

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Microbiologie en Secteur Biomédical et Vétérinaire



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 CHU Khellil
Amrane.*

Présenté par :

Madjmaa Ouidad & Boulmaize Hassina

Soutenu le : 14 Juin 2016

Devant le jury composé de :

M ^{me} Yahiaoui H.	MAA	Président
M ^r Ladjouzi Rabia.	MCB	Encadreur
M ^{me} Messaoudi K.	MCB	Examineur

Année universitaire : 2015 / 2016

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions ALLAH, notre créateur de nous avoir donné la force, la volonté et le courage afin d'accomplir ce travail.

Nous remercions la présidente du jury Mme. Yahiaoui .H pour l'honneur d'avoir accepté de présider ce jury de mémoire de fin d'études, ses critiques constructives ainsi ses observations.

Nous remercions notre examinatrice Mme Massaoudi.K d'avoir accepté d'évaluer ce travail. Merci pour vos précieuses observations et orientations.

Nous remercions également notre promoteur Ladjouzi Rabia et notre co-promotrice M^{elle} Zaidi.F Vous nous avez inspiré ce travail et vous nous avez guidées dans sa réalisation malgré vos multiples occupations. Votre abord facile, votre disponibilité, votre rigueur scientifique fondent l'admiration de tous .Puisse ce travail répondre à vos attentes et être le témoignage de notre profonde reconnaissance.

Nos sincères remerciements s'adressent au Dr. Boutaleb le responsable du laboratoire du CHU Khellil Amrane de Béjaia qui nous a accueillies et à tout le personnel de laboratoire de bactériologie qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé nos réflexions et ont accepté de nous rencontrer et répondre à nos questions durant nos recherches.

Nous remercions également :

Le responsable du laboratoire d'analyses privé Dr Moualek qui nous a aidées à compléter les antibiogrammes.

Enfin, nous devons un remerciement à tous les enseignants et le corps administratif de la faculté de biologie et spécialement de département de Microbiologie pour leurs qualités scientifiques et pédagogiques.

Nous tenons à remercier chaleureusement, tous nos proches et tous ceux qui, de près ou de loin, nous ont apportées leur sollicitude pour accomplir ce travail.

DÉDICACES

Je dédie ce modeste travail à :

Ceux qui j'ai tant aimés avec beaucoup d'affection et je suis très fière de les avoir et tous les mots du monde ne peuvent exprimer l'amour et le respect que je leur porte : mes très chers parents «ma mère cherifa et mon père omar»

Puisse Dieu, tout puissant, les préserver et les accorder santé, longue vie et bonheur

Mes chers frères: Ibrahim, Adel, Mouhamed, Khaled.

Mes très chères soeurs :

Sonia, Tu as toujours été présente pour les bons conseils. Saliha, Ton affection et ton soutien m'ont été d'un grand secours au long de ma vie professionnelle. Toma, En témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour vous Je vous dédie ce travail.

A ma tante Zebida qui m'a soutenue durant tous mon cursus.

Mes baux frères : Hakim, Fathi.

Et ma petite chère soeur : Lina, Je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité.

Tous mes neveux Et mes nièces.

A mon cher « Abderrezzak »

A mes chères ami (e)s en témoignage de l'amitié qui nous unis et les souvenirs de tous les moments que nous avons passé ensemble

Enfin, ce avec qui j'ai partagé ce travail : ma précieuse amie Ouidad.

Hasna. B

DÉDICACES

A toi ma mère.

Ouidad

SOMMAIRE

Liste des abréviations

Listes des tableaux et figures

I. Introduction 1

Synthèse bibliographique

I. Généralités et propriétés physicochimiques des entérocoques.....2

II. Implication des entérocoques dans les infections nosocomiales.....4

III. Multirésistance aux antibiotiques des entérocoques5

VI. Etat des infections à ERV en Algérie9

Matériels et méthodes

I. Contexte de l'étude et lieu de stage..... 10

II. Recueil des souches..... 10

III. Identification des souches 10

IV. Etude de la sensibilité des entérocoques aux antibiotiques 15

IV.1. Antibiogramme 15

Réalisation de l'antibiogramme..... 15

Lecture 15

IV.2. Recherche de la bêta-lactamase..... 15

Test de trèfle 16

Résultats

I. Collecte et caractérisation des souches bactériennes..... 17

II. Etude épidémiologique des infections à entérocoque 21

II.1. Répartition des souches selon type d'infection 22

II.2. Répartition des souches selon le service d'hospitalisation..... 23

II.3. Répartition des souches selon le type de prélèvement 24

II.4. Caractéristiques de la population étudiée 24

Selon le sexe 24

Selon l'âge	25
III. Etude de la résistance des entérocoques aux antibiotiques.....	25
Discussion générale	28
Conclusion	31
Références bibliographiques	
Annexes	
Résumé	

Liste des abréviations

Liste des abréviations

ARN	Algerian Antimicrobial resistance network.
ADN	Acide désoxyribonucléique.
AME	Aminoglycoside Modifying Enzyme.
AMP	Ampicilline.
BHS	Bouillon hypersalé.
ARNr	Acide ribonucléique ribosomique.
ATCC	American Type Culture Collection.
BEA	Bile Esculine Azide de Sodium.
BMR	Bactéries multirésistantes.
UFC	Unités formant Colonie.
CHL	Chloramphénicol.
CHRU	Centre Hospitalier régional universitaire.
CHU	Centre Hospitalo-universitaire.
CLIN	Comité de lutte contre les infections nosocomiales.
D-Ala-D-Ala	D-Alanyl-D-Alanine.
EPH	Etablissement public hospitalier.
ERV	Entérocoque Résistant à la vancomycine.
ERY	Erythromycine.
GHN	Gentamycine haut niveau.
I	Intermédiaire.
IN	Infections nosocomiales.
MLS	Macrolides Lincosamides Streptogramines.
NIT	Nitrofuranes.
PLP	Pénicilline liant les protéines.
PYR	L -pyrrolidonyl-3-naphthylamide.

Liste des abréviations

R	Résistant.
S	Sensible.
TCY	Tétracycline.
VAN	Vancomycine.

Liste des tableaux

<i>Liste des tableaux</i>		<i>page</i>
<i>Tableau I</i>	Mécanisme de résistance des entérocoques aux antibiotiques.	06
<i>Tableau II</i>	Caractéristiques de la résistance aux glycopeptides.	08
<i>Tableau III</i>	Tests d'identification des souches d'entérocoque.	13
<i>Tableau IV</i>	la liste des antibiotiques testés sur les entérocoques.	16
<i>Tableau V</i>	caractérisation des entérocoques isolés au CHU de Bejaia.	18
<i>Tableau VI</i>	répartition des taux de résistance selon le type de prélèvement.	28

Liste des figures

<i>Liste des figures</i>		<i>page</i>
Figure 01	Mode d'action des glycopeptides	07
Figure 02	Aspect des entérocoques sur milieu CHROMagar	19
Figure 03	Isolement des entérocoques sur gélose BEA.	20
Figure 04	Entérocoques observés sous un microscope optique après coloration de Gram (X100).	20
Figure 05	Résultats des tests de croissance sur BHS	21
Figure 06	Croissance d' <i>E. faecalis</i> sur milieu M17 additionné de tellurite	21
Figure 07	La galerie API 20 STREP de la souche <i>E. faecium</i>	22
Figure 08	Répartition des souches selon l'espèce.	22
Figure 09	principaux micro-organismes responsables des infections au niveau de CHU de Béjaia.	23
Figure 10	Répartition des souches selon le type d'infection.	24
Figure 11	Répartition des souches selon le service d'hospitalisation.	25
Figure 12	répartition des souches selon l'origine du prélèvement.	25
Figure 13	Répartition des souches selon le sexe des patients.	26
Figure 14	Répartition par tranche d'âge des patients.	26
Figure 15	Taux de résistance et de sensibilité des souches d'entérocoques vis-à-vis des antibiotiques testés.	27
Figure 16	Résultat négatif du test de trèfle. (T+ : témoin positif, T- : témoin négatif. S1 et S2 : souches testées)	28

Introduction

La découverte des antibiotiques a complètement révolutionné l'histoire des pathologies infectieuses et depuis les phénomènes de résistance n'ont cessé de s'accroître. Les glycopeptides qui étaient considérés comme alternative dans certains échecs thérapeutiques dans le traitement des infections dues aux bactéries à Gram positif sont actuellement confrontés à des problèmes de résistance notamment chez les entérocoques.

Longtemps considérées comme des bactéries commensales du tube digestif de l'homme, les entérocoques ont vu ces dernières années leur rôle prendre de l'importance dans les infections nosocomiales et chez les sujets ayant des terrains fragilisés (insuffisants rénaux, diabétiques, immunodéprimés et transplantés). Ces bactéries sont dangereuses du fait de leur multirésistance naturelle à de nombreuses familles d'antibiotiques, aggravée ces dernières années par l'émergence de souches résistantes aux glycopeptides. De ce fait, la détection des entérocoques multirésistants aux antibiotiques 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 lutte 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 le contexte de la résistance bactérienne que s'inscrit notre travail qui a pour objectif de faire l'état des lieux des infections à entérocoques dans la Wilaya de Béjaia. Pour ce faire nous allons dans la première partie donner des généralités sur les entérocoques et les glycopeptides mais également l'état des infections à entérocoques résistants aux glycopeptides en Algérie. Dans la deuxième partie nous allons présenter le matériel utilisé et décrire les méthodes suivies. Dans la troisième partie nous allons citer nos résultats puis la discuter dans la quatrième partie pour éventuellement proposer des solutions et dégager des perspectives pour diminuer ou freiner ce phénomène grandissant devenu un réel problème de santé publique.

