

*République Algérienne Démocratique et Populaire*

*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*

**Université A. MIRA - Bejaia**

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département de Microbiologie**  
**Filière : Sciences biologiques**  
**Option : Microbiologie moléculaire et médicale**



Mémoire de Fin de Cycle  
En vue de l'obtention du diplôme

**MASTER**

*Thème*

***Isolement et caractérisation des  
souches d'entérocoques  
multirésistantes en clinique au niveau  
de EPH Mohamed Chaabani.***

Présenté par :

**DOUIDA Yamina & ABDELHAKEM Sabrina**

Soutenu le : 21 Juin 2017

Devant le jury composé de :

Mme	BENACHOUR K..	MAA	Présidente
M.	LADJOUZI R.	MCB	Encadreur
M.	ADJEBLI A.	MCB	Examineur

**Année universitaire : 2016 / 2017**

## Remerciements

*Nous tenons tout d'abord à remercier grandement notre encadreur Monsieur Ladjouzi Rabia pour sa disponibilité et ses précieux conseils.*

*On remercie également les examinateurs pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Nous voudrions remercier aussi Mme Zargat chef de service de laboratoire de l'hôpital de EL-MENIA , Melle Benkina, Melle hamza, Mme khiera, Melle Moussaoui, Mme Houria qui nous aident dans le pratique par ses expériences.*

## Dédicaces 1

*Je dédie ce mémoire :*

*A mes **chers parents** ma mère et mon père pour leur patience, leur amour, leur soutien et leurs encouragements.*

*A mon **oncle**, qui m'a encouragé à aller de l'avant.*

*A mes **sœurs** (Sara, Fatima, Zahia et Nada) et mes **frères** (Amine, Hamada Adem et Mohammed T).*

*A ma **copine** dans ce travail Sabrina.*

*A toute ma **famille**, mes **voisins**, mes **amies** ( Soumia, Amina, Amina, Lolo, Samiha, Fifi, Ilham, Toto, Abir, Imane, Fatoma, Hadjer , Aicha, Hachemi, M.amine, Said et tous... etc.).*

*A toutes les personnes que j'aime.*

*Une spéciale dédicace à ma **grande mère** (Yamina) Allah yerhamha.*

**Yamina**

## Dédicaces 2

*Je dédie ce travail :*

*A mon père qui sans lequel je n'aurais jamais repris mes études.*

*A la source de l'amour ma mère.*

*A mes frères (Walid, Adnan, Allo) et mes sœurs (Hadjer, Loubna, Aya).*

*A ma famille, mes amies.*

*A ma copine Yamina.*

***Sabrina***

## Table des matières

<b>Dédicaces 1</b> .....	
<b>Dédicaces 2</b> .....	
<b>Remerciements</b> .....	
<b>Table des matières</b> .....	<b>1</b>
<b>Liste des figures</b> .....	<b>3</b>
<b>Liste des tableaux</b> .....	<b>4</b>
<b>Liste des abréviations</b> .....	<b>5</b>
<b>Introduction Générale</b> .....	<b>6</b>
<b>Synthèse bibliographique</b> .....	<b>8</b>
I- Rappel sur les entérocoques : .....	8
II- Caractères généraux : .....	8
II-1- Caractères morphologiques .....	8
II-2- Caractères culturaux : .....	9
II-3- Caractères biochimiques : .....	9
III- Epidémiologie des infections à entérocoques chez l'homme.....	9
III-1- Infection communautaires : .....	10
III-2- Infections nosocomiales : .....	10
IV- Multi-résistance aux antibiotiques des entérocoques : .....	11
IV-1- Résistance naturelle des entérocoques aux antibiotiques.....	11
IV-2- Résistance acquise des entérocoques aux antibiotiques : .....	11
V- Etat des infections à entérocoques en Algérie : .....	16
<b>Matériel &amp; Méthodes</b> .....	<b>18</b>
I- Contexte de l'étude et lieu de stage : .....	18

II- Recueil des souches:.....	19
III- Identification des souches :.....	19
IV- Etude de la sensibilité des entérocoques aux antibiotiques (Antibiogramme) :.....	21
IV-1- Réalisation de l'antibiogramme.....	22
IV-2- Lecture :.....	22
<b>Résultats &amp; Discussion.....</b>	<b>23</b>
I- Collecte et caractérisation des souches bactériennes .....	23
II- Etude épidémiologique des infections à entérocoques.....	26
II-1- Répartition des souches selon le type d'infection .....	26
II-2- Répartition des souches selon le service d'hospitalisation : .....	27
II-3- Répartition des souches selon le type de prélèvement .....	27
II-4- Caractéristiques de la population étudiée :.....	28
III- Etude de la résistance des entérocoques aux antibiotiques.....	29
<b>Discussion Générale .....</b>	<b>32</b>
<b>Conclusion &amp; Perspectives .....</b>	<b>35</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>37</b>
<b>Annexes .....</b>	<b>45</b>

## Liste des figures

Figure 1: Entérocoque vue au microscope électronique à balayage (wikipédia).....	9
Figure 2 : Mode d'action des glycopeptides (Murray, 2000). .....	14
Figure 3 : Lieu d'EL-MENIA sur la carte de l'Algérie .....	18
Figure 4 : Isolement des entérocoques sur gélose BEA. ....	23
Figure 5: Entérocoques observés sous un microscope optique après coloration de Gram (G X100).....	24
Figure 6 : Catalase négative .....	24
Figure 7 : Résultats des tests de croissance sur BHS .....	25
Figure 8 : Croissance d' <i>E. faecalis</i> sur milieu M17 additionné de tellurite de potassium.....	25
Figure 9 : Croissance d' <i>E. faecalis</i> sur milieu M17 additionné de tellurite de potassium.....	25
Figure 10 : principaux micro-organismes responsables des infections au niveau de EPH EL-MENIA.....	26
Figure 11: Répartition des souches selon le type d'infection.....	26
Figure 12: Répartition des souches selon le service d'hospitalisation. ....	27
Figure 13: Répartition des souches selon l'origine du prélèvement. ....	28
Figure 14 : Répartition des souches selon le sexe des patients. ....	28
Figure 15 :Répartition des infections par tranche d'âge des patients. ....	29
Figure 16: Taux de résistance et de sensibilité des souches d'entérocoques vis-à-vis six antibiotiques. ....	30

## **Liste des tableaux**

Tableau I : les phénotypes de résistance aux glycopeptides (van Harten <i>et al.</i> , 2017) (Cetinkaya <i>et al.</i> , 2000) .....	13
Tableau II : Mécanismes de résistance des entérocoques aux antibiotiques .....	15
Tableau III: ERV en Algérie (www.aarn.com) .....	16
Tableau IV: la liste des antibiotiques testés sur les entérocoques.....	22
Tableau V : répartition des taux de résistance selon le type de prélèvement.....	31



## Liste des abréviations

AME	Aminoglycoside Modifying Enzyme.
AMP	Ampicilline.
ARNr	Acide ribonucléique ribosomique.
BEA	Bile Esculine Azide de Sodium.
BHS	Bouillon hypersalé .
BMR	Bactéries multirésistantes.
CLIN	Comité de lutte contre les infections nosocomiales.
CLSI	Clinical and Laboratory standary institue.
D-Ala-D-Ala	D-Alanyl-D-Alanine.
EPH	Etablissement public de la santé.
ERG	Entérocoque Résistant à la glycopeptide.
ERV	Entérocoque Résistant à la vancomycine.
ERY	Erythromycine.
GHN	Gentamycine haut niveau.
I	Intermédiaire.
IN	Infections nosocomiales.
NIT	Furanes.
PLP	Pénicilline liant les protéines.
R	Résistant.
S	Sensible.
TCY	Tétracycline.
VAN	Vancomycine.
VRE	Vancomycin Résistant Enterococci.

## **Introduction Générale**

Les entérocoques sont des bactéries lactiques utilisées depuis des siècles dans la transformation des aliments. Ces micro-organismes ont une remarquable capacité à s'adapter à leur environnement et jouent un rôle essentiel dans la conservation (prolongation du temps de stockage) et dans la qualité bactériologique des aliments, tout en respectant leurs propriétés nutritionnelles et organoleptiques. Ce sont des bactéries commensales de l'homme et sont présents un peu partout dans l'organisme humain et principalement au niveau du tractus intestinal. Cependant, ce sont des marqueurs de contamination fécale (Aguilar-Galvez A *et al.*, 2011).

Longtemps considérés comme des germes à faible pouvoir pathogènes essentiellement responsables de quelques infections extrahospitalières, leur pouvoir pathogènes s'exerce en association avec d'autres germes. Cependant, leur rôle dans les infections nosocomiales est en constante progression et ainsi les entérocoques y'occupent la troisième position derrière *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* (Francois-Ngo & Mainardi, 1998; TOMASZ, 1994). *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* sont les genres responsables de la quasi-totalité des infections à entérocoques chez l'homme (Francois-Ngo & Mainardi, 1998).

Ce rôle en pathologie nosocomiale est pour beaucoup dû à la remarquable habilité des entérocoques à pouvoir être multi-résistants ou à avoir une sensibilité minimale à beaucoup d'antibiotiques d'usage courant en thérapeutique, aggravée ces dernières années par l'émergence de souches résistantes aux glycopeptides. Ces antibiotiques sont réservés à usage hospitalier et constituent des traitements de dernier recours.

Leur détection doit interpeller tous les laboratoires de microbiologie quant au fait de rester vigilant devant l'isolement de toute souche d'*Enterococcus* présentant un diamètre diminué aux glycopeptides. Il en est de même pour les comités de lutttes contre les infections nosocomiales (CLIN) qui devraient inclure dans leur protocole de surveillance des bactéries multirésistantes (BMR) la recherche des entérocoques résistants à la vancomycine.

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail réalisé au niveau de l'EPH de Daïra de EL-MENIA pour une période de trois mois allant du 15 janvier à 15 avril 2017, et a pour objectif :

- De mettre en place un protocole d'identification des entérocoques, car nous sommes les premiers à étudier les entérocoques dans la wilaya de Ghardaia et possible dans le sud d'Algérie.
- De faire l'état des lieux des infections à entérocoques dans la Daïra de EL-MENIA.
- D'isoler, identifier et caractériser les résistances des isolats d'entérocoque responsables d'infection.

La première partie de ce présent manuscrit porte sur des généralités sur les entérocoques et les glycopeptides, l'épidémiologie des infections à entérocoques chez l'homme et également l'état des infections à entérocoques résistants aux glycopeptides en Algérie. La deuxième partie couvre la description des méthodologies effectuées, les résultats de notre étude suivis d'une discussion générale et une conclusion.

## Synthèse bibliographique

### I- Rappel sur les entérocoques :

Le terme d'entérocoque fut utilisé pour la première fois en 1899 par THIERCELIN pour décrire un nouveau diplocoque à Gram positif isolé dans le tube digestif humain (THIERCELIN, 1899), ANDREWES et HORDER introduisirent en 1906 le nom de *Streptococcus faecalis*.

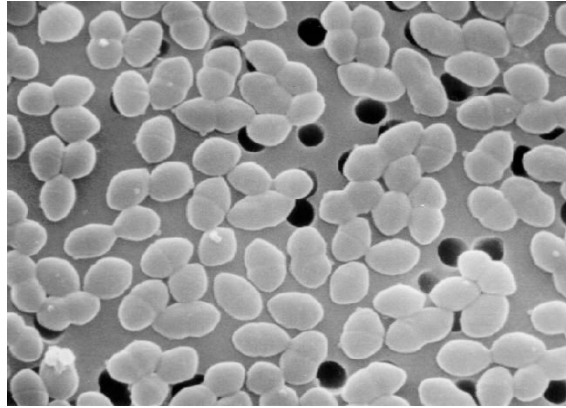
Pendant très longtemps, les entérocoques ont été classés au sein du genre *Streptococcus*, jusqu'en 1984, où une analyse du génome indiqua qu'il était plus approprié de créer le genre *Enterococcus*. Cet amalgame est notamment dû au fait que les entérocoques possèdent l'antigène de paroi D, partagé par des bactéries du genre *Streptococcus* (*Streptococcus gallolyticus*, *Streptococcus infantarius*...) (Cetinkaya *et al.*, 2000; Francois-Ngo & Mainardi, 1998). Le genre *Enterococcus* et le sous-genre *Streptococcus D* peuvent être différenciés par la salinité d'un milieu de culture. En effet, les entérocoques peuvent être cultivés sur un milieu hypersalé (6,5 % NaCl)

Des études basées sur l'analyse des protéines de liaison à la pénicilline ont contribué à individualiser les différentes espèces d'entérocoques, ces entérocoques sont des commensaux du tube digestif de l'homme et des animaux et le genre *Enterococcus* comprend plus de 44 espèces, les deux principales espèces sont *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* représentent respectivement 90% et 10% des entérocoques d'origine colique et sont responsables dans les mêmes proportions de la quasi-totalité des infections à entérocoques chez l'homme. En 1986 les premières souches d'entérocoques résistant aux glycopeptides (Vancomycine, Téricoplanine) ont été isolées.

