterococci from the medical point of view. *International journal of food microbiology*, P.P 255,262.
- Klein, G. (2003).** Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastro-intestinal tract. *International journal of food microbiology*, P.P 123,131.
- K., Higashide, M., Ohta, T. (2005).** Whole genome sequence of *Staphylococcus saprophyticus* reveals the pathogenesis of uncomplicated urinary tract infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, P,P 13272,13277.
- Leblanc, D. J. (2006).** Enterococcus. *Prokaryotes. Springer Science+ Business Media, LLC. New York*, 4, P.P 175,204.
- Zeng, B. B., Singleton, S. F et al (2005).** A Molecular Target for Suppression of the Evolution of Antibiotic Resistance: Inhibition of the *Escherichia coli* RecA Protein by N 6-(1-Naphthyl)-ADP. *Journal of medicinal chemistry*, P.P 5408,5411.
- Lobel, B., Soussy, et al . (2007).** Résistance bactérienne aux antibiotiques. *Les infections urinaires*, P.P 21,46.
- Luciana, F. M., Amanda, G., et al(2017).** Isolation and characterization of potential probiotic enterococci strains from soft cheese flora. *African Journal of Microbiology Research*, P.P 482-487.
- Maldonado, N. C., Silva de Ruiz et al (2007).** A simple technique to detect *Klebsiella* biofilm-forming-strains. Inhibitory potential of *Lactobacillus fermentum* CRL 1058 whole cells and products. *Communicating current research and educational topics and Trends in Applied Microbiology*, P.P 52,59.
- Marciňáková, M., Simonová, M et al . (2004).** Probiotic properties of *Enterococcus faecium* EF9296 strain isolated from silage. *Acta Veterinaria Brno*, P.P 513,519.
- Martin, J. D., & Mundt, J. O. (1972).** Enterococci in insects. *Applied microbiology*, P.P 575,580.
- Messai, Y., Benhassine, T et al (2006).** Prevalence of β -lactams resistance among *Escherichia coli* clinical isolates from a hospital in Algiers. *Rev Esp Quimioter*, P.P 144-51.
- Mundy, L. M., Sahm, et al. (2000).** Relationships between enterococcal virulence and antimicrobial resistance. *Clinical microbiology reviews*, P.P 513,522.
- Nauciel, C., & Vildé, J. L. (2005).** Principales familles d'antibiotiques et leur mode d'action. *Bactériologie médicale*, 49,58.

Références bibliographiques

- Djahmi, N., et al (2012).** Prevalence and characterization of extended spectrum β -lactamases in Klebsiella-Enterobacter-Serratia group bacteria, in Algeria. *Médecine et maladies infectieuses*, P.P 20,29.
- Omar, N. et al (2004).** Functional and safety aspects of enterococci isolated from different Spanish foods. *Systematic and Applied Microbiology*, P.P 118,130.
- Inoue, M., Yamagishi, J. I. (2006).** Topoisomerase mutations and efflux are associated with fluoroquinolone resistance in Enterococcus faecalis. *Journal of medical microbiology*, P.P 1395,1401.
- Quincampoix, J. C., & Mainardi, J. L. (2001).** Mécanismes de résistance des cocci à Gram positif. *Réanimation*, P.P 267-275.
- Sánchez, J., Basanta, A .et al. (2007).** Antimicrobial and safety aspects, and biotechnological potential of bacteriocinogenic enterococci isolated from mallard ducks (*Anas platyrhynchos*). *International journal of food microbiology*, P.P 295-305.
- Schleifer, K. H., & Kilpper-Bälz, R. (1984).** Transfer of Streptococcus faecalis and Streptococcus faecium to the genus Enterococcus nom. rev. as Enterococcus faecalis comb. nov. and Enterococcus faecium comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, P.P 31,34.
- Sherman, J. M. (1937).** The streptococci. *Bacteriological reviews*,
- Sujatha, S. Praharaj, I. (2012).** Glycopeptide resistance in gram-positive cocci: a review. *Interdisciplinary perspectives on infectious diseases*, 2012.
- Thiercelin, M. E., & Jouhaud, L. (1899).** Sur un diplocoque saprophyte de l'intestin susceptible de devenir pathogene. *CR Soc. biol.* ,
- Todorov, S. D., Von Mollendorff, et al (2009).** Evaluation of Potential Probiotic Properties of Enterococcus mundtii, Its Survival in Boza and in situ Bacteriocin Production. *Food Technology & Biotechnology*.
- Tremblay, C. L., Letellier, A., et al (2012).** Antibiotic-resistant Enterococcus faecalis in abattoir pigs and plasmid colocalization and cotransfer of tet (M) and erm (B) genes. *Journal of food protection*, P.P 1595,1602.
- Tremblay, Y. D., Lamarche,. (2013).** Characterization of the ability of coagulase-negative staphylococci isolated from the milk of Canadian farms to form biofilms. *Journal of Dairy Science*, P.P 234,246.
- Wilson, D. N. (2014).** Ribosome-targeting antibiotics and mechanisms of bacterial resistance. *Nature Reviews Microbiology*, P.P 35,48.