I. Généralités et propriétés physicochimiques des entérocoques

Les entérocoques sont des commensaux de l'intestin de l'homme et des animaux ainsi que des saprophytes de l'environnement. Leur acide lipotéchoïque possède les mêmes propriétés antigéniques des streptocoques du groupe D. Responsables de pathologies fréquemment opportunistes, ils présentent une résistance naturelle à certains antibiotiques et acquièrent de nouveaux mécanismes de résistance (Thiercelin, 1899). L'espèce la plus fréquemment isolée chez l'homme a été décrite dès 1899 par Thiercelin et appelée initialement *Streptococcus faecalis* par Andrewes et Horder en 1906 (Thiercelin, 1899).

Le genre *Enterococcus* a été séparé du genre *Streptococcus* en 1984 d'après les résultats des techniques de chimiotaxonomie et de génétique moléculaire : hybridation ADN-ADN ou ADN-rARN, et de séquençage des oligonucléotides de la sous unité 16S de l'ARN des ribosomes (Farrow *et al.*, 1983; Garvie & Farrow, 1981; Kilpper-Bälz *et al.*, 1982; Ludwig *et al.*, 1985; Schleifer & Kilpper-Bälz, 1984; Williams *et al.*, 1991). *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* représentent plus de 90% des souches isolées en pathologie humaine (Devriese *et al.*, 1990). Quarante quatre espèces sont identifiées (Destain *et al.*, 2012; Ladjouzi, 2013).

Les entérocoques sont des cocci ovoïdes à Gram positif, disposés en courtes chainettes de 2 à 4 cellules. En microscope électronique, ils ne se distinguent pas des deux genres bactériens voisins : les streptocoques et les lactocoques. Leur seule morphologie ne permet pas non plus de les distinguer avec certitude des autres cocci à Gram positif appartenant également à la famille des Streptococcaceae en particulier des genres *Leuconostoc* et *Pediococcus* ni du genre *Peptostreptococcus* (anaérobies strictes).

Comme les streptocoques et les lactocoques, les entérocoques sont des anaérobies aéro-tolérants, dépourvus de cytochrome, ils sont de ce fait catalase négatif bien que le gène codant cette enzyme soit présent au sein de leur génome, non sporulant, majoritairement immobiles (Devriese *et al.*, 1990). Ils sont également homofermentaires, car ils fermentent le glucose en produisant essentiellement de l'acide lactique (Pieniz *et al.*, 2015). Mais la particularité des entérocoques à se multiplier sur des milieux usuels à base de peptone (Trypticase soja et Mueller-Hinton) en l'absence de facteurs de croissance constitue un facteur important dans la

Synthèse bibliographique

reconnaissance de ces bactéries (Leclercq, 2001). La croissance des entérocoques en milieu hypersalé, contenant 6,5 g/l de NaCl (propriété halophile) permet avant tout de les distinguer des streptocoques, de même que leur capacité à se multiplier à pH 9,6 et à des températures de 10°C à 45°C et survie après 30 minutes de chauffage à 60°C (Bouvet & Couvry, 1994). Les entérocoques sont aussi capables de tolérer la présence de 40% de bile et à hydrolyser la L-pyrrolidonyl-3-naphthylamide (PYR) et l'esculine, cette dernière propriété est due à la présence d'une bêta-glucosidase (Weinstock *et al.*, 2007).

En pratique, cette enzyme est à l'origine de la formation de colonies bleu-verts sur gélose CHROMagar orientation. Ainsi, La capacité des entérocoques à se multiplier en présence de la bile et à hydrolyser l'esculine explique la formation d'un halo noir autour des colonies sur gélose bile-esculine (BEA) (Weinstock *et al.*, 2007). Néanmoins, ces propriétés sont autant présentes chez les streptocoques du groupe D comme *S. bovis* et *S. equinus* (Weinstock *et al.*, 2007). Pour distinguer rapidement les entérocoques des streptocoques du groupe D, un des caractères les plus discriminatifs est la production de pyrro-lidonyl-arylamidase. Cette propriété, qui peut être reconnue en 4h est constante chez tous les entérocoques (Bosley *et al.*, 1983; Fertally & Facklam, 1987; Freney *et al.*, 1992). Sur gélose au sang, la plupart des souches d'entérocoques sont alpha ou non hémolytique, et le caractère bêta hémolytique de certaines souches ou de certaines espèces dépend des conditions de culture (Facklam & Collins, 1989; Weinstock *et al.*, 2007).

Le diagnostic de l'espèce d'entérocoque repose sur des caractères de culture, de mobilité et de pigmentation et sur une batterie de tests biochimiques. La résistance au tellurite de potassium permet de reconnaître, avec une bonne approximation l'espèce la plus fréquemment isolée chez l'homme : *E. faecalis*. En effet, plus de 90% des souches de cette espèce peuvent se multiplier en présence de 0,04% de tellurite de potassium en donnant des colonies noires (Facklam & Collins, 1989). La mobilité, observée à l'examen microscopique d'une culture en milieu liquide, ou en milieu mobilité contenant une faible concentration d'agar est caractéristique d'*E. casseliflavus* et d'*E. gallinarum*. La pigmentation jaune des colonies est caractéristique de *E. casseliflavus*, *E. mundtii* et *E. sulfureus* (M. D. Collins *et al.*, 1984 ; Martinez-Murcia & Collins, 1991). Pour l'identification biochimique, les systèmes automatisés sont d'une grande aide : on peut citer comme exemple les galeries API 20 Strep et ID 32 STREP (Bio Mérieux) (Chauffrey L, 2012). Les caractères les plus distinguant sont :

Synthèse bibliographique

la production d'acétoïne (Réaction de Voges-Proskauer), l'hydrolyse de l'arginine, la fermentation des polyalcools et polysaccharides (mannitol, sorbitol, L-raffinose, saccharose, lactose), tandis que le caractère protéolytique n'est habituellement pas étudié.

II. Implication des entérocoques dans les infections nosocomiales

Les entérocoques colonisent les intestins de plus de 90% des adultes sains et elles sont retrouvées avec une quantité supérieure à 10^7 CFU/g de fèces (Mead, 1978; Noble, 1978). La colonisation digestive joue un rôle important puisqu'elle précède toujours l'infection (Patel, 2003). *E.faecalis* est plus commun qu'*E.faecium* alors que les autres espèces sont trouvées très rarement (Huycke *et al.*, 1998). Le risque pour le patient de développer une infection une fois colonisé dépend du terrain. Les facteurs de risque exposant à une infection sont 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).

La plupart des isolats d'entérocoques représentent une colonisation plutôt qu'une infection. Elles sont parfois trouvées en association avec d'autres bactéries plus virulentes, et le site le plus commun d'isolement est le tractus. Elles sont responsables d'infections plus invasives telles que cholécystites, cholangites, péritonites, septicémies, endocardites et méningites, tant que simples infections des plaies (Robert C et Moellering, 1992).

Dans les deux dernières décennies, les entérocoques sont devenus la troisième cause la plus commune des infections nosocomiales (IN) après *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* (Schaberg *et al.*, 1991). La majorité des infections à entérocoque sont d'origine endogène, à partir de la flore digestive des patients, que ce soit directement par perforation digestive, ou par mécanisme ascendant lors des infections urinaires. Cependant, l'apparition des techniques de biologie moléculaire, a permis de caractériser avec précision les souches d'entérocoques lors d'épidémies nosocomiales, et ainsi de démontrer l'existence d'acquisitions exogènes, provenant de l'environnement du patient (Coudron *et al.*, 1984; Rhinehart E *et al.*, 1990).

III. Multirésistance aux antibiotiques des entérocoques

Les entérocoques sont naturellement les bactéries Gram positif les plus résistants aux antibiotiques en clinique (French, 1998). 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 *et al.*, 2005). Ils sont plus sensibles à l'ampicilline qu'à la pénicilline (French, 1998).

Les entérocoques présentent aussi un bas niveau de résistance à la clindamycine, aminoglycosides, quinolones, sulfamides, et des résistances naturelles de bas niveau aux glycopeptides pour les espèces *E.gallinarum*, *E.casseliflavus*, *E.flavescens*.

En plus de cette résistance naturelle de bas niveau, les entérocoques peuvent acquérir des résistances de haut niveau et des résistances à d'autres antibiotiques pour lesquels ils étaient initialement sensibles (French, 1998) :

- Résistance de haut niveau croisée à toutes les pénicillines (surtout chez *E. faecium*) liée à l'hyperproduction de la PLP5. Ainsi, quelques souches d'*E. faecalis* produisent une bêtalactamase plasmidique similaire à la pénicillinase de *S. aureus* mais ces souches sont rares (B E Murray, 1992; M L Grayson *et al.*, 1991; Virginia D. Wells *et al.*, 1992) .
- Un haut niveau de résistance aux aminoglycosides peut être acquis par le biais d'une mutation chromosomique (altération du ribosome) ou par acquisition des plasmides codant une enzyme modifiant les aminoglycosides (AME) (Donald J. Krogstad *et al.*, 1978; George M. Eliopoulos *et al.*, 1984).
- Une résistance au chloramphénicol, généralement enzymatique et plasmidique (French, 1998).
- Une résistance à haut niveau à l'érythromycine et à la clindamycine qui est le résultat de la dissémination des transposons codant la résistance aux Macrolides/Lincosamides /Streptogramines (French, 1998).

Synthèse bibliographique

- La résistance à la tétracycline est aussi commune par l'intermédiaire de différents mécanismes qui peuvent être transférés par des plasmides et des transposons (French, 1998).
- Une résistance plasmidique transférable de haut niveau aux glycopeptides (French, 1998).

tableau I : Mécanismes de résistance des entérocoques aux antibiotiques

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

L'activité bactéricide nécessaire au traitement d'infections sévères à entérocoques associe un antibiotique actif sur la paroi à savoir la vancomycine ou une bétalactamine et un aminoglycoside .Ainsi, l'imperméabilité de la paroi des entérocoques vis-à-vis des aminoglycosides expliquant leur résistance de bas niveau est levée par l'action préalable de la vancomycine ou de la bétalactamine (Buu-Hoï & Horodniceanu, 1980; Sigler.J & Hessen M.T, 1993; Reina M. Flores *et al.*, 1996 ; Stosor *et al.*, 1996; Francois-Ngo & Mainardi, 1998) .