### II- Caractères généraux :

#### II-1- Caractères morphologiques

Les entérocoques (figure 1) sont des cocci ovoïdes à Gram positif disposés en diplocoques ou en courtes chaînettes, non sporulés, immobiles (à l'exception d'*E. casseliflavus*) (Francois-Ngo & Mainardi, 1998; HORAUD & LE BOUGUENEC, 1989). La surface cellulaire de quelques souches d'*E. faecalis* examinée par microscopie électronique montre la présence de fimbriae.



**Figure 1:** Entérocoque vue au microscope électronique à balayage (wikipédia)

## **II-2- Caractères cultureux :**

La particularité des entérocoques est leur multiplication dans les milieux hostiles. En effet, ils sont capables de croître dans un milieu hypersalé contenant 6,5g /l de NaCl, tolèrent jusqu'à 40% de bile et un pH allant de 4.5 à 9.6 et peuvent résister à un traitement thermique de 63C° pendant 30 min. Ils sont pour la plupart alpha ou non hémolytiques (Francois-Ngo & Mainardi, 1998; HORAUD & LE BOUGUENEC, 1989).

## **II-3- Caractères biochimiques :**

Ne possèdent pas de cytochrome, les entérocoques sont de ce fait catalase négative bien que certaines souches puissent posséder une pseudo-catalase. Les entérocoques sont différenciés des autres streptocoques par leur capacité à hydrolyser l'esculine en présence de bile, à hydrolyser le L-pyrrolidonyl-B naphthylamide par production de pyrrolidonyl-arylamidase et à produire du gaz par fermentation du glucose (Cetinkaya *et al.*, 2000; Francois-Ngo & Mainardi, 1998). Ces bactéries sont homofermentaires du fait qu'elle produisent essentiellement de l'acide lactique à partir du glucose.

## **III- Epidémiologie des infections à entérocoques chez l'homme**

Les entérocoques colonisent les intestins de plus de 90% des adultes sains, *E. faecalis* est plus commun qu'*E. faecium* alors que les autres espèces sont trouvées très rarement (Huycke, *et al.*, 1998).

La pathogénicité des entérocoques a été reconnue dès le début de ce siècle (Francois-Ngo & Mainardi, 1998). Dans certaines infections telles que les endocardites, l'entérocoque est isolé comme seul agent pathogène alors qu'il est presque toujours en association avec d'autres bactéries (anaérobies, entérobactéries) dans les infections intra abdominales et dans les suppurations des plaies chirurgicales d'origine abdominale (HORAUD & LE BOUGUENEC, 1989; Pieniz *et al.*, 2015).

Généralement le risque pour le patient de développer une infection une fois colonisé dépend du terrain, les facteurs de risque très divers favorisent l'émergence de ces infections comme l'hémodialyse, la transplantation, les hémopathies, la corticothérapie, la chimiothérapie, la nutrition parentérale, la chirurgie, une antibiothérapie, une sonde urinaire et la neutropénie (Weinstock, *et al.*, 2007).

### **III-1- Infection communautaires :**

Les infections communautaires désignent toute infection rattrapée en d'hors de l'hôpital. On distingue les infections urinaires, les infections abdominopelviennes, les bactériémies, les endocardites, les infections néonatales et les infections du système nerveux (Francois-Ngo & Mainardi, 1998).

### **III-2- Infections nosocomiales :**

Après *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, les entérocoques sont la troisième cause la plus commune des infections nosocomiales (IN) (Schaberg, *et al.*, 1991). Il représente 10% de ces infections dont 15% d'infections urinaires et 7% de bactériémies. Les entérocoques sont également responsables d'infections intra-abdominales et de surinfections de plaies opératoires (Francois-Ngo & Mainardi, 1998).

On peut citer parmi les facteurs de risque de ces infections : le terrain (âge avancé, tare sous-jacente), les gestes invasifs, la durée d'hospitalisation, et l'utilisation de céphalosporine de troisième génération sélectionnant les germes *in vivo*; une autre source de ces infections est considérée comme endogène à partir du tube digestif ; la transmission peut se faire également par voie manu portée d'un malade à un autre *via* le personnel soignant ou par le matériel (thermomètres rectaux)(Brun-Buisson, 1996; Donskey *et al.*, 2000; Mayhall, 1996).

#### **IV- Multirésistance aux antibiotiques des entérocoques :**

Cette multirésistance est dominée par la résistance aux antibiotiques en particulier la résistance acquise aux glycopeptides (vancomycine) et aux aminosides (gentamicine et streptomycine). De plus, ces micro-organismes expriment naturellement une protéine liant la pénicilline (PLP 5) de faible affinité pour les bêtalactamines, ce qui les rend moins sensibles que les streptocoques aux bêtalactamines et induit une résistance aux céphalosporines, imipenèmes et aux pénicillines M (Rice, L. B. *et al.*, 2005). Ils sont plus sensibles à l'ampicilline qu'à la pénicilline (French, G. L., 1998) ce qui est préoccupant en clinique car peu d'antibiotiques restent actifs sur ces micro-organismes (Bertrand *et al.*, 2005; Dutka-Malene & Courvalin, 1994).

En effet La résistance naturelle des entérocoques à beaucoup d'antibiotiques est un des traits taxonomiques évocateurs des entérocoques (Bertrand *et al.*, 2005; HORAUD & LE BOUGUENEC, 1989).

##### **IV-1- Résistance naturelle des entérocoques aux antibiotiques**

Les entérocoques sont naturellement résistants aux pénicillines M, aux céphalosporines qui les sélectionnent souvent *in vivo*, à la clindamycine, aux lincosamines, à la pristinamicine, aux sulfamides, aux quinolones (Masson, 1996; pothet, 2014).

Les entérocoques présentent un bas niveau de résistance aux aminosides dont le déterminisme s'explique par un mécanisme actif de transport défectueux lié à un défaut d'énergie oxydative au niveau de la paroi (Pepper *et al.*, 1987; SIGLER & HESSEN, 1993). Ce bas niveau de résistance permet cependant une action synergique dans le traitement d'infections sévères à entérocoques avec la pénicilline ou les glycopeptides obtenue grâce à l'action préalable des bêtalactamines ou des glycopeptides sur la paroi (Bertrand *et al.*, 2005; Cetinkaya *et al.*, 2000). Récemment la moindre sensibilité ou la résistance naturelle de bas niveau à la vancomycine ont été décrites chez *E. gallinarum*, *E. Casseliflavus* et *E. Flavescens* (Dutka-Malene & Courvalin, 1994; Masson, 1996).

##### **IV-2- Résistance acquise des entérocoques aux antibiotiques :**

Cette dernière décennie est marquée par les difficultés croissantes de traitement et de contrôle des infections hospitalières sévères à entérocoques en raison de l'évolution croissante de la résistance aux (Bertrand *et al.*, 2005):

#### **IV-2-1- Résistance aux bêtalactamines par deux mécanismes:**

La résistance par production d'une pénicillinase d'origine plasmidique décrite principalement chez *E. Faecalis* aux Etats-Unis, en Argentine et au Liban (Bertrand *et al.*, 2005; Faibis *et al.*, 2003).

Cette bêtalactamase très proche de celle de *Staphylococcus aureus* et qui hydrolyse la pénicilline G, les aminocarboxy et uréido-pénicillines est détectée par un test iodométrique ou acidimétrique (pothet, 2014). A noter que ce plasmide code également pour le haut niveau de résistance à la gentamicine (Cetinkaya *et al.*, 2000; Francois-Ngo & Mainardi, 1998).

- la résistance par modification de la cible décrite chez *E. faecium*; il s'agit d'une mutation quantitative et qualitative de la PLP5 (Protéine de liaison à la pénicilline) (Williamson *et al.*, 1985).

#### **IV-2-2- Résistance aux aminosides par trois mécanismes :**

- altération de la cible ribosomale .

- modification du transport de l'antibiotique .

- détoxification enzymatique de l'antibiotique (mécanisme d'origine plasmidique prédominant chez l'entérocoque qui est responsable de l'apparition de souches hautement résistantes aux aminosides) (Courvalin *et al.*, 1980, 1978).

#### **IV-2-3- Résistance aux glycopeptides :**

Actuellement cinq phénotypes de résistance aux glycopeptides sont décrits. Cette résistance observée surtout chez *E. faecium* et apparue en 1987 s'explique par une modification de la structure du peptidoglycane.

- Le phénotype VAN A d'origine plasmidique caractérise les souches d'entérocoques résistantes à haut niveau à la vancomycine et à la téicoplanine.

- Le phénotype VAN B d'origine chromosomique définit les souches présentant un niveau de résistance variable à la vancomycine et restant sensibles à la téicoplanine.

- Le phénotype VAN C est caractérisé par la résistance naturelle de bas niveau à la vancomycine non transférable et probablement chromosomique associée à une sensibilité conservée à la téicoplanine et observée chez *E. casseiflavus* et *E. gallinarum*.



- Jusqu'à présent, seul un isolat unique avec le phénotype VanD a été signalé dans la littérature,
- Les phénotypes VAN E (*E. faecalis*) et VAN D (*E. faecium*) sont acquis mais non transférables.

**Tableau I : les phénotypes de résistance aux glycopeptides (Cetinkaya *et al.*, 2000; van Harten *et al.*, 2017).**

Type Caractéristiques		Van A	Van B	Van C	Van D	Van E
Génétique		Acquis	Acquis	Naturel	Acquis	Acquis
		Haut niveau	Niveau variable	Bas niveau	Niveau moyen	
Cible modifiée		D-Ala-D-Lac	D-Ala-D-Lac	D-Ala-D-Ser	D-Ala-D-Lac	D-Ala-D-Ser
Transférable		Oui	Oui	Non	Non	Non
CMI de vancomycine (mg/L)		64-1000	04-100	02-32	16-64	16
CMI de téicoplanine (mg/L)		16-512	0.5-1	0.5-1	2-4	0.5
Expression		Inductible (Constitutive)		Constitutive Inductible	Constitutive	Constitutive
Sensibilité	Vancomycine	R	R	I-R	R	R
	téicoplanine	R	S	S	S	S
Espèces		<i>E.faecium</i> <i>E.faecalis</i> <i>E.gallinarium</i> <i>E.casseliflavus</i> <i>E.avium</i>	<i>E.faecium</i> <i>E.faecalis</i>	<i>E.gallinarium</i> <i>E.casseliflavus</i> <i>E.flavescens</i>	<i>E.faecium</i> <i>E.faecalis</i>	<i>E.faecalis</i>

Le mécanisme de la résistance est le même pour les types de résistance VAN A et VAN B qui sont inductibles. Les gènes nécessaires à l'expression de la résistance sont portés par les transposons Tn1546 (VAN A) et Tn1547 (VAN B). L'expression inductible est liée à la synthèse de deux protéines, partenaires dans un système régulateur à deux composants. Un des précurseurs essentiels de la paroi bactérienne est un dérivé pentapeptidique constituant un monomère de la paroi à laquelle il est branché au cours de son élongation et terminé par un dipeptide D-alanyl-D-alanine qui est le site de fixation des glycopeptides ; cette fixation empêche en conséquence le branchement du précurseur et donc l'élongation de la paroi ; les souches résistantes synthétisent des précurseurs terminés par un depsipeptide D-alanyl-D-lactate et qui sont de faible affinité pour la vancomycine et la téicoplanine expliquant ainsi la résistance. Cette résistance est donc une résistance par modification de la cible (Arthur *et al.*, 1993; Cetinkaya *et al.*, 2000).