Références bibliographiques

Woodford, N. E. I. L., Morrison, D., et al (1993). Application of DNA probes for rRNA and vanA genes to investigation of a nosocomial cluster of vancomycin-resistant enterococci. *Journal of Clinical Microbiology*, P.P 653,658.

Annexes

7. Annexes

Tableau 04 : Les composants des milieux de cultures.

Milieu Slanetz	
Peptone	20g
Extrait de levure	5g
Glucose	2g
Monohydrogénophosphate de potassium	4g
Aside de sodium	0,4g
Milieu BEA	
Tryptone	17g
Peptone	3g
Extrait de levure	5g
Bile déshydratée de bœuf	10g
NaCl	5g
Citrate de sodium	1g
Esculine	1g
Citrate de fer ammoniacal	0,1g
Acide de sodium	0,25g
Gélose	15g
Bouillon BHIB	
Digestion enzymatique de tissus animaux	10g
Infusion De Cerveille De Veau Déshydratée	12,5g
Infusion de coeur de boeuf déshydraté	5g
Glucose	2g
Chlorure de sodium	5g
Hydrogénophosphate disodique, anhydre	2,5g
Milieu muller-hinton	
Hydrolysats acide de caséine (peptone)	17,5g
Extrait de viande	2g
Amidon	1,5g
Calcium	20 à 25mg
Magnésium	10 à 12,5mg

Agar	15g
Eau distillée	1L
pH	7,4 +/- 0,2
Milieu Columbia	
Polypeptone	17g
Peptone pancréatique de cœur	3g
Amidon de sodium	1g
Chlorure de sodium	5g
Extrait de levure	3g
Agar	13,5g
pH	7,3 +/- 0,2

Tableau 05 : code et abréviation des zones étudiées.

Station	Code
Kheloufi	KH
Bateau cassé	BC
Sidi Fredj	SF
Colonel Abbas	COL
Ain Taya	AT
Fort de l'eau	Fort

Tableau 06 : code et abréviation des antibiotiques.

Antibiotiques	Code
zithromax	Zith
tetracycline	Tet
ciproflaxine	Cipro
ampiciline	Amp
verromycine	Verro

Résumé

Les entérocoques sont des bactéries utilisées dans la transformation des aliments depuis des siècles. Cependant, ce sont tous des marqueurs de contamination fécale, *E. faecalis* et *E. faecium* sont les espèces les plus courantes.

La résistance aux antibiotiques des souches isolées a été étudiée par diffusion en disque sur gélose Mueller-Hinton et la virulence été étudiée par le test biofilm et d'hémolyse.

L'objectif principal de l'étude était de caractériser la virulence des entérocoques isolés en évaluant leur capacité à provoquer des infections chez l'homme ou d'autres organismes marins. Pour cela, on a utilisé des techniques de laboratoire pour détecter et analyser les facteurs de virulence spécifiques des entérocoques.

En outre, on a également évalué la résistance aux antibiotiques des entérocoques isolés dans le milieu marin. Cette partie de l'étude visait à déterminer si ces bactéries présentaient des mécanismes de résistance aux antibiotiques, ce qui pourrait avoir des implications importantes pour la santé publique et l'environnement.