Les glycopeptides : vancomycine et teicoplanine, sont les deux seuls glycopeptides dont peuvent actuellement disposer les cliniciens. Il s'agit d'antibiotiques actifs sur les bactéries à Gram positif dont l'usage doit être réservé à la

Synthèse bibliographique

prise en charge d'infections dues à des germes multirésistants comme les staphylocoques méticillinorésistants, les entérocoques résistants aux aminopénicillines et les pneumocoques résistants à la pénicilline, ou lors du traitement d'infections sévères à cocci à Gram positif chez des patients allergiques aux bêtalactamines (Rabaud & May, 2000). La vancomycine a été découverte en 1956. Elle est naturellement produite par *Streptomyces orientalis*, micro-organisme isolé dans une boue provenant de la jungle de Bornéo. La teicoplanine, identifiée en 1978, est produite par fermentation d'une souche d'actinomycètes : *Actinoplanes teichomyceticus*. On connaît de nombreux autres glycopeptides non disponibles en médecine humaine comme l'avoparcine ou la daptomycine, largement utilisées en médecine vétérinaire (Rabaud & May, 2000).

Chez les bactéries à Gram positif, les glycopeptides diffusent au sein de la paroi bactérienne qui est constituée à 90 % de peptidoglycane, et se fixent à leur substrat : les disaccharides-pentapeptides. Ces disaccharides-pentapeptides sont synthétisés au sein du cytoplasme de la bactérie. Ils franchissent ensuite la membrane cytoplasmique pour rejoindre la paroi bactérienne où leur polymérisation permet la synthèse du peptidoglycane (Rabaud & May, 2000) (figure1). Lorsque la bactérie est sensible, le glycopeptide forme un complexe avec les résidus peptidyl DAla-DAla au niveau des précurseurs du peptidoglycane lorsqu'ils émergent de la membrane cytoplasmique. Elles inhibent ainsi la polymérisation du peptidoglycane (Murray, 2000).

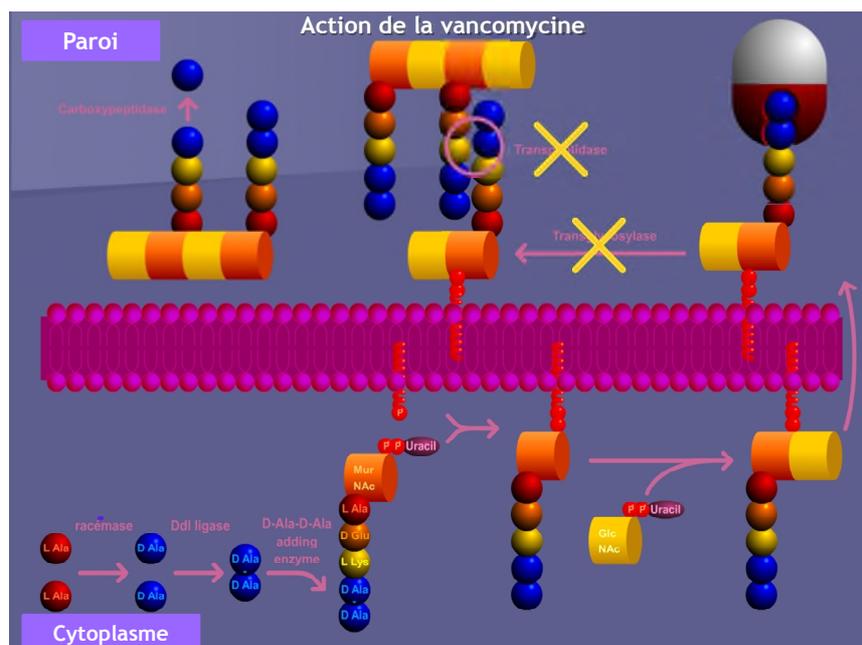


Figure 1 : Mode d'action des glycopeptides.

Synthèse bibliographique

L'entérocoque est la première bactérie connue à avoir acquis une résistance plasmidique transférable aux glycopeptides (Leclercq & Courvalin, 1997). Ces souches connues sous le nom de VRE (vancomycin resistant enterococci), ont été décrites pour la première fois en France en 1986, soit 30 ans après l'introduction de la vancomycine, mais c'est aux Etats Unis que les ERV ont émergé à la fin des années 1980. On attribue cette émergence à l'utilisation massive de la vancomycine orale dans le traitement des infections à *Clostridium difficile* (Rice, 2001).

La résistance à la vancomycine survient par un mécanisme induisant une modification de la cible, de nombreuses mutations affectent la terminaison du peptidoglycane DAla- DAla ne permettant plus la fixation des glycopeptides. Cinq phénotypes de résistance ont été décrits : VanA, VanB, VanC, VanD et VanE. Leurs caractéristiques sont exposées dans le tableau II (M. D. Collins *et al.*, 1984). La régulation de ces gènes de résistance est complexe. Seuls les phénotypes de résistance VanA et VanB sont transférables entre les souches. Ils concernent essentiellement *E. faecium* et à un degré moindre *E. faecalis*. Les phénotypes VanD (*E. faecium*) et VanE (*E. faecalis*) sont acquis mais non transférables et le phénotype VanC est constitutif (*E. gallinarium* et *E. casseliflavus*).

Tableau II. Caractéristiques de la résistance aux glycopeptides (Vuke-Weledji, 2014)

Caractéristiques	Type				
	VanA	VanB	VanC	VanD	VanE
Génétique	Acquis	Acquis	Naturel	Acquis	Acquis
Fin de peptidoglycane	D-Ala-DLac	D-Ala-DLac	D-Ala-D-Ser	D-Ala-DLac	D-Ala-D-Ser
Transférable	Oui	Oui	Non	Non	Non
CMI (g·ml⁻¹)					
vancomycine	64 à > 1 000	4 à > 100	2-32	16-64	16
téicoplanine	16-512	0.5-1	0.5-1	2-4	0.5
Sensibilité					
vancomycine	R	R	I-R	R	R
téicoplanine	R	S	S	S	S
Entérocoques	faecium faecalis	faecium faecalis	gallinarium casseliflavus	faecium	faecalis
CMI : concentration minimale inhibitrice ; S : sensible ; I : intermédiaire ; R : résistant.					

VI. Etat des infections à ERV en Algérie

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 en Algérie. Les deux souches isolées s'agissent d'*Enterococcus faecium* résistant à la vancomycine et à la téicoplanine. La première alerte était en Novembre 2010, la souche a été isolée à partir d'une hémoculture une enquête réalisé a révélé qu'il s'agit bien d'un cas autochtone, survenu chez un patient âgé de 47 ans hospitalisé pour brûlure grave La deuxième alerte était en Mars 2011, la souche a été isolée à partir d'un pus de plaie, chez un malade hospitalisé dans le service de médecine interne d'un CHU d'Alger. Les deux souches présentent par ailleurs 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. L'identification et la caractérisation du gène de résistance ont été confirmées par PCR au niveau de l'Institut Pasteur d'Algérie.

Cependant, le premier cas d'*Enterococcus faecalis* résistant à la vancomycine 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 *et al.*, 2008). Un autre cas de résistance aux glycopeptides a été récemment signalé par les travaux de Hamidi et ses collaborateurs en 2013.

La résistance des entérocoques à la vancomycine a coïncidé avec l'augmentation de la prévalence 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; Reina M. Flores *et al.*, 1996). Ce qui entraîne également l'augmentation de la durée d'hospitalisation et du coût du traitement, d'où la nécessité de détecter les hauts niveaux de résistance aux aminosides chez les entérocoques responsables d'infections ainsi que les entérocoques résistants à la vancomycine (VRE).

Synthèse bibliographique

Le but de ce travail vise à établir un état des lieux des infections dues aux entérocoques dans la région de Béjaia. Pour ce fait, nous avons adopté la méthodologie suivante :

- Collecte des souches d'entérocoques isolées à CHU de Béjaia ‘‘Khellil Amrane’’
- Caractérisation de leurs profils de résistance aux principaux antibiotiques utilisés en clinique pour le traitement des infections dues aux entérocoques.

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 wilaya de Béjaia, le laboratoire d'écologie microbienne a ciblé plusieurs centres de santé. Notre étude s'est déroulée au niveau du laboratoire de bactériologie du CHU Khellil Amrane à Béjaia pour une période allant de janvier à la fin d'avril 2016.

Le CHU Khellil Amrane est créé en 1985 comme un EPH. Au 06 octobre 2009, il est devenu un CHU en vertu du décret exécutif n° 09-319, composé de divers services d'hospitalisation (médecine interne, chirurgie générale, réanimation, traumatologie, pédiatrie, neurochirurgie, cardiologie, chirurgie infantile), et de deux pavillons des urgences (médico-chirurgicale et pédiatrique), reçoit environ 700 malades par mois avec une capacité litière de 244 lits. Un bloc opératoire avec un personnel médical de toutes les spécialités chirurgicales. Un laboratoire central composé de quatre unités (microbiologie, biochimie, hémobiologie, parasitologie-mycologie) avec 45 personnes paramédicales travaillant jour et nuit sous la direction de médecins spécialistes pour chaque unité, reçoit environ 146 prélèvements par jour (externe et interne).

II. Recueil des souches

Les prélèvements des différents services d'hospitalisation 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 rétro-périanale, pertes vaginales.

III. Identification des souches

Afin de caractériser les souches cliniques isolées des différents prélèvements pathologiques, un ensemble d'expériences a été effectué. Tout d'abord, les bactéries ont été isolées sur un milieu d'orientation (CHROMagar) 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

Matériel et méthodes

coloration de Gram et un test catalase ont été réalisés sur l'ensemble 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 et une galerie (API 20 Strep) ont été effectués pour déterminer l'espèce.

Les tests effectués, leurs principes, les techniques et la lecture des résultats positifs sont résumés au tableau suivant :

Tableau III : Tests d'identification des souches d'entérocoque.