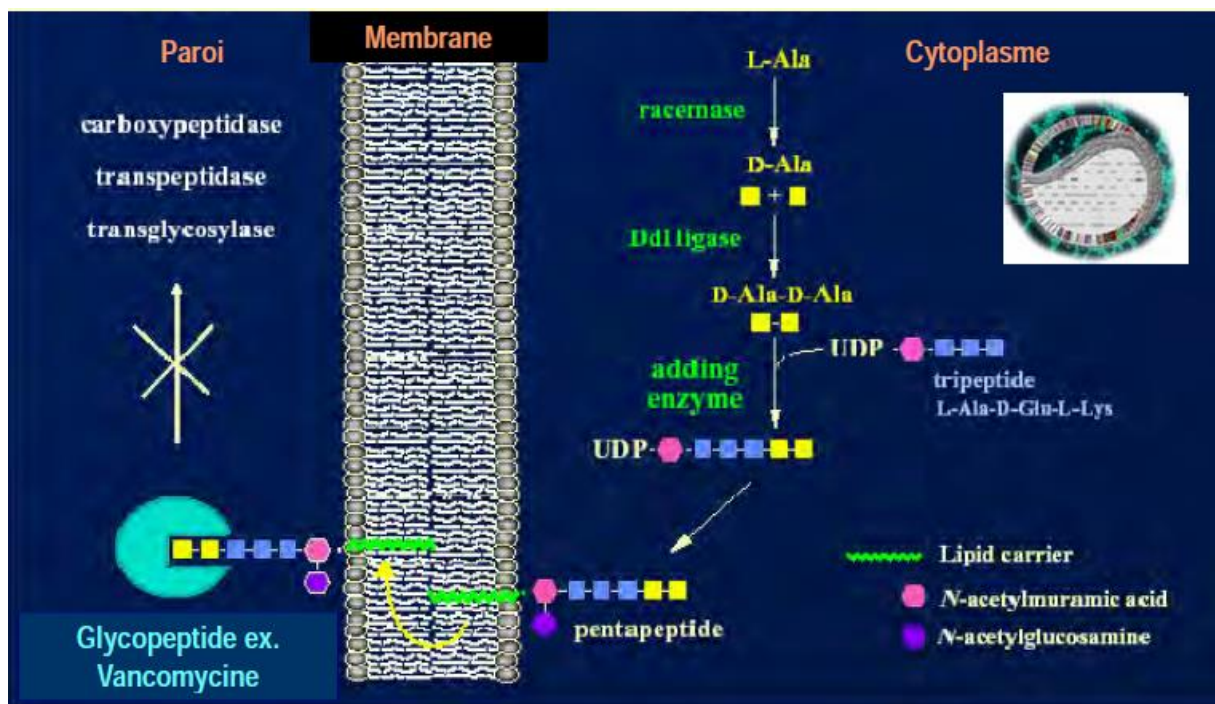


Figure 2 : Mode d'action des glycopeptides (Murray, 2000).

#### IV-2-4- Résistance aux autres antibiotiques

Les entérocoques résistent également à d'autres familles d'antibiotiques ; ainsi ils ont acquis des facteurs de résistance aux tétracyclines et macrolides (50% des *E. faecalis* et 70%

des *E. faecium* sont résistants à ces deux familles), au chloramphénicol, aux fluoroquinolones, aux lincosamides (Bertrand *et al.*, 2005; SIGLER & HESSEN, 1993).

**Tableau II : Mécanismes de résistance des entérocoques aux antibiotiques**

Résistance	Caractéristiques	Gènes
<b>Naturelle</b>		
<b>Bétalactamines</b>	PLPs de faible affinité	Chromosomique
<b>Clindamycines</b>	Bas niveau	Chromosomique
<b>Aminoglycosides</b>	Bas niveau due à l'imperméabilité	Chromosomique
<b>Trimethoprim</b>	Résistance <i>in vivo</i> due à la capacité des organismes à utiliser des folates exogènes	Chromosomique
<b>Quinolones</b>	Perméabilité	Chromosomique
<b>Glycopeptides</b>	Bas niveau chez <i>E. casseliflavus</i> et <i>E. gallinarum</i>	Chromosomique gène Van C
<b>Acquise</b>		
<b>Bétalactamines</b>	Altération de PLP, hyperproduction de B-lactamase	Chromosomique, transposon, plasmides
<b>Aminoglycosides</b>	Haut niveau du à la production d'AMEs	Transposons, plasmides
<b>MLS</b>	Méthylation de 23S rARN	Transposons, plasmides
<b>Tétracyclines</b>	Efflux de l'antibiotique	Gènes <i>tet</i>
<b>Chloramphénicol</b>	Chloramphénicol acetyltransferase	p l a s m i d e
<b>Quinolones</b>	Haut niveau due à mutation de la gyrase	Mutation <i>gyrA</i> (chromosomique)
<b>Vancomycine</b>	Phénotypes variées : haut niveau de à l'altération de la cible.	

## V- Etat des infections à entérocoques en Algérie :

Les entérocoques résistants à la vancomycine (appelés aussi « ERV ») sont des entérocoques qui ont développé une résistance à plusieurs antibiotiques dont la vancomycine. Les ERV ne causent pas plus d'infections que les autres entérocoques, mais ils peuvent nécessiter une hospitalisation et un traitement plus difficile et plus long.

En Algérie, le réseau algérien de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques (AARN) n'a signalé que 2 fois l'isolement d'un ERV les deux sont des *Enterococcus faecium*.

Cependant, le premier cas d'ERV (*E. faecalis*) en Algérie a été rapporté en 2007 suite aux travaux de N. Aggoune et ses collaborateurs au laboratoire central de l'armée à Alger (Aggoune, N. *et al.*, 2008).

Un autre cas ERG a été récemment signalé par les travaux de Hamidi M. et ses collaborateurs en 2013 (Pubmed).

**Tableau III:** ERV en Algérie ([www.aarn.com](http://www.aarn.com))

N° des cas	La date	L'origine de souche	Description	Antibiogramme	L'identification du gène de résistance
1	Novembre 2010	une hémoculture	survenu chez un patient âgé de 47 ans hospitalisé pour brûlure grave	une résistance de haut niveau aux antibiotiques testés : aminosides (haut niveau de résistance à la gentamicine, la streptomycine et à la kanamycine),ampicilline, levofloxacin, furanes, érythromycine, clindamycine, tétracyclines et rifampicine.	ont été confirmées par PCR au niveau de l'Institut Pasteur d'Algérie
2	Mars 2011	D'un pus de plaie	survenu chez un malade hospitalisé dans le service de médecine interne		

La pathogénicité des VRE semble faible mais ils ont un haut risque de transmissibilité et de développement croisé de résistance aux antibiotiques (des hauts niveaux de résistance aux aminosides) ceci rend très problématique voire impossible le traitement des patients infectés par les VRE particulièrement ceux souffrant de maladies graves (Buu-Hoï & Horodniceanu, 1980; Zirakzadeh & Patel, 2006). Ce qui entraîne également l'augmentation de la durée d'hospitalisation et du coût du traitement.

## **Matériel & Méthodes**

### **I- Contexte de l'étude et lieu de stage :**

Afin de contribuer à faire l'état des lieux des infections dues aux entérocoques dans la Daïra de MENIA., notre étude s'est déroulée au niveau du laboratoire de bactériologie du EPH de colonel Mohammed Chaabani à MENIA pour une période allant de 15 janvier au 15 avril 2017.

L'EPH Mohammed Chaabani est créée en 1985 comme un établissement de santé. En mai 2007 est devenu un EPH en vertu du décret exécutif n° 07-140. Il est situé sur une superficie de 15407 m<sup>2</sup> dans la Daïra de EL MENIA, qui se trouve sur 270 km au sud de sa wilaya de Ghardaïa, environ 900 km au sud de la capitale et environ 1000 km au Nord de la wilaya de Tamanrasset, composé de divers services d'hospitalisations (médecine interne, chirurgie générale, réanimation, gynécologie et d'obstétrique, chirurgie orthopédique, ophtalmologie pédiatrie, neurochirurgie, scanner, hémodialyse), et de un pavillon des urgences (médicaux chirurgicale et pédiatrique), reçoit environ 600 malades par mois avec une capacité litière de 200 lits. Un bloc opératoire avec des personnels médicaux de toutes les spécialités chirurgicale. De plus, un laboratoire central composé de deux unités (bactériologie, biochimie) avec 21 personnes paramédicales travaillant jour et nuit sous la direction de médecins spécialistes pour chaque unité, reçoit environ 100 prélèvements par jour (externe et interne).



**Figure 3 :** Lieu d'EL-MENIA sur la carte de l'Algérie

## **II- Recueil des souches:**

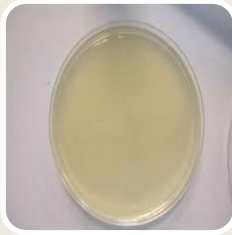
Les prélèvements des différents services (pédiatrie, réanimation, chirurgie générale, médecine interne, bloc opératoire, gynécologie et d'obstétrique, hémodialyse.) en plus des prélèvements externes sont accueillis au niveau du laboratoire de bactériologie pour des analyses d'identification et de caractérisation. Les types de prélèvement sont essentiellement urines, pus, sang, liquide d'ascite, liquide péritonéal, sonde urinaire, collection retro périanales, pertes vaginales.

## **III- Identification des souches :**

Afin de caractériser les souches cliniques isolées des différents produits pathologiques, un ensemble d'expériences a été effectué. Tout d'abord, les bactéries ont été isolées sur gélose M17 glucosé puis sur un milieu sélectif (BEA) dans le but de décrire et reconnaître la forme, la couleur et les bornes des colonies isolées (examen macroscopique). Par la suite, une coloration de Gram et un test catalase ont été réalisés sur l'ensembles des isolats pour déterminer aussi bien leur type de Gram, leur forme et leur organisation cellulaire (type d'agencement), mais également l'activité de l'enzyme catalase qui est un caractère commun au sein d'un genre bactérien. Aussi afin de distinguer entre les entérocoques et les streptocoques, un test de croissance sur un bouillon hyper salé (6.5% NaCl) et un test de résistance à la chaleur ont été établis. Enfin une culture sur gélose M17 additionné de tellurite de potassium.

Les tests effectués, leurs principes, les techniques et la lecture des résultats positifs sont résumés dans le schéma suivant (La composition de ces milieux est donnée en Annexe I) :

### Gélose M17 glucosé



**-Principe:** Milieu qui permet la culture des bactéries lactiques exigeantes.

**-Technique:** aspirer des gouttes de prélèvement par une pipette pasteur et mettre dans sur le milieu, ensuite l'étalement ; on tient l'étaleur en verre en contact de la gélose et on fait tourner la boîte. Incuber à 37°C/24h.

**-Lecture:** Petites colonies opaques à tours réguliers indiquant la présence de germe dans le prélèvement.

### Gélose BEA (Bile Esculine Azide)



**-Principe:** Milieu d'isolement selectif des streptocoques D:

- Bile : Inhibe la croissance des bactéries autres qu'intestinales.
- Esculine : Polyoside complexe que les streptocoques fécaux et les entérocoques hydrolysent en libérant de l'aglucone qui donne une coloration noire en présence de sel de fer.
- Azide de sodium : Inhibe la croissance des bactéries à G-.

**-Technique:** Ensemencer l'inoculum en surface et réaliser un isolement selon la méthode des quadrants. Incuber à 37°C/24h.

**-Lecture:** Petites colonies translucides entourées d'un halo noir indiquant la présence des entérocoques.

### Coloration de Gram



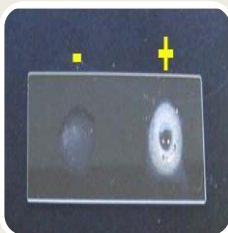
**Principe:** Différencier entre deux grands groupes bactériens : bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif

**Technique:** Réalisation de frottis. Coloration VLAFF (violet de gentiane, lugol, alcool, fuschine)

Observation microscopique à l'immersion x100.

**Lecture:** les bactéries à Gram + apparaissent alors en violet au microscope.

### Test de catalase



**-Principe:** La catalase est une enzyme qui détruit les peroxydes toxiques pour les bactéries. Elle catalyse la transformation de peroxyde d'hydrogène en eau avec libération d'O<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

**-Technique:** Mettre en contact sur une lame une colonie avec de l'eau oxygénée.

**-Lecture:** La réaction est positive s'il ya un dégagement gazeux, ce qui n'est pas le cas chez les entérocoques





### Bouillon hypersalé :

**-Principe:** Milieu contenant du NaCl (pression osmotique), Les entérocoques sont tous capables de se développer en milieu hypersalé (6.5% NaCl) contrairement aux streptocoques.

**-Technique:** Prélever des colonies bactériennes et l'ensemencer dans des tubes de bouillon hypersalé, Incubation à 37°C/24h.

**-Lecture:** L'apparition de trouble indique une croissance bactérienne.



### Résistance à la chaleur

**-Principe:** La plupart des entérocoques sont résistants à un traitement de températures 63°C pendant 30min.

**-Technique:** Ensemencer des tubes de milieu M17 avec une suspension bactérienne, placer les tubes dans un bain-marie à 63°C /30min, après 30min refroidir immédiatement avec de l'eau de robinet, incuber à 37°C /24h.

**-Lecture:** L'apparition de trouble dans les tubes correspond à la croissance des microorganismes (la bactérie est résistante au traitement).



### Test au tellurite de potassium

**-Principe:** Les souches d'*E. faecalis* sont les seules capables de réduire les tellurites de potassium en donnant des colonies noires.

**-Technique:** Un volume de 5 ml de tellurite de K<sup>+</sup> est rajouté dans un volume de 170 ml de gélose M17agar puis ensemencé en surface par la bactérie en question. Incuber à 37°C/24h.