Les résultats de l'étude ont révélé que les entérocoques isolés dans le milieu marin présentaient une variété de facteurs de virulence, ce qui suggère qu'ils pourraient potentiellement causer des infections chez l'homme. De plus, plusieurs souches d'entérocoques ont montré une résistance aux antibiotiques, ce qui indique la présence de mécanismes de résistance dans ces bactéries.

En conclusion, ce travail met en évidence l'importance de comprendre la virulence et la résistance aux antibiotiques des entérocoques isolés dans le milieu marin. Ces résultats soulignent la nécessité de surveiller de près ces bactéries dans l'environnement marin, afin de prévenir la propagation de souches résistantes aux antibiotiques et de minimiser les risques pour la santé publique.

Abstract :

Enterococci have been used in food processing for centuries. However, these are all markers of fecal contamination, with *E. faecalis* and *E. faecium* which are the most common species.

Antibiotic resistance of isolated strains was studied by disk diffusion on Mueller-Hinton agar and virulence was studied by biofilm and hemolysis test.

The main objective of this study was to characterize the virulence of isolated enterococci by assessing their ability to cause infections in humans or other marine organisms. Laboratory techniques were used to detect and analyze the specific virulence factors of enterococci.

In addition, antibiotic resistance of enterococci isolated in the marine environment was also assessed. The purpose of this part of the study was to determine whether these bacteria had antibiotic resistance mechanisms, which could have important implications for public health and environment.

The results of the study revealed that enterococci isolated in the marine environment had a variety of virulence factors, suggesting that they could potentially cause infections for humans. In addition, several strains of enterococci have shown resistance to antibiotics, indicating the presence of resistance mechanisms in these bacteria.

In conclusion, this work highlights the importance of understanding the virulence and antibiotic resistance of enterococci isolated in the marine environment. These results highlight the need to monitor these bacteria closely in the marine environment, in order to prevent the spread of antibiotic-resistant strains and minimize risks to public health.

الملخص:

E. تم استخدام المكورات المعوية في تجهيز الأغذية لعدة قرون. ومع ذلك، فهذه كلها علامات للتلوث البرازي، مع كون أكثر الأنواع شيوعاً *E. faecium* و *faecalis*.

Mueller-Hinton ag تمت دراسة مقاومة المضادات الحيوية للسلاسل المعزولة عن طريق انتشار القرص على .ودراسة الفوعة عن طريق اختبار الغشاء الحيوي وانشلال الدم

كان الهدف الرئيسي للدراسة هو وصف ضراوة المكورات المعوية المعزولة من خلال تقييم قدرتها على إحداث عدوى في البشر أو الكائنات البحرية الأخرى. تم استخدام تقنيات المختبر لاكتشاف وتحليل عوامل الفوعة المحددة للمكورات المعوية

بالإضافة إلى ذلك، تم أيضًا تقييم مقاومة المضادات الحيوية للمكورات المعوية المعزولة في البيئة البحرية. كان الغرض من هذا الجزء من الدراسة هو تحديد ما إذا كانت هذه البكتيريا تحتوي على آليات مقاومة للمضادات الحيوية، والتي يمكن أن يكون لها آثار مهمة على الصحة العامة والبيئة

كشفت نتائج الدراسة أن المكورات المعوية المعزولة في البيئة البحرية لديها مجموعة متنوعة من عوامل الضراوة، مما يشير إلى أنها يمكن أن تسبب عدوى في البشر. بالإضافة إلى ذلك، أظهرت العديد من سلالات المكورات المعوية مقاومة للمضادات الحيوية، مما يشير إلى وجود آليات مقاومة في هذه البكتيريا

في الختام، تسلط هذه الورقة الضوء على أهمية فهم ضراوة ومقاومة المضادات الحيوية للمكورات المعوية المعزولة في البيئة البحرية. تسلط هذه النتائج الضوء على الحاجة إلى مراقبة هذه البكتيريا عن كثب في البيئة البحرية، من أجل منع انتشار السلالات المقاومة للمضادات الحيوية وتقليل المخاطر على الصحة العامة