Matériel et méthodes

Test	Principe	Technique	Lecture
CHROMagar Orientation*	<p>Un milieu non sélectif servant à l'isolement, à l'identification directe, le mélange chromogène se compose des substrats artificiels (chromogènes), qui libèrent des composés de diverses couleurs lors de la dégradation causée par des enzymes microbiennes spécifiques, ce qui permet de différencier directement certaines espèces et de détecter certains groupes de microorganismes avec un nombre limité de tests de confirmation.</p>	<p>Ensemencer l'inoculum en surface et réaliser un isolement selon la méthode des quadrants. Incuber à 37°C/24h.</p>	<p>Petites colonies bleu-vert indiquant la présence des entérocoques.</p>
Gélose BEA*	<p>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-.</p>		<p>Petites colonies translucides entourées d'un halo noir indiquant la présence des entérocoques.</p>

Matériel et méthodes

<p>Coloration de Gram</p>	<p>Différencier entre deux grands groupes bactériens : bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif</p>	<p>Réalisation de frottis. Coloration VLAFF (violet de gentiane, Lugol, alcool, fuschine) Observation microscopique à l'immersion x100.</p>	<p>A l'observation, les bactéries à Gram positif gardent leur coloration violette ; après une décoloration par l'alcool par contre les bactéries à Gram négatif sont décolorées par l'alcool et seront teintées par la fuschine. Elles apparaîtront en rose ou rouge.</p>
<p>Test de catalase</p>	<p>Le 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'O₂ $2 \text{H}_2\text{O}_2 - (\text{catalase}) \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$</p>	<p>Mettre en contact sur une lame une colonie avec de l'eau oxygénée.</p>	<p>La réaction est positive si on observe un dégagement gazeux</p>
<p>Bouillon hypersalé*</p>	<p>Les entérocoques sont tous capables de se développer en milieu hypersalé (6.5% NaCl) contrairement aux streptocoques.</p>	<p>Prélever des colonies bactériennes et l'ensemencer dans des tubes de bouillon hypersalé. Incubation à 37°C/24h.</p>	
<p>Résistance à la chaleur</p>	<p>La plupart des entérocoques sont résistants à un traitement de températures 63°C pendant 30min.</p>	<p>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.</p>	<p>L'apparition de trouble dans les tubes correspond à la croissance des microorganismes (la bactérie est résistante au traitement)</p>

Matériel et méthodes

<p>Test au tellurite de potassium</p>	<p>Les souches d'<i>E. faecalis</i> sont les seules capables de se multiplier en présence de tellurite de potassium en donnant des colonies noires.</p>	<p>Un volume de 5 ml tellurite de K⁺ 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.</p>	<p>L'apparition de colonies noires indique la présence d'<i>E. faecalis</i>.</p>
<p>La galerie API 20 Strep</p>	<p>API 20 Strep est un système standardisé associant 20 tests biochimiques permettant de faire un diagnostique de groupe ou d'espèce pour la plupart des streptocoques et entérocoques.</p> <p>La galerie API 20 Strep comporte 20 microtubes contenant les substrats déshydratés pour la mise en évidence d'activités enzymatiques ou de fermentation de sucres.</p> <p>Les tests enzymatiques sont inoculés avec une suspension dense, réalisée à partir d'une culture pure. Incubation 24h / 37°C.</p>	<p>Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.</p> <p>La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification.</p>	

*La composition de ces milieux est donnée en Annexe I.

Matériel et méthodes

IV. Etude de la sensibilité des entérocoques aux antibiotiques

IV.1. Antibiogramme

Au cours de notre étude nous avons déterminé la sensibilité des souches d'entérocoques vis-à-vis 7 antibiotiques (tableau IV) appartenant à différents familles par la technique d'antibiogramme standard par diffusion sur gélose Mueller Hinton selon les recommandations de CLSI.

Tableau IV : la liste des antibiotiques testés sur les entérocoques.

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

❖ Réalisation de l'antibiogramme

A partir des cultures de 24h, nous avons réalisé 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 boites de gélose Muller Hinton à l'aide d'un écouvillon stérile en réalisant trois couches de stries serrées 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 boites à 37°C pendant 18 à 24h.

❖ Lecture

On mesure à l'aide d'une règle les différents diamètres des zones d'inhibition obtenus autours 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).

Matériel et méthodes

IV.2. Recherche de la bêta-lactamase

La recherche de la sécrétion de B-lactamase est obligatoire pour toute souche de *N.gonorrhoeae*, *Haemophilus spp*, *Branhamella catarrhali*, *Enterococcus spp*, *Staphylococcus spp*.

Test de trèfle

Technique :

On ensemence une souche de *S.aureus* ATCC 25923 (sensible à la pénicilline) sur une gélose Muller Hinton puis on applique un disque d'ampicilline au centre de la boîte. Sur ce couche, on ensemence en stries (du centre de la boîte à la périphérie) la souche à tester, une souche témoin négatif *S.aureus* ATCC 25923, une souche témoin positif *S.aureus* ATCC 43300 (résistante à la méticilline). Incuber la boîte 18h à 35°C.

Lecture :

La production de B-lactamase (pénicillinase) par la souche à étudier et la souche témoin positif induit la culture de la souche témoin négatif (sensible à la pénicilline) jusqu'au contact de disque d'ampicilline.

Résultats

I. Collecte et caractérisation des souches bactériennes

Au cours de notre étude, réalisée dans le laboratoire de microbiologie du CHU Khalil Amrane de Bejaia, **22** souches d'entérocoques ont été collectées à partir de différents prélèvements pathologiques, dont 19 durant la période de notre stage (de Janvier à Avril 2016) et 03 de l'ancienne collecte datant d'Avril à Décembre 2015.

L'ensemble des résultats de la caractérisation biochimique des souches cliniques isolées au CHU de Bejaia, obtenus sont rapportés dans le tableau suivant :

Tableau V : caractérisation des entérocoques isolés au CHU de Bejaia.

N° de souche	Origine	Gram	Isolement sur BEA	Catalase	Croissance sur bouillon hypersalé 6.5% NaCl	Test de tellurite de potassium	Résistance à la chaleur
1	Pus	+	+	-	+	+	+
2	Pus	+	+	-	+	+	+
3	Pus	+	+	-	+	+	+
4	Pus	+	+	-	+	+	+
5	Liquide d'Ascite	+	+	-	+	+	+
6	liquide péritonéal	+	+	-	+	+	+
7	Pus	+	+	-	+	+	+
8	Sonde urinaire	+	+	-	+	+	+
9	Pus	+	+	-	+	+	+
10	Pus	+	+	-	+	+	+
11	Urine	+	+	-	+	+	+
12	perte vaginale	+	+	-	+	+	+
13	Pus	+	+	-	+	+	+
14	Pus	+	+	-	+	-	+
15	Sang	+	+	-	+	+	+

Résultats

16	hémoculture	+	+	-	+	+	+
17	hémoculture	+	+	-	+	+	+
18	collection retro périanales	+	+	-	+	+	+
19	Pus	+	+	-	+	+	+
20	Pus	+	+	-	+	+	+
21	Pus	+	+	-	+	+	+
22	hémoculture	+	+	-	+	+	+

L'examen macroscopique des colonies isolées sur le milieu CHROMagar Orientation montre des colonies de petite taille bleu-vert. (Figure 2).

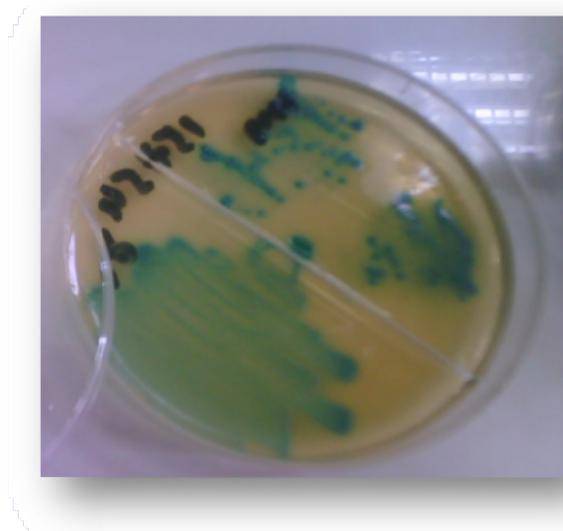


Figure 2 : Aspect des entérocoques sur milieu CHROMagar.

L'isolement sur le milieu BEA montre des petites colonies translucides entourées d'un halo noir (Figure 3).

Résultats



Figure 3: 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 (Figure 4). Par conséquent, ce sont des bactéries à Gram positif.

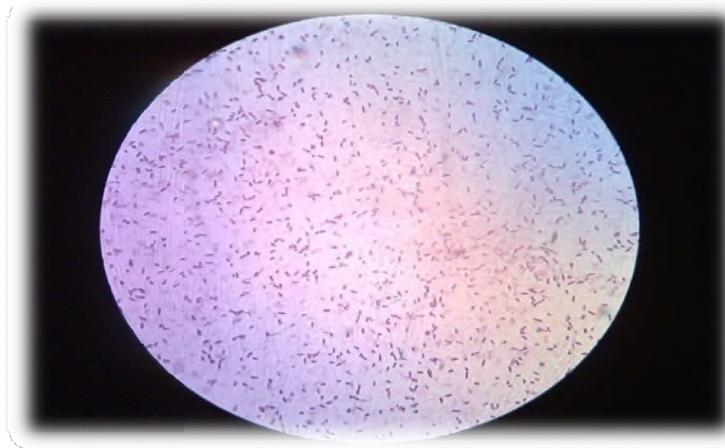


Figure 4: Entérocoques observés sous un microscope optique après coloration de Gram (X100).

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

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

Résultats

(Figure 5). Ces résultats suggèrent que toutes les souches appartiennent au genre *Enterococcus*. Les colonies ont alors été utilisées pour l'identification de l'espèce.