**-Lecture:** L'apparition de colonies noires indique la présence d'*E. faecalis*.

## IV- Etude de la sensibilité des entérocoques aux antibiotiques (Antibiogramme) :

Au cours de notre étude nous avons déterminé la sensibilité des souches d'entérocoques vis-à-vis 6 antibiotiques (tableau IV) appartenant à différents familles par la technique d'antibiogramme standard par diffusion sur gélose Mueller Hinton selon les recommandations de Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

**Tableau V:** la liste des antibiotiques testés sur les entérocoques.

Famille	Antibiotique	Abréviation	Charge de disque (µg)
<b>β- Lactamines</b>	Ampicilline	AMP	10
<b>Aminosides</b>	Gentamicine Haut niveau	GEH	120
<b>Macrolides</b>	Erythromycine	ERY	15
<b>Cyclines</b>	Tétracycline	TCY	30
<b>Glycopeptides</b>	Vancomycine	VAN	30
<b>Nitrofurantoines</b>	Furanes	NIT	300

#### **IV-1- Réalisation de l'antibiogramme**

A partir des cultures de 24h, nous réalisons une suspension bactérienne en dissociant quelques colonies identiques et bien séparées dans 3 ml d'eau physiologique stérile. A partir de cette suspension, on ensemence les boîtes de gélose Muller Hinton à l'aide d'un écouvillon stérile en réalisant trois couches de stries sèches en retournant la boîte 45° pour chaque couche. A l'aide d'une pince stérile, on dépose les disques d'antibiotiques et on incube les boîtes à 37°C pendant 18 à 24h.

#### **IV-2- Lecture :**

On mesure à l'aide d'une règle les différents diamètres des zones d'inhibition obtenus autour des disques d'antibiotiques. L'interprétation en sensible (S) intermédiaire (I) ou résistant (R) est effectuée selon les critères définis par La CLSI (Annexe II).

## **Résultats & Discussion**

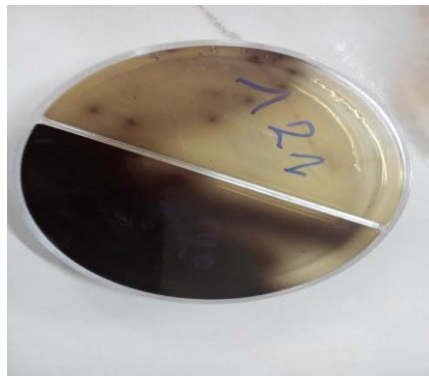
### **I- Collecte et caractérisation des souches bactériennes**

Au cours de notre étude, réalisée dans le laboratoire de bactériologie du EPH le colonel Mohammed Chaabani de MENIA, **14** souches d'entérocoques ont été collectées à partir de différents prélèvements pathologiques durant la période de notre stage (de 15 Janvier à 15 Avril 2017) sur un nombre total de prélèvements de **220**.

L'ensemble des résultats de la caractérisation biochimique des souches cliniques obtenues sont rapportés dans le tableau de l'annexe III.

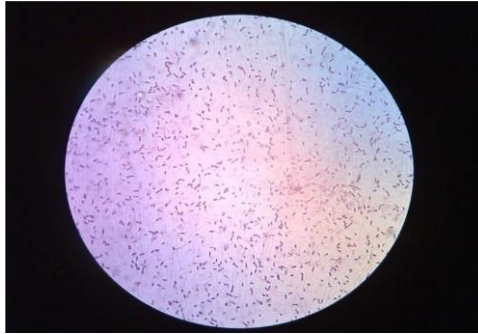
L'examen macroscopique des colonies isolées sur gélose M17 glucosé montre des colonies de petite taille .

L'isolement sur le milieu BEA montre des petites colonies translucides entourées d'un halo noir (Figure 4).



**Figure 4** : Isolement des entérocoques sur gélose BEA.

L'aspect microscopique des bactéries après la coloration de Gram a révélé des formes cellulaires en cocci, disposées en paire (diplocoques) ou en courtes chainettes de couleur violette. Ce qui correspond à l'aspect des bactéries à Gram positif (Figure 5).



**Figure 5:** Entérocoques observés sous un microscope optique après coloration de Gram (G X100).

Le résultat du test de catalase s'est révélé négatif pour toutes les souches (Pas des dégagements gazeux), ce qui laisse suggérer que ces bactéries sont soit des entérocoques soit des streptocoques (Figure 6).



**Figure 6 :** Catalase négative

Les entérocoques et les streptocoques partagent les mêmes critères macroscopiques et microscopiques. Afin de différencier entre ces deux genres, deux tests ont été réalisés, le test de résistance à la chaleur et de croissance sur le bouillon hypersalé. Dans notre étude, les résultats de ces deux tests montrent que toutes les souches testées résistent au traitement thermique et croissent sur un milieu hypersalé (Figure 7).

Ces résultats suggèrent que toutes les souches appartiennent au genre *Enterococcus*. Les colonies ont alors été utilisées pour l'identification de l'espèce.



**Figure 7 :** Résultats des tests de croissance sur BHS .



**Figure 8 :** Résistance à 60°C/30 min.

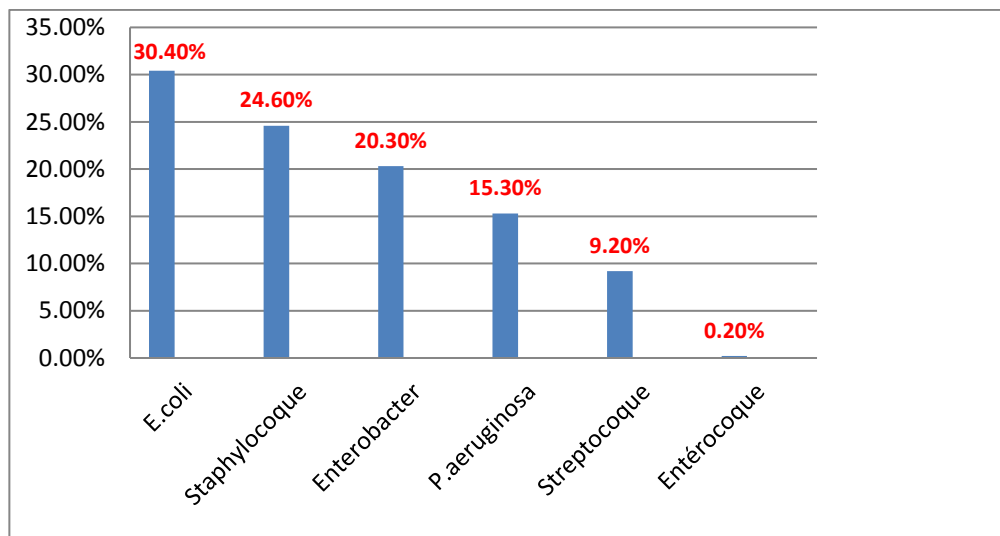
Les colonies pures ont étéensemencés sur la gélose M 17 glucosé additionné de tellurite de potassium qui permet d'identifier *E. faecalis* qui est la seule espèce parmi les entérocoques qui noircit la gélose tellurite. Parmi nos 14 souches collectées, 11 souches ont présenté un résultat positif à ce test ce qui montre qu'ils appartiennent à l'espèce *E.faecalis*.



**Figure 9 :** Croissance d'*E. faecalis* sur milieu M17 additionné de tellurite de potassium.

## II- Etude épidémiologique des infections à entérocoques

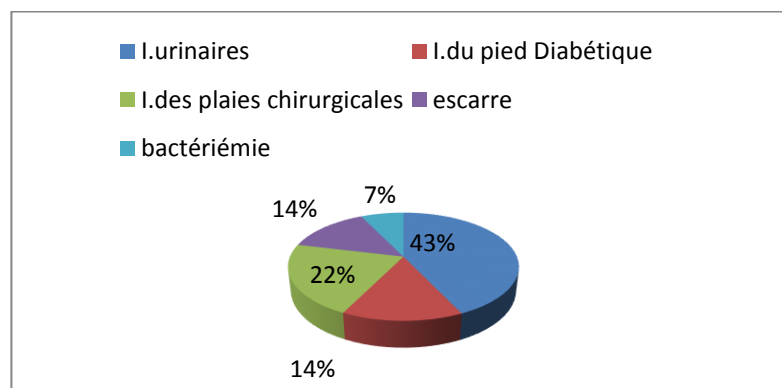
Selon les résultats d'une étude de prévalence des infections bactériennes au niveau de EPH me colonel Mohammed Chaabani de EL-MENIA d'une période d'une année (Avril 2016- Avril 2017). Les genres impliqués sont en ordre décroissant : *Escherichia coli* (30,40%), *Staphylococcus* (24,60%), *Enterobacter* (20,30%), *pseudomonas aeruginosa* (15,30%), Streptococcus (9,20%) et *Enterococcus* (0,20%),...etc. (Figure 10).



**Figure 10 :** principaux micro-organismes responsables des infections au niveau de EPH EL-MENIA .

### II-1- Répartition des souches selon le type d'infection

Les résultats de la répartition des souches selon le type d'infection obtenus dans notre étude est illustré dans la figure 11.



**Figure 11:** Répartition des souches selon le type d'infection.

Les résultats montrent que les infections urinaires sont les plus dominantes par apport aux autres infections avec une fréquence de 43%, suivi par les infections des plaies chirurgicales avec une fréquence de 22%, les infections du pied diabétique et enfin les escarres avec une fréquence 14 % pour chacun, les bactériémies prennent la dernier place avec une fréquence de 7%.

## II-2- Répartition des souches selon le service d'hospitalisation :

La figure montre que les infections à entérocoque sont plus fréquentes au niveau du service de médecine interne avec 03 isolats, suivi par le service de chirurgie générale et le service de pédiatrie avec un nombre de 02 isolats pour chacun, en troisième place le service de dialyse et le service de réanimation avec 01 isolats pour chacun, les autres 05 isolats concerne des prélèvements de malade externes.

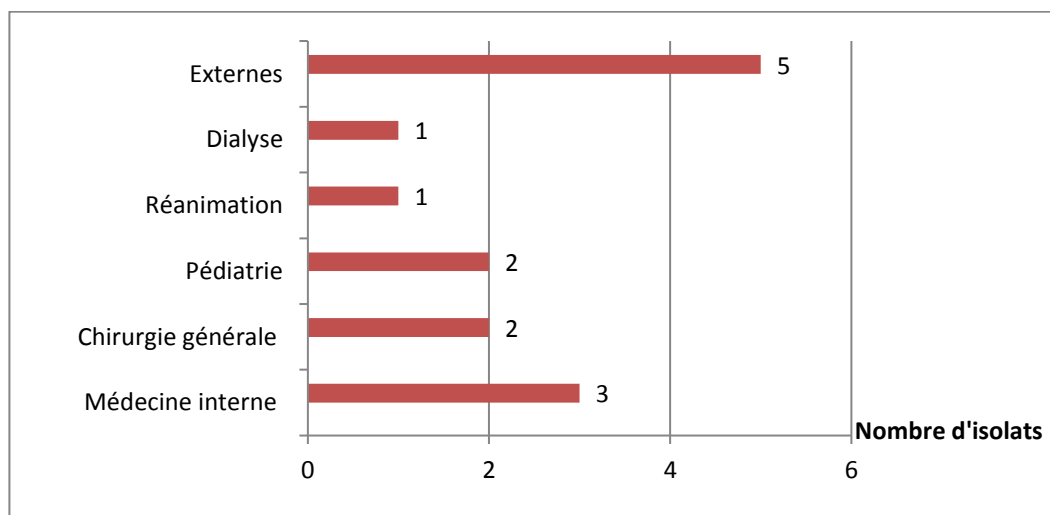


Figure 12: Répartition des souches selon le service d'hospitalisation.

## II-3- Répartition des souches selon le type de prélèvement

Dans notre étude, la répartition des isolats cliniques collectés à partir des différentes origines de prélèvement montre que la moitié des souches sont isolées à partir des prélèvements de pus, suivi des souches isolées à partir des prélèvements d'origine urinaire avec une fréquence de 43%. La fréquence la plus faible concerne les souches isolées des hémocultures représentent une fréquence de 7% (Figure 13).

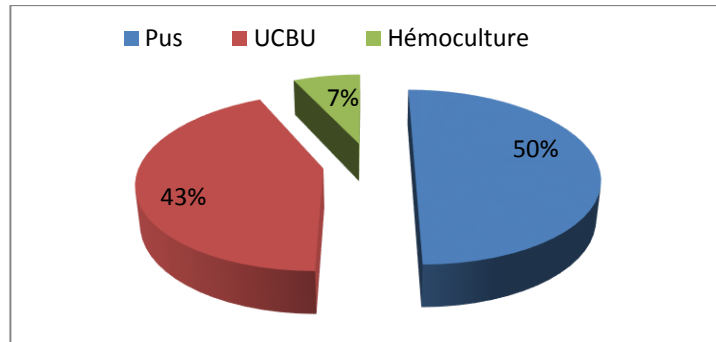


Figure 13: Répartition des souches selon l'origine du prélèvement.

## II-4- Caractéristiques de la population étudiée :

### II-4-1- Selon le sexe :

Sur 14 malades, 9 sont du sexe masculin (64%) et 5 du sexe féminin (36%) (Figure 14).