Figure 5: Résultats des tests de croissance sur BHS.

Les colonies pures qui ont été ensemencés sur la gélose M 17 glucosé additionné de tellurite permet d'identifier *Enterococcus faecalis* qui est la seule espèce parmi les entérocoques qui noircit la gélose tellurite (figure6).



Figure 6 : Croissance d'*E. faecalis* sur milieu M17 additionné de tellurite.

Parmi nos 22 souches collectées, 21 souches ont présenté un résultat positif à ce test ce qui montre qu'ils appartiennent à l'espèce *E.faecalis*. Pour la souche présentant un résultat négatif à ce test, identification par de la galerie API 20 STREP

Résultats

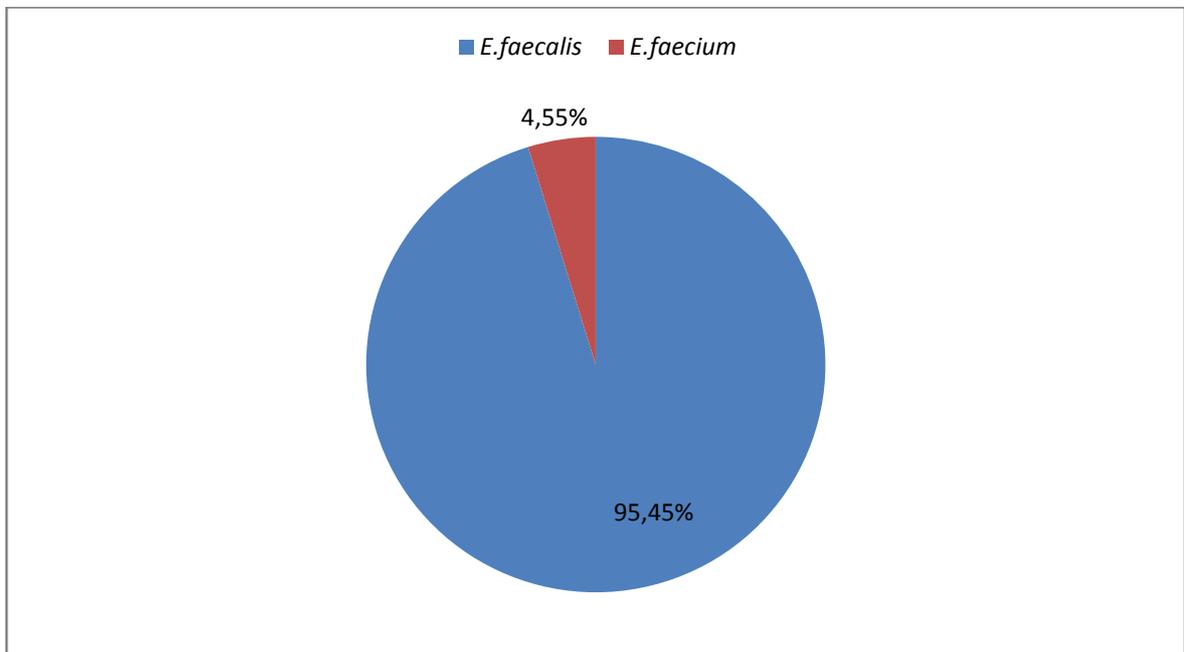
a été effectué et lecture à l'aide d'un logiciel montré qu'elle s'agit d'*E. faecium* (figure 7).

Le résultat de cette identification est présenté dans la figure 8.



Figure 7 : La galerie API 20 STREP de la souche *E. faecium*.

Figure 8 : Répartition des souches selon l'espèce.



Résultats

II. Etude épidémiologique des infections à entérocoque

Selon les résultats d'une étude de prévalence des infections bactériennes au niveau de CHU Khalil Amrane de Béjaia d'une période d'une année (Avril 2015-Avril 2016). Les genres impliqués sont en ordre décroissant : *Escherichia coli* (23,91%), Staphylocoque (20,49%), *Enterobacter* (9,82%), *Klebsiella* (9,39%), *Proteus* (9,07%), **Entérocoque** (8,64%), Streptocoque (7,04%),...etc. (figure 9).

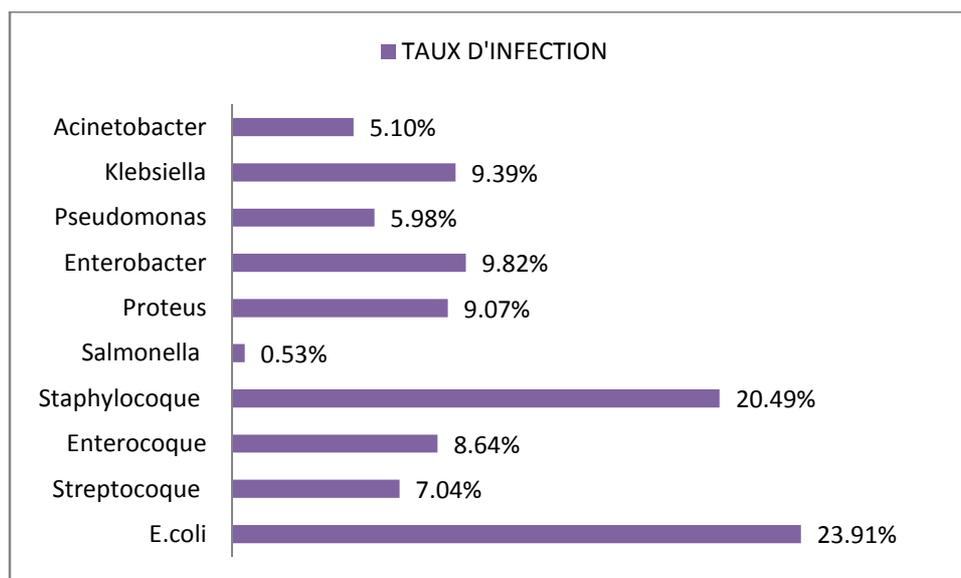


Figure 9 : principaux micro-organismes responsables des infections au niveau de CHU de Béjaia.

Afin de faire mieux l'état des lieux des infections à entérocoques, les résultats d'une étude rétrospectif de 9 mois allant d'Avril à Décembre 2015 à partir de l'archive de laboratoire (registres, fiches de renseignements) viennent s'ajouter aux résultats obtenus durant la période de notre stage à l'aide des fiches signalétiques (Annexe III), et par conséquent nous avons pu analyser notre population de manière assez précise. Au total, 65 cas d'infections à entérocoques sont enregistrés pendant une période d'année.

Les renseignements collectés sont présentés en Annexe VI.

Résultats

II.1. Répartition des souches selon type d'infection

Les résultats de notre étude montrent que les infections du pied diabétique sont les plus dominantes par rapport aux autres infections avec une fréquence de 29%, suivi par les infections des plaies chirurgicales avec une fréquence de 19%. Les infections urinaires et les bactériémies prennent la troisième place avec une fréquence de 10% chacune. Les autres types d'infection surviennent rarement avec des fréquences faibles (Figure 10).

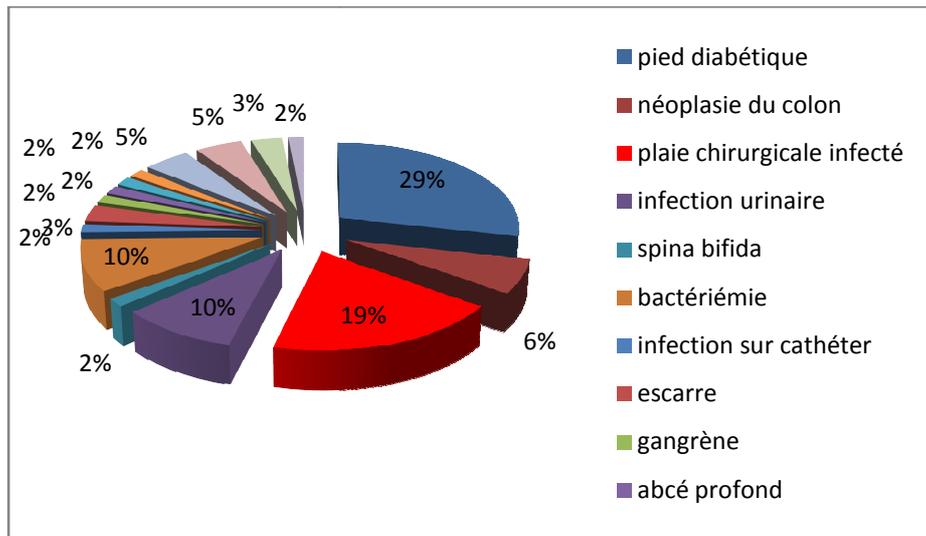


Figure 10: Répartition des souches selon le type d'infection.

II.2. Répartition des souches selon le service d'hospitalisation

La figure 11 montre que les infections à entérocoque sont plus fréquentes au niveau du service de médecine interne avec 17 isolats, suivi par le service de chirurgie générale avec un nombre de 11 isolats, en troisième place le pavillon d'urgence et le service de pédiatrie avec 08 isolats, les autres services présentent un nombre d'isolats plus bas.

Résultats

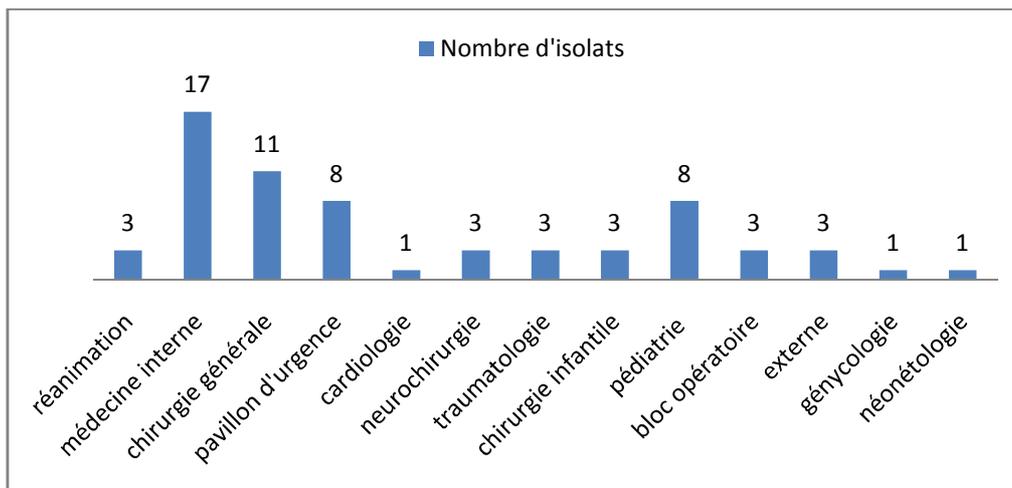


Figure 11 : Répartition des souches selon le service d'hospitalisation.

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 une dominance stricte des souches isolées à partir du pus avec une fréquence de 84%. Les souches isolées des hémocultures et celles d'origine urinaire représentent des fréquences de 9% et de 5% respectivement. La fréquence la plus faible concerne les souches isolées à partir de liquide péritonéale avec une fréquence de 2% uniquement (Figure 12).

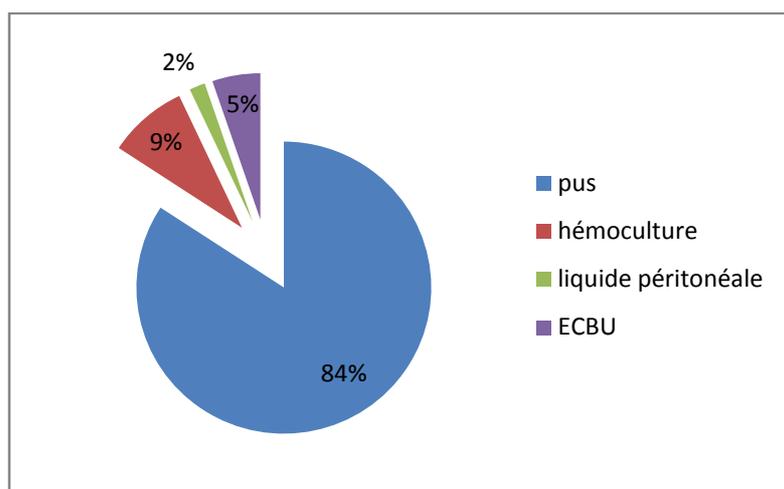


Figure 12 : répartition des souches selon l'origine du prélèvement.

Résultats

II.4. Caractéristiques de la population étudiée

➤ **Selon le sexe :**

Sur 65 malades, 39 sont du sexe masculin (60%) et 26 du sexe féminin (40%) (Figure13).

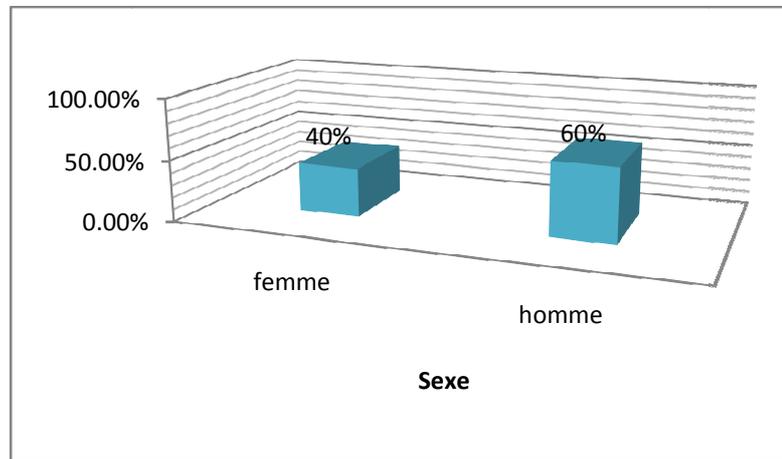


Figure 13 : Répartition des souches selon le sexe des patients.

➤ **Selon l'âge :**

Nos résultats montrent que toutes les catégories d'âge sont touchées, nous constatons que la tranche d'âge allant de 15ans-34ans est la plus touchée avec un taux légèrement élevé par rapport aux autres (figure 14).

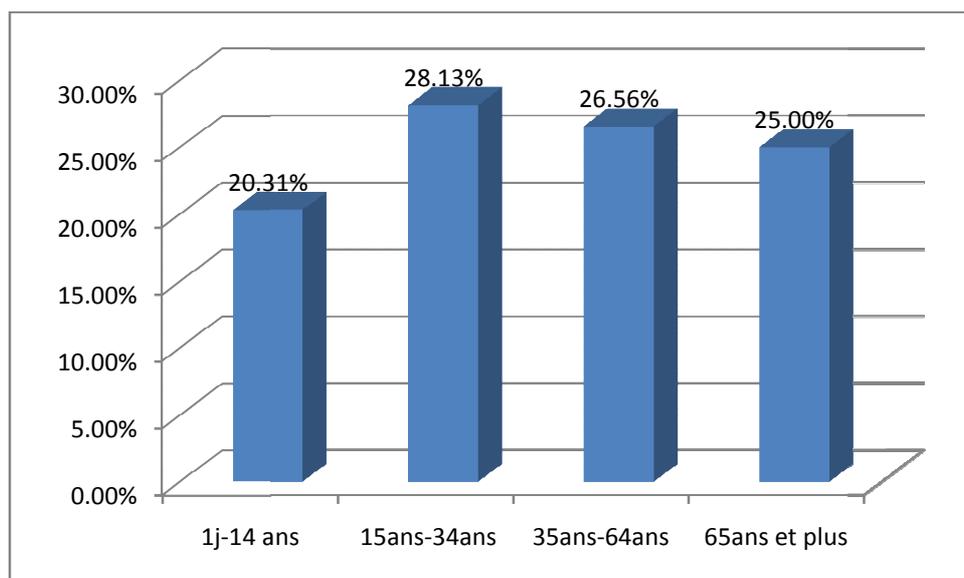


Figure 14 : Répartition par tranche d'âge des patients.

Résultats

III. Etude de la résistance des entérocoques aux antibiotiques

La sensibilité à la vancomycine et à l'ampicilline a été déterminée vis-à-vis 19 souches, la résistance à la gentamycine de 17 sur 19 souches, celle au chloramphénicol envers 16 sur 19 souches, à l'érythromycine et à la tétracycline de 13 sur 19 souches et seulement 8 sur 19 souches ont été testées pour la Furanes.

La figure 15 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 l'érythromycine avec un taux de 61,54%, suivi de la gentamycine haut niveau avec 35,29%, la tétracycline est en troisième place avec un taux de 31,54%, suivi par l'ampicilline avec un taux de 26,32%. D'après les résultats de test de trèfle toutes les souches sont pénicillinase négatives (figure 16). Les taux de résistance les plus bas concernent la furanes et le Chloramphénicol avec des taux de 12,50% et 6,25% respectivement. Deux souches uniquement présentant un diamètre d'inhibition réduit correspondant une résistance intermédiaire une à la vancomycine et une autre à la gentamycine de haut niveau.

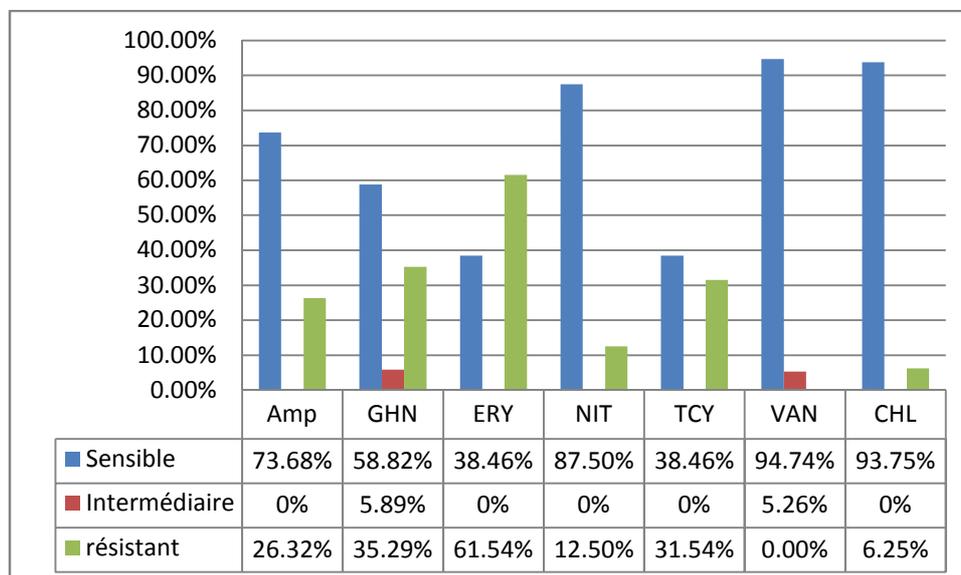


Figure 15: Taux de résistance et de sensibilité des souches d'entérocoques vis-à-vis des antibiotiques.

Résultats

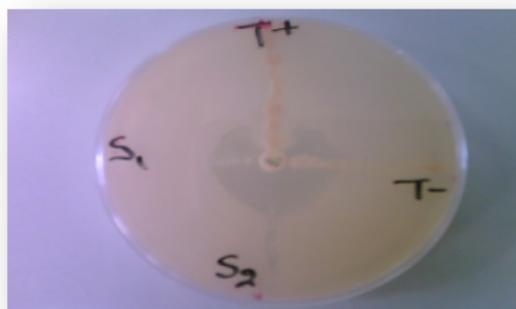


Figure 16: Résultat négatif du test de trèfle. (T+ : témoin positif, T- : témoin négatif. S1 et S2 : souches testées)

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.