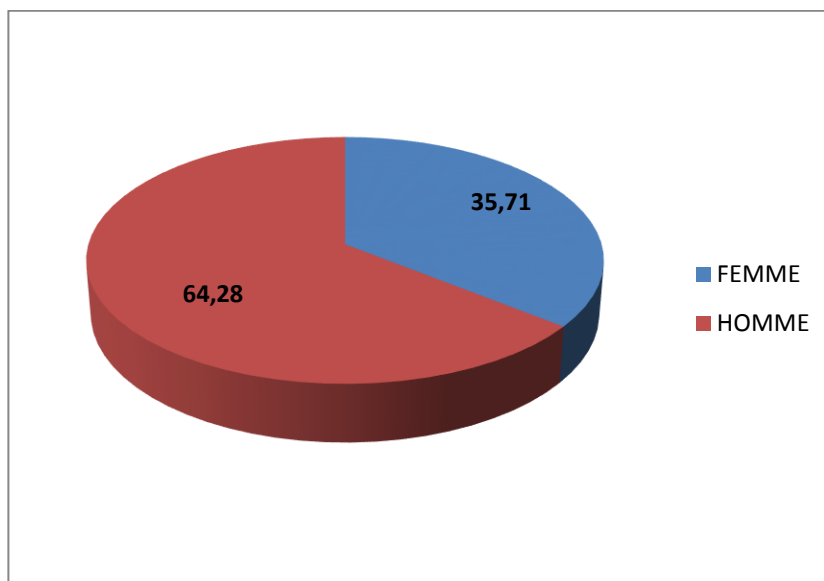
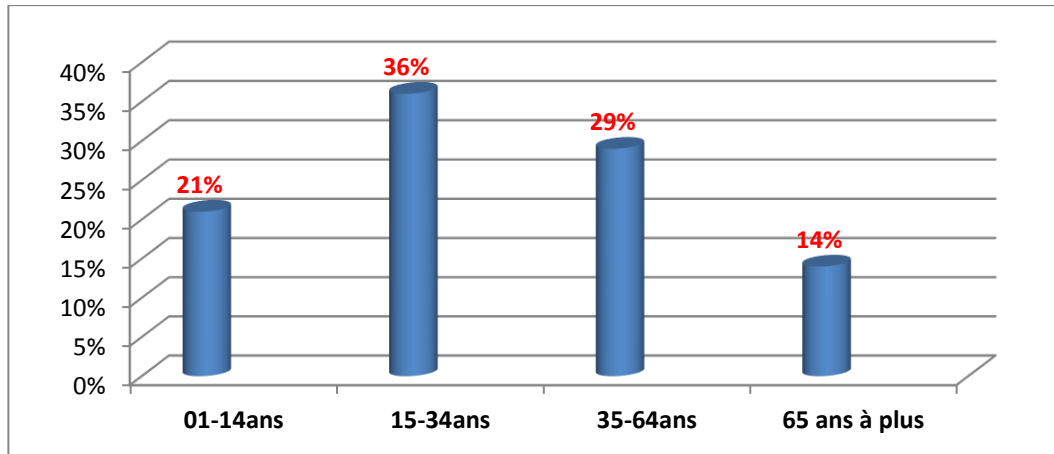


Figure 14 : Répartition des souches selon le sexe des patients.

### II-4-2- Selon l'âge :

Nos résultats montrent que toutes les catégories d'âge sont touchées. Cependant, nous constatons que la tranche d'âge allant de 15ans-34 ans est la plus touchée avec un taux légèrement élevé par rapport aux autres.



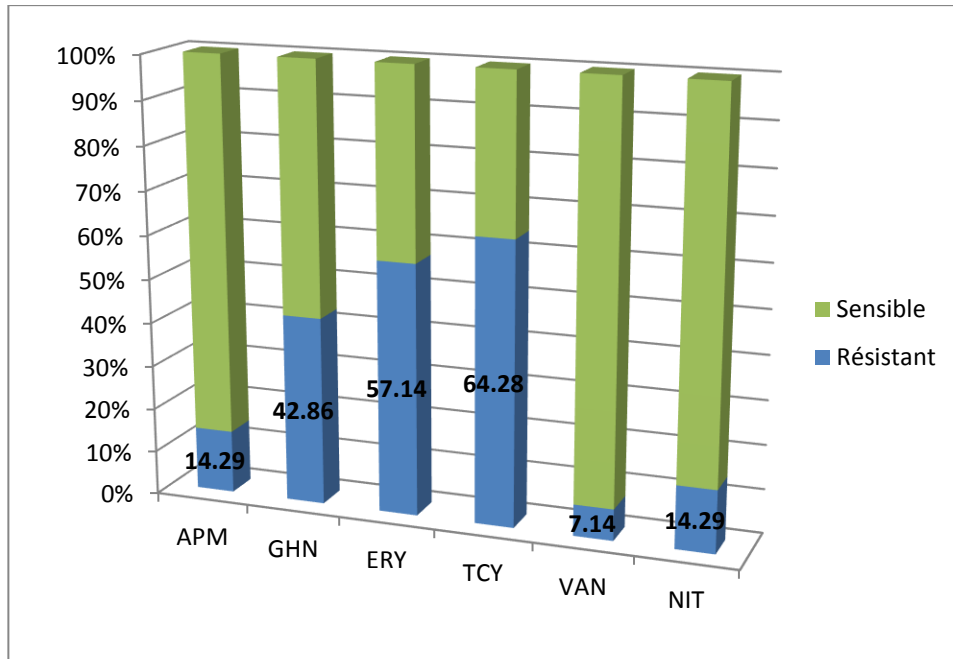


**Figure 15** : Répartition des infections par tranche d'âge des patients.

### III- Etude de la résistance des entérocoques aux antibiotiques

Six antibiotiques appartenant à différentes familles ont été utilisés pour tester la sensibilité des entérocoques. La sensibilité à la vancomycine, à l'ampicilline à la gentamycine, au Nitrofurantoines, à l'érythromycine et à la tétracycline ont été déterminées vis-à-vis 14 souches.

La figure 16 représente le profil de résistance des souches d'entérocoques isolées des différents types de prélèvement. Parmi les souches analysées, aucune n'a été sensible à l'ensemble des antibiotiques testés. La résistance a été plus élevée vis-à-vis de la tétracycline et de l'érythromycine avec des taux de 64,28% et 57,14% successivement, suivi de la gentamycine à haut niveau avec 42,86 et en faibles taux, la résistance à l'ampicilline et au Nitrofurantoines avec un taux de 14,29%. Concernant la résistance à la vancomycine, une seule souche uniquement présente un diamètre d'inhibition réduit correspondant à une résistance intermédiaire à la vancomycine.



**Figure 16:** Taux de résistance et de sensibilité des souches d'entérocoques vis-à-vis six antibiotiques.

La sensibilité des souches d'entérocoques par rapport à certains types de prélèvement (pus et le sang, les urines, les liquides péritonéaux) est représentée dans le tableau suivant :

**Tableau VI** : Répartition des taux de résistance selon le type de prélèvement.

ATBs	Pus (7)			Urine (6)			Sang (1)		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R
<b>AMP</b>	5 (71%)	0	2 (29%)	6 (100%)	0	0	1 (100%)	0	0
<b>GHN</b>	2 (29%)	1 (14%)	4 (57%)	5 (83%)	1 (17%)	0	1 (100%)	0	0
<b>ERY</b>	4 (57%)	0	3 (43%)	2 (33%)	0	4 (67%)	0	0	1 (100%)
<b>TCY</b>	3 (43%)	0	4 (57%)	2 (33%)	1 (17%)	3 (50%)	0	0	1 (100%)
<b>VAN</b>	7 (100%)	0	0	6 (100%)	0	0	0	1 (100%)	0
<b>NIT</b>	6 (86%)	0	1 (14%)	5 (83%)	0	1 (17%)	1 (100%)	0	0

D'après le tableau ci-dessus, les souches d'entérocoques multirésistantes sont majoritairement isolées à partir des prélèvements de pus et d'urine.

Concernant l'ampicilline, la gentamycine et la tétracycline, le taux des souches résistantes est plus élevé dans le pus que dans l'urine avec des taux de 28,57% contre 0% pour l'ampicilline, et 100% contre 0% pour la gentamycine et 57,14% contre 16,67% pour la tétracycline. Cependant la résistance à l'érythromycine, elle est plus élevée chez les souches isolées à partir d'urine.

La seule souche isolée à partir de sang résiste à l'érythromycine et à la tétracycline. e plus, cette même souche présente une résistance intermédiaire à la vancomycine

## **Discussion Générale**

Les entérocoques sont parmi les causes les plus communes des infections nosocomiales (IN). Ces infections comprennent les infections des voies urinaires et génitales, les infections intra abdominales et pelviennes, les infections de plaies, les bactériémies et les endocardites (Mittal *et al.*, 2016) (Schmidt-Hieber *et al.*, 2007) (Sakka *et al.*, 2008).

Dans notre étude, le taux d'infection aux entérocoques est de 0.063% (14 isolats/220 prélèvements). Ces dernières sont plus isolés à partir de pus suivi par les urines avec des pourcentages de (50%) et (42,86%) respectivement, l'hémoculture (7.14%). Nos résultats ont la même tendance avec ceux retrouvés par El Ghazawy et al qui rapporte des taux de 64,6% d'origines urinaires, 15.7% d'origines des pus et 11,2% d'origines hémocultures (El-Ghazawy *et al.*, 2016).

Les deux espèces d'entérocoque fréquemment rencontrés dans les isolats cliniques sont : *E.faecalis* et *E.faecium* avec un pourcentage de plus de 90% (Bouvet & Couvry, 1994) . Notre étude révèle également une dominance de l'espèce *E.faecalis* (78,57%), ce résultat est similaire aux résultats montré au CHU de Annaba en 2012 (Djahmi *et al.*, 2012), et en Egypte en 2015 (Hashem *et al.*, 2015), le même résultat est rapporté dans une étude en Espagne en 2014 (Medell *et al.*, 2014).

Dans notre étude le service le plus touché par les infections à entérocoques est celui de médecine interne avec un pourcentage (21,43%) suivie par le service de pédiatrie et chirurgie générale (14,29%) pour chacun. La majorité des activités de service de médecine interne est représentée par l'accueil des patients consultants aux urgences et nécessitant une hospitalisation pour des motifs aussi divers qu'une ischémie aigue d'un membre, une insuffisance cardiaque, un accident vasculaire cérébral, décompensation aigue du diabète sucré, les pathologies gastro-intestinales, une maladie cancéreuse...etc. La Médecine Interne prend en charge dans leur globalité ces patients, notamment quand plusieurs pathologies associées rendent les choses complexes. Nos résultats sont similaires à ceux retrouvés au CHU de Annaba en 2012 (Djahmi *et al.*, 2012), cependant, une autre étude réalisée par Medell et ses collaborateurs a montré que le service de soins intensif est le service le plus touché avec un taux de 50% (Medell *et al.*, 2014). Nos résultats sont probablement expliqués par l'hospitalisation du patient diabétique au niveau de ce service.

En 1999 une étude épidémiologique dans les hôpitaux de Etat Unis montre que les infections urinaires présentent plus de la moitié des cas d'infection (Low DE, *et al.*, 1999) . Selon le type d'infection, notre étude a montré la même tendance. En effet, le taux des infections urinaires est le dominante avec un pourcentage de (43%), suivi par les autres infections [des plaies chirurgicales (22%), les infections du pied diabétique (14 %)et Les escarres ( 14 % ), les bactériémies ( 7%)].

Dans notre étude, Le taux des infections enregistré chez les patients de sexe masculin (64%) est supérieur à celui enregistré chez le sexe féminin (36%). Cependant dans des études faites en France en 1998, et en Algérie en 2012 (PAPA Abdoulaye, 1998) (Djahmi *et al.*, 2012), le sexe féminin est le plus dominant avec des pourcentages de 75% et 56% respectivement.

Notre étude montre des pourcentages rapprochés entre les différentes catégories d'âge avec une différence de plus ou moins 7%. Le nombre maximal de cas est retrouvé chez la catégorie d'âge 15 ans-34ans comprenant (35%). Ces résultats sont similaires à ceux rapportés par Wavare-Sanjay en l'inde (Wavare Sanjay M *et al.*, 2015). Ce résultat peut s'expliquer par le terrain fragilisé de la population étudiée qui s'agit des patients hospitalisés présentant des maladies sous-jacentes (diabète, insuffisance rénale, insuffisance cardiaque, plaies chirurgicales...).

Aujourd'hui, les entérocoques occupent une place importante en pathologie humaine et posent bien souvent un problème thérapeutique du fait de leur résistance naturelle à plusieurs antibiotiques couramment utilisées en clinique. Ce problème est amplifié en raison de la résistance acquise des entérocoques à tous les antibiotiques actuellement disponibles (Deshpande *et al.*, 2013; Murray, 2000).