ATB	Pus			Urine			Sang			Liquide péritonéal		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R
AMP 10	8/12 (66,67%)	0/12	4/12 (33,33%)	2/2	0/2	0/2	3/4 (75%)	0/4	1/4 (25%)	1/1	0/1	0/1
GHN	4/10 (44%)	1/10	5/10 (50%)	2/2	0/2	0/2	3/4 (75%)	0/4	1/4 (25%)	1/1	0/1	0/1
ERY	3/7 (42,86%)	0/7	4/7 (57,14%)	0/1	0/1	1/1	1/4 (25%)	0/4	3/4 (75%)	1/1	0/1	0/1
NIT	3/4 (75%)	0/4	1/4 (25%)	ND	ND	ND	3/3 (100%)	0/3	0/3 (0%)	1/1	0/1	0/1
TCY	3/7 (42,86%)	0/7	4/7 (57,14%)	0/1	0/1	1/1	1/4 (25%)	0/4	3/4 (75%)	1/1	0/1	0/1
VAN	12/12 (100%)	0/12	0/12 (0%)	1/2	1/2	0/2	4/4 (100%)	0/4	0/4 (0%)	1/1	0/1	0/1

Résultats

CHL	9/10 (90%)	0/10	1/10 (10%)	1/1	0/1	0/1	4/4 (100%)	0/4	0/4 (0%)	1/1	0/1	0/1
ND : Non Déterminé												

D'après le tableau ci-dessus, les souches d'entérocoques multirésistantes sont majoritairement isolées à partir des deux produits pathologiques : pus et sang. Concernant l'ampicilline et la gentamycine, le taux des souches résistantes est plus élevé dans le pus que dans le sang avec 33,33% contre 25% pour l'ampicilline, et 50% contre 25% pour la gentamycine. Cependant, la résistance à la tétracycline et à l'érythromycine est plus élevée chez les souches isolées à partir du sang avec le même pourcentage (75%). Les souches résistantes aux furanes et au chloramphénicol sont trouvées uniquement dans le pus avec des pourcentages de 25% et 10% respectivement. Pour la vancomycine, la souche présentant une résistance intermédiaire est d'origine urinaire.

Discussion générale

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 une dominance de l'espèce *E.faecalis*, ce résultat est similaire aux résultats montrés au CHU de Annaba en 2012 (Djahmi *et al.*, 2012), et en Espagne en 2014 (Medell *et al.*, 2014), Une étude en Egypte en 2015 (Yassin *et al.*, 2015) montre le même résultat. Une étude épidémiologique menée par six pays européens en 2014 montre une dominance de l'espèce *E.faecalis* avec un pourcentage de 89% (Tornero *et al.*, 2014).

En 1996 une étude épidémiologique dans les hôpitaux de l'Est de la France montre que les infections urinaires présentent plus de la moitié des cas d'infection (55,9%) (Les entérocoques : épidémiologie dans les hôpitaux de l'Est de la France en 1996: Réseau franc-comtois de lutte contre les infections nosocomiales, 1998). Ces mêmes résultats ont été rapportés aux Etats Unis en 1999 (Low DE *et al.*, 1999). Cependant, dans notre étude le taux des infections du pied diabétique avec un pourcentage de 29% est plus élevé par rapport à celui des infections urinaires avec un pourcentage de 10%.

Dans notre étude le service le plus touché par les infections à entérocoques est celui de médecine interne avec un pourcentage 26,15%. La majorité des activités de ce dernier est représentée par l'accueil des patients consultants aux Urgences et nécessitant une hospitalisation pour des motifs aussi divers qu'un syndrome coronarien aigu, une phlébite, une ischémie aiguë d'un membre, une insuffisance cardiaque, un accident vasculaire cérébral, décompensation aiguë du diabète sucré, les pathologies gastro-intestinales, une maladie cancéreuse,... 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 en France en 1996 et au CHU de Annaba en 2012 (Les entérocoques: épidémiologie dans les hôpitaux de l'Est de la France en 1996: Réseau franc-comtois de lutte contre les infections nosocomiales, 1998 ; Djahmi *et al.*, 2012) avec des pourcentages de 42% et 40% respectivement. 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*

Discussion générale

al., 2014). Nos résultats sont probablement expliqués par l'hospitalisation des patients diabétiques au niveau de ce service.

D'après nos résultats, les entérocoques sont plus isolés à partir de pus suivi par l'hémoculture avec des pourcentages de 84% et 9% respectivement. Nos résultats sont différents de ceux retrouvés au CHRU de Montpellier à Paris en 1993 (Streff *et al.*, 1996) et au CHU de Annaba en 2012 (Djahmi *et al.*, 2012) où l'isolement des entérocoques est dominant dans les prélèvements urinaires avec des taux de 53% et de 68% respectivement.

Une étude épidémiologique qui a été faite dans les hôpitaux de l'Est de France en 1996 montre que l'infection à entérocoque est plus élevée chez les patients de plus de 60 ans (terrain fragilisé) (Les entérocoques: épidémiologie dans les hôpitaux de l'Est de la France en 1996: Réseau franc-comtois de lutte contre les infections nosocomiales, 1998). Cependant, notre étude montre des pourcentages rapprochés entre les différentes catégories d'âge avec une différence de plus ou moins 5%. Cela peut s'expliquer par le terrain fragilisé de la population étudiée qui s'agit des patients hospitalisés présentant des maladies sous-jacentes (diabète, cancer du colon, insuffisance rénale, insuffisance cardiaque, plaies chirurgicales...).

Le taux des infections enregistré chez les patients de sexe masculin (60%) est supérieur à celui enregistré chez le sexe féminin (40%). Cependant dans des études faites en France en 1998, et en Algérie en 2012 (PAPA Abdoulaye, 23 Juillet 1998; Djahmi *et al.*, 2012), le sexe féminin est le plus dominant avec des pourcentages de 75% et 56% respectivement.

Dans notre étude, le taux de résistance à l'érythromycine est de 61,54%. Ces résultats sont approximativement proches de ceux retrouvés en France en 1998, en Algérie en 2012, et en Egypte en 2015 (PAPA Abdoulaye, 1998 ; Djahmi *et al.*, 2012 ; Yassin *et al.*, 2015).

Les résultats montrent une résistance à l'ampicilline et à la furanes de 26,32% et 12,5% respectivement. Ces résultats rapprochent de ceux retrouvés au CHU de Annaba en 2012 avec des taux de 30,4% et de 19,2% respectivement (Djahmi *et al.*, 2012).

Discussion générale

Concernant l'ampicilline aucune souche n'a présenté une résistance par production de beta-lactamase.

Le taux de résistance à la tétracycline est de 31,54%. Ce taux est inférieure à celui rapportés en France en 1998 avec 80%(PAPA Abdoulaye LO, 1998), et en Algérie en 2012 avec 82,4% (Djahmi *et al.*, 2012).

La résistance de haut niveau à la gentamycine présente un taux de 35,29%. 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 (Yassin *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.

Les souches d'entérocoques expriment un niveau élevé de sensibilité au chloramphénicol (93,75%), ce qui est proche des résultats rapportés en Algérie avec un taux de 85,6% (Djahmi *et al.*, 2012) , et en Egypte avec le taux 84% (Yassin *et al.*, 2015).

Quant à la sensibilité à la vancomycine, parmi 19 souches testées, seulement une souche a présentée 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; O. Lesens., 2009; 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 mené 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 (Yassin *et al.*, 2015). C'est dire donc que le taux de prévalence des souches VRE reste encore très faible dans notre pays.

Conclusion et perspectives

L'objectif de ce travail était de faire un état des lieux des infections à entérocoques dans la région de Béjaïa ainsi que l'étude de la prévalence de la résistance de ces bactéries 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.

D'après notre étude, deux espèces seulement ont été incriminés dans les infections à entérocoques, *E. faecalis* et *E. faecium*, avec la prédominance d'*E. faecalis* (95,45%). Le diagnostic d'une infection à entérocoque est majoritairement positif dans les prélèvements provenant de service de médecine interne (17 isolats) suivi par le service de chirurgie générale (11 isolats). La principale origine d'isolement est le pus avec un taux de 84%. Toutes les catégories d'âges sont touchées sachant que tous les patients présentant une infection dans notre étude ont des antécédents pathologiques (diabète, insuffisance rénale, cancer du colon, maladies cardiaques,...etc.). Ainsi, les deux sexes ont été presque également exposés.

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 assez bonne efficacité du chloramphénicol et de furane avec des taux de sensibilité de 93,75% et 87,50% respectivement. Le taux de résistance le plus élevé concerne l'érythromycine avec (61%) suivi par une résistance de haut niveau à la gentamycine (35,29%), la tétracycline (31,54%), l'ampicilline (26,32%).

Ces résultats nous donnent à penser que le taux de prévalence de la résistance à la vancomycine chez les entérocoques demeure encore très faible dans la région de Béjaïa et que cet antibiotique reste efficace sur les entérocoques. Par contre pour l'érythromycine, la gentamycine, la tétracycline et l'ampicilline l'attention, et principalement celle du clinicien, mérite d'être attirée. Ainsi la prescription ampicilline-gentamicine telle que réalisée au niveau de nos hôpitaux devrait

Conclusion et perspectives

dorénavant être assujettie à une détection systématique d'un haut niveau de résistance aux aminosides ainsi que la résistance à l'ampicilline par le laboratoire de bactériologie qui pourraient également de ce fait contrôler la prévalence des phénotypes de résistance à haut niveau et ainsi bien conseiller le clinicien dans le choix du traitement approprié. Nous pensons également que la furane et le chloramphénicol avec leur assez bonne activité devrait faire l'objet d'étude d'association avec d'autres agents dans le traitement des infections à entérocoques.