Dans notre étude des profils de résistance de nos isolats à partir des antibiogrammes a montré que les souches d'entérocoques qu'elles soient isolées en communauté ou à l'hôpital, présentent un taux de résistance à l'érythromycine de 57,15%. Ces résultats sont approximativement proches de ceux retrouvés en France en 1998, en Algérie en 2012, et en Egypte en 2015 (Djahmi *et al.*, 2012; Hashem *et al.*, 2015; PAPA Abdoulaye, 1998).

Le taux de résistance des isolats à l'ampicilline et aux furanes est de 14,29% chacun. Cependant, pour la tétracycline, le taux est de 64,29%. Ce taux est inférieur à celui rapportés en

France en 1998 (80% )(PAPA Abdoulaye, 1998) ,et en Algérie en 2012 82,4%) (Djahmi *et al.*, 2012).

La résistance de haut niveau à la gentamycine présente un taux de 42,86%. Ce résultat se rapproche de celui retrouvé en France en 1998 avec un taux de 37% (PAPA Abdoulaye, 1998). Cependant, d'autres études faites en Algérie en 2012 (Djahmi *et al.*, 2012), en Espagne 2014 (Medell *et al.*, 2014) et en Egypte 2015 (Hashem *et al.*, 2015) ont présentés des taux plus élevés de résistance avec des pourcentages de 54,4%, 66% et 56% respectivement. Il ressort de ce résultat qu'il existe encore une certaine variation de la résistance à la gentamycine d'un pays à l'autre. En outre, la principale conséquence de l'apparition des hauts niveaux de résistance à la gentamycine est la levée de l'action synergique bactéricide nécessaire au traitement des infections sévères à entérocoque.

Quant à la sensibilité à la vancomycine, parmi 14 souches testées, seulement une souche a présenté une résistance intermédiaire, les autres sont nettement sensibles. Nous pouvons également comparer nos résultats à ceux décrits ailleurs. En effet, même si l'incidence des souches VRE est en progression au Etats-Unis comme c'est décrit dans la littérature (Mayhall, 1996; PAPA Abdoulaye, 1998; Stosor *et al.*, 1996). Une étude multicentrique française n'a rapporté que deux souches résistantes parmi 1310 souches d'*Enterococcus faecalis* (Leclercq, 1994; Streff *et al.*, 1996). En 2012, d'après une étude menée au CHU de Annaba ,le taux de résistance à la vancomycine était faible (3,2%) (Djahmi *et al.*, 2012). Cependant, en 2014 en Espagne, un taux élevé de 50% a été retrouvé(Medell *et al.*, 2014). En 2015 en Egypte, un taux bas de 2% a été rapporté (Hashem *et al.*, 2015). C'est a dire que le taux de prévalence des souches VRE reste encore très faible dans notre pays.

## Conclusion & Perspectives

Les entérocoques sont des commensaux de l'intestin de l'homme, deux espèces principalement isolées cliniquement : *E.faecalis* et *E.faecium*, du à des infections urinaires et intra-abdominales, d'abcès viscéraux, de pneumonies, de septicémies, d'endocardites et de méningites.

Ces germes sont problématique en clinique à cause de leur multi-résistance naturelles à nombreuses familles d' antibiotiques, aggravé ces derniers années par l'émergence de la résistance aux glycopeptides; antibiotiques de dernier recours.

Le but de cette étude réalisée au laboratoires de microbiologie de l'hôpital d'EL-MENIA (Ghardaïa) pendant 2 mois, 220 échantillons ont été analysés. Notre objectif était de faire un état des lieux des infections à entérocoques, ainsi que l'étude de la prévalence de leur résistance aux antibiotiques principalement à la vancomycine, aux bêtalactamines et celle de leur haut niveau de résistance aux aminosides.

Cet objectif trouve tout son intérêt et son importance dans le fait que le traitement de référence d'infections sévères à entérocoques reposait jusqu'à présent sur une association synergique bactéricide entre un agent actif sur la paroi (vancomycine ou bêtalactamine) et un aminoside et que par conséquent des souches d'entérocoques ayant résisté à l'un ou à l'ensemble des antibiotiques précités peuvent causer de multiples infections sévères communautaires et nosocomiales dont le traitement est très difficile voire problématique.

On vue de notre étude de conclusions suivantes ont été établies :

- ❖ Les résultats d'identifications de 220 prélèvements révèle 14 souches d'entérocoques cliniques, parmi lesquelles (78,57%) correspondent à *E. faecalis*.
- ❖ Les résultats montrent que les souches sont le plus souvent isolées dans les infections communautaires (35,71%), suivi par le service médecine interne (21.43%).
- ❖ La moitié des infections causées par les entérocoques sont d'origine de pus (50%).
- ❖ Les entérocoques ont été fréquemment isolés chez les patients âgés de 15ans -34 ans, avec un prédominance de sexe masculin à 64,28% des cas.

- ❖ L'étude de profil de résistance montre qu'aucune souche n'a été sensible à l'ensemble des antibiotiques testés. Le plus intéressant dans notre étude, une souche qui présentait une résistance intermédiaire à la vancomycine. Nous avons également noté une bonne efficacité de l'ampicilline et de furane avec des taux de sensibilité de (85,71%) pour chacun. Le taux de résistance le plus élevé concerne la tétracycline avec (64,28%) suivi par l'érythromycine (57,14%) et enfin par la gentamycine de haut niveau (42,86%).

Ces résultats nous laissent à penser que le taux de prévalence de la résistance à la vancomycine chez les entérocoques demeure encore très faible dans la région de MENIA et que cet antibiotique reste efficace sur les entérocoques. Par contre pour la tétracycline, l'érythromycine et la gentamycine, l'attention et principalement celle du clinicien mérite d'être attirée. Nous pensons également que la furane et l'ampicilline avec leur assez bonne activité, devront faire l'objet d'étude d'association avec d'autres agents dans le traitement des infections à entérocoques.

L'absence de résistance pour la vancomycine ne doit nullement exclure des mesures préventives du fait que des souches VRE résistant "à tout" ont été décrites déjà dans d'autres pays. Parmi ces mesures préventives appliquées surtout à l'hôpital du fait d'un plus grand risque d'apparition de résistance due à la pression de sélection imposée par l'utilisation courante d'antibiotiques nous pouvons noter :

- ❖ Un usage approprié de la vancomycine dans des cas bien déterminés:
  - Le traitement d'infections sévères dues aux germes à Gram positif résistant aux bêtalactamines .
  - Allergie aux bêtalactamines .
- ❖ Des programmes d'éducation pour le staff hospitalier incluant tous les acteurs sur l'épidémiologie des VRE et leur impact sur le coût et l'efficacité des soins.
- ❖ Le rôle du laboratoire de bactériologie dans la détection, la publication et le contrôle des VRE.

Pour terminer, nous pensons que ce travail qui rentre dans le cadre du rôle crucial de surveillance de la résistance des germes aux antibiotiques que devrait jouer tout laboratoire de microbiologie, devrait être réalisé périodiquement pour pouvoir fournir aux cliniciens des données nécessaires pour l'établissement d'une antibiothérapie efficace.



### Références bibliographiques

- Aggoune, N., Chabani, A., Tiouit, D., , Naim, M. & Rahal, K. (2008). Premier cas d'Enterococcus faecalis résistant à la vancomycine en Algérie **38**, 557–558.
- Aguilar-Galvez A, Dubois-Dauphin R, Destain J, Campos D & Thonart P. (2011). les entérocoques: avantages et inconvénients en biotechnologie **16**, 67–76.
- Arthur, M., Molinas, C., Depardieu, F. & Courvalin, P. (1993). Characterization of Tn1546, a Tn3-related transposon conferring glycopeptide resistance by synthesis of depsipeptide peptidoglycan precursors in Enterococcus faecium BM4147. *J Bacteriol* **175**, 117–127.
- Bertrand, X., Costa, Y. & Pina, P. (2005). Surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques dans les bactériémies : données de l'observatoire national de l'épidémiologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques (ONERBA) 1998–2003. *Médecine Mal Infect* **35**, 329–334.
- Bouvet, A. & Couvry, G. (1994). Identification des entérocoques en microbiologie clinique. *Médecine Mal Infect* **24**, 132–140.
- Brun-Buisson, C. (1996). Les infections nosocomiales. *Médecine Mal Infect* **26**, 53–62.
- Buu-Hoï, A. & Horodniceanu, T. (1980). Conjugative transfer of multiple antibiotic resistance markers in Streptococcus pneumoniae. *J Bacteriol* **143**, 313–320.
- Cetinkaya, Y., Falk, P. & Mayhall, C. G. (2000). Vancomycin-Resistant Enterococci. *Clin Microbiol Rev* **13**, 686–707.
- Courvalin, P., Carlier, C. & Collatz, E. (1980). Plasmid-mediated resistance to aminocyclitol antibiotics in group D streptococci. *J Bacteriol* **143**, 541–551.
- Courvalin, P. M., Shaw, W. V. & Jacob, A. E. (1978). Plasmid-mediated mechanisms of resistance to aminoglycoside-aminocyclitol antibiotics and to chloramphenicol in group D streptococci. *Antimicrob Agents Chemother* **13**, 716–725.
- Deshpande, V. R., Karmarkar, M. G. & Mehta, P. R. (2013). Prevalence of multidrug-resistant enterococci in a tertiary care hospital in Mumbai, India. *J Infect Dev Ctries* **7**, 155–158.
- 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. *Scand J Infect Dis* **44**, 656–662.

- Donskey, C. J., Chowdhry, T. K., Hecker, M. T., Huyen, C. K., Hanrahan, J. A., Hujer, A. M., Hutton-Thomas, R. A., Whalen, C. C., Bonomo, R. A. & Rice, L. B. (2000).** Effect of Antibiotic Therapy on the Density of Vancomycin-Resistant Enterococci. *N Engl J Med* **343**, 1925–1932.
- Dutka-Malene, S. & Courvalin, P. (1994).** Résistance aux glycopeptides et aux aminosides chez les entérocoques - ScienceDirect. *sciencedirect* **24**, 158–164.
- El-Ghazawy, I. F., Okasha, H. A. S. & Mazloum, S. M. (2016).** A study of high level aminoglycoside resistant enterococci. *Afr J Microbiol Res* **10**, 572–577.
- Faibis, F., Fiacre, A. & Demachy, M. C. (2003).** Actualité sur la sensibilité des streptocoques aux antibiotiques (en dehors des entérocoques et de *Streptococcus pneumoniae*). *Ann Biol Clin (Paris)* **61**, 49–59.
- Francois-Ngo, S. & Mainardi, J.-L. (1998).** ENTEROCOCCUS FAECALIS : ASPECTS BACTERIOLOGIQUE, EPIDEMIOLOGIQUE ET THERAPEUTIQUE. *Feuill Biol* **39**, 21–26.
- French, G. L. (1998).** Enterococci and Vancomycin Resistance. *Clin Infect Dis* **27**, S75–S83.
- van Harten, R. M., Willems, R. J. L., Martin, N. I. & Hendrickx, A. P. A. (2017).** Multidrug-Resistant Enterococcal Infections: New Compounds, Novel Antimicrobial Therapies? *Trends Microbiol* **25**, 467–479.
- Hashem, Y. A., Yassin, A. S. & Amin, M. A. (2015).** Molecular characterization of *Enterococcus* spp. clinical isolates from Cairo, Egypt. *Indian J Med Microbiol* **33 Suppl**, 80–86.
- HORAUD, T. & LE BOUGUENEC, C. (1989).** Streptococcaceae : Genre *Enterococcus*. *MINOR VERON M- Bactériologie Médicale* 825–28. Paris, Flammarion.
- Huycke, M. ., Gilmore, M. . & Sahn, D. . (1998).** Multiple-drug resistant enterococci: the nature of the problem and an agenda for the future. *Emerg Infect Dis* **4**, 239–249.
- Leclercq, R. (1994).** Epidémiologie des infections nosocomiales à entérocoques. *Médecine Mal Infect* **24**, 199–206.
- Low DE, Barth A, Jones RN & Keller N. (1999).** Clinical prevalence, antimicrobial susceptibility, and geographic resistance patterns of enterococci. *Etat Unis*.
- Masson, E. (1996).** Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques. *EM-Consulte*.
- Mayhall, C. G. (1996).** Prevention and control of vancomycin resistance in Gram positive coccal microorganisms : fire prevention and fire fighting. *NFECTION C ONTROL H Osp E PIDEMIOLOGY* **17**, 353–355.

- Medell, M., Hart, M. & Batista, M. L. (2014).** Sensibilidad antimicrobiana in vitro en aislamientos de *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium* obtenidos de pacientes hospitalizados. *Biomédica* **34**, 50–7.
- Mittal, S., Singla, P., Deep, A., Bala, K., Sikka, R., Garg, M. & Chaudhary, U. (2016).** Vancomycin and High Level Aminoglycoside Resistance in *Enterococcus* spp. in a Tertiary Health Care Centre: A Therapeutic Concern. *J Pathog* **2016**.
- Murray, B. E. (2000).** Vancomycin-Resistant Enterococcal Infections. *N Engl J Med* **342**, 710–721.
- PAPA Abdoulaye. (1998, Juillet).** VANCOMYCINE RESISTANCE ET HAUT NIVEAU DE RESISTANCE AUX AMINOSIDES DE SOUCHES D'ENTEROCOQUES ISOLEES ADAKAR.
- Pepper, K., Horaud, T., Le Bouguéneq, C. & de Cespédès, G. (1987).** Location of antibiotic resistance markers in clinical isolates of *Enterococcus faecalis* with similar antibiotypes. *Antimicrob Agents Chemother* **31**, 1394–1402.
- Pieniz, S., de Moura, T. M., Cassenego, A. P. V., Andrezza, R., Frazzon, A. P. G., Camargo, F. A. de O. & Brandelli, A. (2015).** Evaluation of resistance genes and virulence factors in a food isolated *Enterococcus durans* with potential probiotic effect. *Food Control* **51**, 49–54.
- pothet, A. (2014, July 1).** Antibiotiques et antibiogrammes. Page, .
- Rice, L. B., Hutton-Thomas, R., Wood, A., Carias, L. L., Rudin, S., Lakticova, V. & Wood, A. (2005).** *Enterococcus faecium* Low-Affinity *pbp5* Is a Transferable Determinant. *Antimicrob Agents Chemother* **49**, 5007–5012.
- Sakka, V., Tsiodras, S., Galani, L., Antoniadou, A., Souli, M., Galani, I., Pantelaki, M., Siafakas, N., Zerva, L. & Giamarellou, H. (2008).** Risk-factors and predictors of mortality in patients colonised with vancomycin-resistant enterococci. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis* **14**, 14–21.
- Schaberg, D. ., Gaynes, R. . & Culver, D. . (1991).** Major trends in the microbial etiology of nosocomial infection. *Am J Med* **91**, S72–S75.
- Schmidt-Hieber, M., Blau, I. W., Schwartz, S., Uharek, L., Weist, K., Eckmanns, T., Jonas, D., Rüden, H., Thiel, E. & Brandt, C. (2007).** Intensified strategies to control vancomycin-resistant enterococci in immunocompromised patients. *Int J Hematol* **86**, 158–162.

- SIGLER, A. . & HESSEN, M. . (1993).** Antibiotic Resistance in Clinically Important Gram positive Cocci. *Infect Med* **20**, 37–40, 43.
- Stosor, V., Noskin, G. A. & Peterson, L. R. (1996).** The management and prevention of vancomycin-resistant enterococci. *Infect Med* **13**, 487–488+493.
- Streff, K., Jean-Pierre, H., Darbas, H. & Paillisson, J. (1996).** Entérocoques au CHRU de Montpellier durant le mois de septembre 1993 : espèces isolées, répartition en fonction du prélèvement, rôle pathogène, sensibilité aux bêta-lactamines, aminosides, glycopeptides. *Med Mal Infect* **6–7**, 704–713.
- THIERCELIN, M. . (1899).** Sur un diplocoque saprophyte de l'intestin susceptible de devenir pathogène. *CR Soc Biol* **5**, 269–271.
- TOMASZ, A. (1994).** Multiple-Antibiotic-Resistant Pathogenic Bacteria : A Report on the Rockefeller University Workshop. *N Engl J Med* **330**, 1247–50.
- Wavare Sanjay M, Mv, G., V, G. S., G, S. A. & M, K. R. (2015).** A STUDY OF VANCOMYCIN RESISTANT ENTEROCOCCI ISOLATED FROM URINARY TRACT INFECTIONS. *Int J Pharm Pharm Sci* **7**, 337–339.
- Weinstock, D. ., Kiehn, T. ., Conlon, M., Iovino, C., Aubrey, T., Gudiol, C., Zuccotti, G., Young, J. . & Riedel, E. (2007).** Colonization, Bloodstream Infection, and Mortality Caused by Vancomycin-Resistant Enterococcus Early after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplant. *Biol Blood Marrow Transplant* **13**, 615–621.
- Williamson, R., le Bouguéneq, C., Gutmann, L. & Horaud, T. (1985).** One or two low affinity penicillin-binding proteins may be responsible for the range of susceptibility of Enterococcus faecium to benzylpenicillin. *J Gen Microbiol* **131**, 1933–1940.
- Zirakzadeh, A. & Patel, R. (2006).** Vancomycin-Resistant Enterococci: Colonization, Infection, Detection, and Treatment. *Mayo Clin Proc* **81**, 529–536.
- Aggoune, N., Chabani, A., Tiouit, D., , Naim, M. & Rahal, K. (2008).** Premier cas d'Enterococcus faecalis résistant à la vancomycine en Algérie **38**, 557–558.
- Aguilar-Galvez A, Dubois-Dauphin R, Destain J, Campos D & Thonart P. (2011).** les entérocoques: avantages et inconvénients en biotechnologie **16**, 67–76.
- Arthur, M., Molinas, C., Depardieu, F. & Courvalin, P. (1993).** Characterization of Tn1546, a Tn3-related transposon conferring glycopeptide resistance by synthesis of depsipeptide peptidoglycan precursors in Enterococcus faecium BM4147. *J Bacteriol* **175**, 117–127.

- Bertrand, X., Costa, Y. & Pina, P. (2005).** Surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques dans les bactériémies : données de l'observatoire national de l'épidémiologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques (ONERBA) 1998–2003. *Médecine Mal Infect* **35**, 329–334.
- Bouvet, A. & Couvry, G. (1994).** Identification des entérocoques en microbiologie clinique. *Médecine Mal Infect* **24**, 132–140.
- Brun-Buisson, C. (1996).** Les infections nosocomiales. *Médecine Mal Infect* **26**, 53–62.
- Buu-Hoi, A. & Horodniceanu, T. (1980).** Conjugative transfer of multiple antibiotic resistance markers in *Streptococcus pneumoniae*. *J Bacteriol* **143**, 313–320.
- Cetinkaya, Y., Falk, P. & Mayhall, C. G. (2000).** Vancomycin-Resistant Enterococci. *Clin Microbiol Rev* **13**, 686–707.
- Courvalin, P., Carlier, C. & Collatz, E. (1980).** Plasmid-mediated resistance to aminocyclitol antibiotics in group D streptococci. *J Bacteriol* **143**, 541–551.
- Courvalin, P. M., Shaw, W. V. & Jacob, A. E. (1978).** Plasmid-mediated mechanisms of resistance to aminoglycoside-aminocyclitol antibiotics and to chloramphenicol in group D streptococci. *Antimicrob Agents Chemother* **13**, 716–725.
- Deshpande, V. R., Karmarkar, M. G. & Mehta, P. R. (2013).** Prevalence of multidrug-resistant enterococci in a tertiary care hospital in Mumbai, India. *J Infect Dev Ctries* **7**, 155–158.
- 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. *Scand J Infect Dis* **44**, 656–662.
- Donskey, C. J., Chowdhry, T. K., Hecker, M. T., Huyen, C. K., Hanrahan, J. A., Hujer, A. M., Hutton-Thomas, R. A., Whalen, C. C., Bonomo, R. A. & Rice, L. B. (2000).** Effect of Antibiotic Therapy on the Density of Vancomycin-Resistant Enterococci. *N Engl J Med* **343**, 1925–1932.
- Dutka-Malene, S. & Courvalin, P. (1994).** Résistance aux glycopeptides et aux aminosides chez les entérocoques - ScienceDirect. *sciencedirect* **24**, 158–164.
- El-Ghazawy, I. F., Okasha, H. A. S. & Mazloum, S. M. (2016).** A study of high level aminoglycoside resistant enterococci. *Afr J Microbiol Res* **10**, 572–577.
- Faibis, F., Fiacre, A. & Demachy, M. C. (2003).** Actualité sur la sensibilité des streptocoques aux antibiotiques (en dehors des entérocoques et de *Streptococcus pneumoniae*). *Ann Biol Clin (Paris)* **61**, 49–59.

- Francois-Ngo, S. & Mainardi, J.-L. (1998).** ENTEROCOCCUS FAECALIS : ASPECTS BACTERIOLOGIQUE, EPIDEMIOLOGIQUE ET THERAPEUTIQUE. *Feuill Biol* **39**, 21–26.
- French, G. L. (1998).** Enterococci and Vancomycin Resistance. *Clin Infect Dis* **27**, S75–S83.
- van Harten, R. M., Willems, R. J. L., Martin, N. I. & Hendrickx, A. P. A. (2017).** Multidrug-Resistant Enterococcal Infections: New Compounds, Novel Antimicrobial Therapies? *Trends Microbiol* **25**, 467–479.
- Hashem, Y. A., Yassin, A. S. & Amin, M. A. (2015).** Molecular characterization of Enterococcus spp. clinical isolates from Cairo, Egypt. *Indian J Med Microbiol* **33 Suppl**, 80–86.
- HORAUD, T. & LE BOUGUENEC, C. (1989).** Streptococcaceae : Genre Enterococcus. *MINOR VERON M- Bactériologie Médicale* 825–28. Paris, Flammarion.
- Huycke, M. ., Gilmore, M. . & Sahn, D. . (1998).** Multiple-drug resistant enterococci: the nature of the problem and an agenda for the future. *Emerg Infect Dis* **4**, 239–249.
- Leclercq, R. (1994).** Epidémiologie des infections nosocomiales à entérocoques. *Médecine Mal Infect* **24**, 199–206.
- Low DE, Barth A, Jones RN & Keller N. (1999).** Clinical prevalence, antimicrobial susceptibility, and geographic resistance patterns of enterococci. *Etat Unis*.
- Masson, E. (1996).** Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques. *EM-Consulte*.
- Mayhall, C. G. (1996).** Prevention and control of vancomycin resistance in Gram positive coccal microorganisms : fire prevention and fire fighting. *NFECTION C ONTROL H Osp E PIDEMIOLOGY* **17**, 353–355.
- Medell, M., Hart, M. & Batista, M. L. (2014).** Sensibilidad antimicrobiana in vitro en aislamientos de Enterococcus faecalis y Enterococcus faecium obtenidos de pacientes hospitalizados. *Biomédica* **34**, 50–7.
- Mittal, S., Singla, P., Deep, A., Bala, K., Sikka, R., Garg, M. & Chaudhary, U. (2016).** Vancomycin and High Level Aminoglycoside Resistance in Enterococcus spp. in a Tertiary Health Care Centre: A Therapeutic Concern. *J Pathog* **2016**.
- Murray, B. E. (2000).** Vancomycin-Resistant Enterococcal Infections. *N Engl J Med* **342**, 710–721.
- PAPA Abdoulaye. (1998, Juillet).** VANCOMYCINE RESISTANCE ET HAUT NIVEAU DE RESISTANCE AUX AMINOSIDES DE SOUCHES D'ENTEROCOQUES ISOLEES ADAKAR.

- Pepper, K., Horaud, T., Le Bouguéneq, C. & de Cespédès, G. (1987).** Location of antibiotic resistance markers in clinical isolates of *Enterococcus faecalis* with similar antibiotypes. *Antimicrob Agents Chemother* **31**, 1394–1402.
- Pieniz, S., de Moura, T. M., Cassenego, A. P. V., Andrezza, R., Frazzon, A. P. G., Camargo, F. A. de O. & Brandelli, A. (2015).** Evaluation of resistance genes and virulence factors in a food isolated *Enterococcus durans* with potential probiotic effect. *Food Control* **51**, 49–54.
- pothet, A. (2014, July 1).** Antibiotiques et antibiogrammes. Page, .
- Rice, L. B., Hutton-Thomas, R., Wood, A., Carias, L. L., Rudin, S., Lakticova, V. & Wood, A. (2005).** *Enterococcus faecium* Low-Affinity *pbp5* Is a Transferable Determinant. *Antimicrob Agents Chemother* **49**, 5007–5012.
- Sakka, V., Tsiodras, S., Galani, L., Antoniadou, A., Souli, M., Galani, I., Pantelaki, M., Sifakakos, N., Zerva, L. & Giamarellou, H. (2008).** Risk-factors and predictors of mortality in patients colonised with vancomycin-resistant enterococci. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis* **14**, 14–21.
- Schaberg, D. ., Gaynes, R. . & Culver, D. . (1991).** Major trends in the microbial etiology of nosocomial infection. *Am J Med* **91**, S72–S75.
- Schmidt-Hieber, M., Blau, I. W., Schwartz, S., Uharek, L., Weist, K., Eckmanns, T., Jonas, D., Rüden, H., Thiel, E. & Brandt, C. (2007).** Intensified strategies to control vancomycin-resistant enterococci in immunocompromised patients. *Int J Hematol* **86**, 158–162.
- SIGLER, A. . & HESSEN, M. . (1993).** Antibiotic Resistance in Clinically Important Gram positive Cocci. *Infect Med* **20**, 37–40, 43.
- Stosor, V., Noskin, G. A. & Peterson, L. R. (1996).** The management and prevention of vancomycin-resistant enterococci. *Infect Med* **13**, 487–488+493.
- Streff, K., Jean-Pierre, H., Darbas, H. & Paillisson, J. (1996).** Entérocoques au CHRU de Montpellier durant le mois de septembre 1993 : espèces isolées, répartition en fonction du prélèvement, rôle pathogène, sensibilité aux bêta-lactamines, aminosides, glycopeptides. *Med Mal Infect* **6–7**, 704–713.
- THIERCELIN, M. . (1899).** Sur un diplocoque saprophyte de l'intestin susceptible de devenir pathogène. *CR Soc Biol* **5**, 269–271.
- TOMASZ, A. (1994).** Multiple-Antibiotic-Resistant Pathogenic Bacteria : A Report on the Rockefeller University Workshop. *N Engl J Med* **330**, 1247–50.

- Wavare Sanjay M, Mv, G., V, G. S., G, S. A. & M, K. R. (2015).** A STUDY OF VANCOMYCIN RESISTANT ENTEROCOCCI ISOLATED FROM URINARY TRACT INFECTIONS. *Int J Pharm Pharm Sci* **7**, 337–339.
- Weinstock, D. ., Kiehn, T. ., Conlon, M., Iovino, C., Aubrey, T., Gudiol, C., Zuccotti, G., Young, J. . & Riedel, E. (2007).** Colonization, Bloodstream Infection, and Mortality Caused by Vancomycin-Resistant Enterococcus Early after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplant. *Biol Blood Marrow Transplant* **13**, 615–621.
- Williamson, R., le Bouguéneq, C., Gutmann, L. & Horaud, T. (1985).** One or two low affinity penicillin-binding proteins may be responsible for the range of susceptibility of *Enterococcus faecium* to benzylpenicillin. *J Gen Microbiol* **131**, 1933–1940.
- Zirakzadeh, A. & Patel, R. (2006).** Vancomycin-Resistant Enterococci: Colonization, Infection, Detection, and Treatment. *Mayo Clin Proc* **81**, 529–536.



## Annexe I

## Composition des milieux de culture (pour 1 L d'eau distillée) et produits chimiques

Les milieux de culture			
Gélose BEA		Gélose M17	
Extrait de viande	3 g	Peptone universelle	5g
Peptone	17g	Peptone de farine de soja	5g
Extrait de levure	5g	Extrait de levure	2.5g
Citrate de sodium	1g	Extrait de viande	5g
Citrate de fer	0.5g	Acide ascorbique	0.5g
Chlorure de sodium	5g	B-glycérophosphate de sodium	19g
Esculine	1g	Sulfate de magnésium	0.25g
Bile de bœuf	10g	Ph	7.1±0.2
Azide de sodium	0.25g		
Agar	13g		
PH	7.3±0.1		
Gélose Muller Hinton			
Infusion de viande de bœuf	300 g		
	17.5g	<b>H2O2 (%)</b>	
Hydrolysate de caséine	1.5g	<b>Tellurite de potassium (4%)</b>	
Amidon	7.3±0.1		
Agar			

<b>Produits chimiques</b>			
<b>Fushine phénique</b>		<b>Violet de gentiane</b>	
Fushine cristallisée	1g	Violet de gentiane	1g
Alcool éthylique	10 ml	Phénol	11g
Phénon	5g	Ethanol	10ml
Eau distillée	10 ml	Eau distillée	100ml
<b>Nacl (0.9%)</b>		<b>Lugol</b>	
Sodium	154 mmol/l	Iodure de potassium	2g
Chlorure	154 mmol/l	Iode métalloïde	1g
Ph	4.5-7.0	Eau <i>quod satis pour</i>	100g

### Coloration de Gram

1. On réalise un frottis sur une lame à partir d'une suspension bactérienne, avec l'aide d'une anse que l'on préalablement stérilise (en la passant sous le bec benzène). On prélève un peu de la solution bactérienne en plongeant le fil de platine de l'anse dans le tube à essai. On dépose ensuite ce prélèvement au milieu de la lame en faisant des rotations jusqu'à séchage. On procède à la fixation du frottis, on passe 3 fois la lame dans la flamme du bec bunsen.
2. La coloration au violet de Gentiane : la lame est plongée pendant 1 min dans la coloration au violet de gentiane. Toute les bactéries sont colorées en violet puis rincer à l'eau déminéralisée.
3. Mordantage au lugol : étaler le lugol et laisser agir quelques secondes.
4. Décoloration à l'alcool : surveiller la décoloration 5 à 10 secondes puis rincer à l'eau déminéralisée. L'alcool pénètre dans la bactérie. La coloration au violet de Gentiane disparaît. Les bactéries décolorées sont les bactéries Gram-. Si l'alcool ne traverse pas la paroi, on est en présence de bactéries Gram+.
5. Contre coloration avec de la Fuchsine : Laisser agir de 1 minute puis laver doucement à l'eau déminéralisée. Sécher la lame sur une platine chauffante à 40°C, 10 minutes.
6. Observer au microscope optique (Gx100) : {Gram+ :couleur violette ; Gram- : couleur rose}.

## Annexe II

Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Enterococcus* spp.

**Conditions du test :**

Milieu : Gélose Mueller Hinton

Inoculum : Colonies en suspension 0,5 Mc Farland

**Contrôle de qualité :**

*S.aureus* ATCC25923

*E.faecalis* ATCC29212

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)	
		Résistant	Intermédiaire	Sensible	Résistant	Sensible
<b><u>B-lactamines :</u></b> Ampicilline	10 µg	≤ 16	-	≥ 17	≥ 16	≤ 8
<b><u>Tétracyclines :</u></b> Tétracyclines	30 µg	≤ 14	15-18	≥ 19	≥ 16	≤ 4
<b><u>Glycopeptides :</u></b> Vancomycine*** Téicoplanine	30 µg 30 µg	≤ 14 ≤ 10	15-16 11-13	≥ 17 ≥ 14	≥ 32 ≥ 32	≤ 4 ≤ 8
<b>Aminosides :</b> Gentamicine HN** Streptomycine HN**	120 µg 300 µg	≤ 6 ≤ 6	7-9 7-9	≥ 10 ≥ 10	>500 >1000(liquide) >2000(solide)	≤ 500 - -
<b><u>Fuoroquinolones :</u></b> Levofloxacin	5 µg	≤ 13	14-16	≥ 17	≥ 8	≤ 2
<b><u>Autre :</u></b> Erythromycine Furanes	15 µg 300 µg	≤ 13 ≤ 14	14-22 15-16	≥ 23 ≥ 17	≥ 8 ≥ 12,8	≤ 0,5 ≤ 32

Incubation : 35°C, atmosphère ordinaire ; 16 à 24 h

\*\* : Haut niveau de résistance.

\*\*\* : Incuber pendant 24 heures.

## Annexe III

## Identification des souches des entérocoques isolés au EPH d'EL-MENIA

Co de	N° de souche	Gélose GM17 glucosé	Gram	Isolement sur BEA	Catalase	Croissance sur bouillon hypersalé 6.5% Nacl	Test de tellurite de potassium	Résistance à la chaleur
128	1	+	+	+	-	+	+	+
139	2	+	+	+	-	+	+	+
141	3	+	+	+	-	+	+	+
145	4	+	+	+	-	+	+	+
169	5	+	+	+	-	+	+	+
171	6	+	+	+	-	+	+	+
180	7	+	+	+	-	+	+	+
183	8	+	+	+	-	+	+	+
192	9	+	+	+	-	+	+	+
195	10	+	+	+	-	+	+	+
205	11	+	+	+	-	+	+	+
211	12	+	+	+	-	+	+	+
214	13	+	+	+	-	+	+	+
222	14	+	+	+	-	+	+	+

## Annexe VI

## Renseignements collectés au cours de l'étude

n° de souche	Code	sexe	date	prélèvement	service	Age
1	128	F	06/02/2017	ECBU	Externe	40 ans
2	139	H	07/02/2017	HEMO	Dialyse	65 ans
3	141	F	19/02/2017	ECBU	Externe	10 ANS
4	145	F	19/02/2017	ECBU	Externe	15 ans
5	169	F	15/03/2017	ECBU	Externe	24 ans
6	171	F	22/03/2017	PUS	Chirurgie	55 ans
7	180	H	24/03/2017	PUS	Chirurgie	62 ans
8	183	H	24/03/2017	ECBU	Externe	14ans
9	192	H	29/03/2017	PUS	MI	29 ans
10	195	H	01/04/2017	ECBU	MI	50 ans
11	205	H	02/04/2017	PUS	Pédiatrie	12 ans
12	211	H	04/04/2017	PUS	MI	24 ans
13	214	H	06/04/2017	PUS	Pédiatrie	69 ans
14	222	H	11/04/2017	PUS	Réanimation	19 ans

## Annexe V

## Résultat d'étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches clinique

n° de souche	Code	ATB	ATB	ATB	ATB	ATB	ATB
		AMP	GEN	ERY	TCY	VAN	NIT
1	128	28mm(S)	07mm(I)	24mm(S)	15mm(I)	22mm(S)	13mm(R)
2	139	24mm(S)	16mm(S)	12mm(R)	12mm(R)	16mm(I)	18mm(S)
3	141	19mm(S)	14mm(S)	24mm(S)	14mm(R)	24mm(S)	20mm(S)
4	145	18mm(S)	12mm(S)	10mm(R)	10mm(R)	18mm(S)	17mm(S)
5	169	21mm(S)	13mm(S)	11mm(R)	12mm(R)	22mm(S)	21mm(S)
6	171	22mm(S)	16mm(S)	26mm(S)	11mm(R)	23mm(S)	18mm(S)
7	180	20mm(S)	15mm(S)	09mm(R)	14mm(R)	24mm(S)	19mm(S)
8	183	23mm(S)	14mm(S)	08mm(R)	20mm(S)	21mm(S)	19mm(S)
9	192	06mm(R)	08mm(I)	25mm(S)	19mm(S)	20mm(S)	20mm(S)
10	195	26mm(S)	11mm(S)	12mm(R)	21mm(S)	23mm(S)	22mm(S)
11	205	27mm(S)	05mm(R)	27mm(S)	09mm(R)	22mm(S)	18mm(S)
12	211	10mm(S)	03mm(R)	08mm(R)	11mm(R)	24mm(S)	21mm(S)
13	214	19mm(S)	04mm(R)	26mm(S)	22mm(S)	25mm(S)	19mm(S)
14	222	20mm(S)	05mm(R)	09mm(R)	23mm(S)	20mm(S)	12mm(R)

## Résumé

Ce travail effectué à EPH le Colonel Mohamed Chaabani d'EL-MENIA avait pour objectif d'établir un état des lieux des infections à entérocoques dans la région EL-MENIA. L'ensemble des résultats montrent que la majorité des souches sont isolés à partir de pus avec un taux de 50%. L'espèce *E.faecalis* est retrouvée en majorités des cas (78,57%). La majorité des prélèvements proviennent des externes (35,71%), suivie par le service de médecine interne (21,43%). Toutes les souches ont exprimés une résistance, au moins, à un des antibiotiques testés. Les taux résistance les plus élevés concernent la tétracycline avec un taux de (64,28%), l'érythromycine (57,14%), gentamycine à haut niveau (42,86%). Des taux de résistance plus bas à la Furanes et à l'ampicilline (14,29%) sont enregistrés. Aucun VRE n'a été détecté. Cependant une souche d'origine urinaire a présenté une résistance intermédiaire la vancomycine. Afin de remédier au problème de santé publique causé par les entérocoques, des mesures de contrôle et de surveillance sont nécessaires pour éviter la dissémination des souches multirésistance et prévenir l'émergence des VRE.

**Mots clés :** entérocoques, multirésistance aux antibiotiques, VRE.

---

## Abstract

This work carried out at EPH Colonel Mohamed Chaabani of EL-MENIA aimed to establish an inventory of enterococcal infections in the EL-MENIA region. All the results show that the majority of strains are isolated from pus with a rate of 50%. Only *E.faecalis* was found predominante in the carried infections (78.57%). The majority of the samples were taken from external patients (35.71%), followed by the internal medicine service (21.43%). All strains expressed resistance, at least, to one of the antibiotics tested. The highest resistance levels were found using tetracycline with a rate of (64.28%), erythromycin (57.14%) and with high-level gentamycin (42.86%). Whereas, lower resistance levels to Furanes and ampicillin (14.29%) are recorded. Importunately, no VRE were detected. However, one strain from urinary origin showed an intermediate resistance to vancomycin. To take a serious the problem of infections caused by enterococci, a control and surveillance measures are needed to prevent the spread of multidrug resistance strains and to prevent the emergence of VRE.

**Key words:** Enterococci, multidrug resistance, VRE.