L'absence de résistance à 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 de surveillance de la résistance des germes aux antibiotiques, 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. *Médecine Mal Infect* **38**, 557–558.
- B E Murray. (1992, November).** Beta-lactamase-producing enterococci. University of Texas.
- BE, M. (n.d.).** The life and times of the Enterococcus. - PubMed - NCBI.
- Bosley, G. S., Facklam, R. R. & Grossman, D. (1983).** Rapid identification of enterococci. *J Clin Microbiol* **18**, 1275–1277.
- Bouvet, A. & Couvry, G. (1994).** Identification des entérocoques en microbiologie clinique. *Médecine Mal Infect* **24**, 132–140.
- Buu-Hoï, A. & Horodniceanu, T. (1980).** Conjugative transfer of multiple antibiotic resistance markers in *Streptococcus pneumoniae*. *J Bacteriol* **143**, 313–320.
- Chauffrey L. (2012).** Colonisations et infections urinaires à entérocoque chez l'homme : Analyse clinico-microbiologie de 173 patients.
- Coudron, P. E., Mayhall, C. G., Facklam, R. R., Spadora, A. C., Lamb, V. A., Lybrand, M. R. & Dalton, H. P. (1984).** *Streptococcus faecium* outbreak in a neonatal intensive care unit. *J Clin Microbiol* **20**, 1044–1048.
- Destain, J., Thonart, P., Dubois-Dauphin, R., Campos, D. & Aguilar-Galvez, A. (2012).** Les entérocoques : avantages et inconvénients en biotechnologie (synthèse bibliographique). *Base*.
- Devriese, L. A., Ceysens, K., Rodrigues, U. M. & Collins, M. D. (1990).** *Enterococcus columbae*, a species from pigeon intestines. *FEMS Microbiol Lett* **71**, 247–251.
- 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.
- Donald J. Krogstad, Thomas R. Korfhagen, Robert C. Moellering, Jr, Christine Wennersten, Morton N. Swartz, Stanislaw Perzynski & Julian Davies. (1978).** Aminoglycoside-Inactivating Enzymes in Clinical Isolates of *Streptococcus faecalis*.
- Facklam, R. R. & Collins, M. D. (1989).** Identification of *Enterococcus* species isolated from human infections by a conventional test scheme. *J Clin Microbiol* **27**, 731–734.
- Farrow, J. A. E., Jones, D., Phillips, B. A. & Collins, M. D. (1983).** Taxonomic Studies on Some Group D Streptococci. *Microbiology* **129**, 1423–1432.

Références bibliographiques

- Fertally, S. S. & Facklam, R. (1987).** Comparison of physiologic tests used to identify non-beta-hemolytic *Aerococci*, *Enterococci*, and *Streptococci*. *J Clin Microbiol* **25**, 1845–1850.
- Francois-Ngo, S. & Mainardi, J.-L. (1998).** *Enterococcus faecalis* : aspects bactériologique, épidémiologique et thérapeutique. *Feuil Biol* **39**, 21–26.
- French, G. L. (1998).** *Enterococci* and Vancomycin Resistance. *Clin Infect Dis* **27**, S75–S83.
- Freney, J., Bland, S., Etienne, J., Desmonceaux, M., Boeufgras, J. M. & Fleurette, J. (1992).** Description and evaluation of the semiautomated 4-hour rapid ID 32 *Strep* method for identification of *streptococci* and members of related genera. *J Clin Microbiol* **30**, 2657–2661.
- Garvie, E. I. & Farrow, J. A. E. (1981).** Sub-Divisions within the Genus *Streptococcus* Using Deoxyribonucleic Acid/Ribosomal Ribonucleic Acid Hybridization. *Zentralblatt Für Bakteriologie Mikrobiologie Hygiene Abteilung C Allgemeine Angewandte Mikrobiologie* **2**, 299–310.
- George M. Eliopoulos, Bruce F. Farber, Barbara E. Murray, Christine Wennersten & Robert C. Moellering, Jr. (1984, July).** Ribosomal Resistance of Clinical Enterococcal Isolates to Streptomycin.
- Hamidi, M., Ammari, H., Ghaffor, M., Benamrouche, N., Tali-Maamar, H., Tala-Khir,**
- Huycke, M. M., Sahm, D. F. & Gilmore, M. S. (1998).** Multiple-drug resistant *Enterococci*: the nature of the problem and an agenda for the future. *Emerg Infect Dis* **4**, 239–249.
- Kilpper-Bälz, R., Fischer, G. & Schleifer, K. H. (1982).** Nucleic acid hybridization of group N and group D streptococci. *Curr Microbiol* **7**, 245–250.
- Ladjouzi, R. (2013).** Analyse des mécanismes de tolérance aux antibiotiques ciblant la paroi chez les entérocoques. Caen.
- Leclercq, R. (1994).** Epidémiologie des infections nosocomiales à entérocoques. *Médecine Mal Infect* **24**, 199–206.
- Leclercq, R. (2001).** Faut-il identifier les entérocoques, et comment ? *Lett Infect* **16**, 217–221.
- Leclercq, R. & Courvalin, P. (1997).** Resistance to Glycopeptides in *Enterococci*. *Clin Infect Dis* **24**, 545–554.
- Low DE, Keller N, Barth A & Jones RN. (1999).** Clinical prevalence, antimicrobial susceptibility, and geographic resistance patterns of *Enterococci*. *Etat Unis*.

Références bibliographiques

- Ludwig, W., Seewaldt, E., Kilpper-Balz, R., Heinz, K., Magrum, L., Woese, C. R., Fox, G. E. & Stackebrandt, E. (1985).** The Phylogenetic Position of *Streptococcus* and *Enterococcus*. *Microbiology* **131**, 543–551.
- Martinez-Murcia, A. j. & Collins, M. d. (1991).** *Enterococcus sulfureus*, a new yellow-pigmented *Enterococcus* species. *FEMS Microbiol Lett* **80**, 69–74.
- Mayhall, C. G. (1996).** Prevention and Control of Vancomycin Resistance in Gram-Positive Coccal Microorganisms: Fire Prevention and Fire Fighting. *Infect Control Hosp Epidemiol* **17**, 353–355.
- M. D. Collins, D. Jones, J. A. E. FARROW, R. Kilpper-balz & K. H. SCHLEIFER. (1984).** *Enterococcus avium* nom. rev., comb. nov.; *E. casselji* nom. rev., comb. nov.; *E. durans* nom. rev., comb. nov.; *E. gallinarum* comb. nov.;
- Mead, G. C. (1978).** *Streptococci* in the intestinal flora of man and other non-ruminant animals. *Soc Appl Bacteriol Symp Ser* **7**, 245–261.
- 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**, 50–57.
- M L Grayson, G M Eliopoulos, C B Wennersten, K L Ruoff, P C De Girolami, M J Ferraro & R C Moellering Jr. (1991, November).** Increasing resistance to beta-lactam antibiotics among clinical isolates of *Enterococcus faecium*: a 22-year review at one institution.
- Murray, B. E. (2000).** Vancomycin-Resistant Enterococcal Infections. *N Engl J Med* **342**, 710–721.
- Noble, C. J. (1978).** Carriage of group D streptococci in the human bowel. *J Clin Pathol* **31**, 1182–1186.
- O. Lesens. (2009).** L'Entérocoque résistant à la vancomycine (ERV). www.sciencedirect.com.
- PAPA Abdoulaye LO. (1998, Juillet).** vancomycine resistance et haut niveau de resistance aux aminosides de souches d'enterocoques isolées à Dakar.
- Patel, R. (2003).** Clinical impact of vancomycin-resistant *enterococci*. *J Antimicrob Chemother* **51**, 13iii–21.
- 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.

Références bibliographiques

- Rabaud, C. & May, T. (2000).** Mots-clés: glycopeptides, vancomycine, teicoplanine, *Staphylococcus aureus*, staphylocoques à coagulase négative, entérocoques, pneumocoques, *Clostridium difficile*.
- Reina M. Flores, James A. Haley & Thomas W. Ross. (1996).** Vancomycin-Resistant *Enterococci*: Approach to Treatment and Control.
- Rhinehart E, Smith NE & Wennersten C. (1990).** Rapid Dissemination of β -Lactamase-Producing, Aminoglycoside-Resistant *Enterococcus faecalis* among Patients and Staff on an Infant-Toddler Surgical Ward - NEJM199012273232606.
- Rice, L. B. (2001).** Emergence of vancomycin-resistant *enterococci*. *Emerg Infect Dis* 7, 183–187.
- Rice, L. B., Carias, L. L., Rudin, S., Lakticova, V., Wood, A. & Hutton-Thomas, R. (2005).** *Enterococcus faecium* Low-Affinity pbp5 is a Transferable Determinant. *Antimicrob Agents Chemother* 49, 5007–5012.
- Robert C. Moellering, J. (1992).** Emergence of *Enterococcus* as a Significant Pathogen. *Clin Infect Dis* 14, 1173–1176.
- Schaberg, D. R., Culver, D. H. & Gaynes, R. P. (1991).** Major trends in the microbial etiology of nosocomial infection. *Am J Med* 91, S72–S75.
- 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. *Int J Syst Evol Microbiol* 34, 31–34.
- Sigler, J. & Hessen M.T. (1993).** Antibiotic Resistance in Clinically Important Gram positive Cocci.
- Stosor, V., Noskin, G. A. & Peterson, L. R. (1996).** The management and prevention of vancomycin-resistant enterococci. *Infect Med* 13, 487–498.
- 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. *Médecine Mal Infect* 26, 704–713.
- Thiercelin, M. E. (1899).** Sur un diplocoque saprophyte de l'intestin susceptible de devenir pathogene. *CR Soc Biol* 5, 269–271.
- Tornero, E., Senneville, E., Euba, G., Petersdorf, S., Rodriguez-Pardo, D., Lakatos, B., Ferrari, M. C., Pilares, M., Bahamonde, A. & other authors. (2014).** Characteristics of prosthetic joint infections due to *Enterococcus sp.* and predictors of failure: a multi-national study. *Clin Microbiol Infect* 20, 1219–1224.

Références bibliographiques

Virginia D. Wells, Edward S. Wong, Barbara E. Murray, Philip E. Coudron, Denise S. Williams & Sheldon M. Markowitz. (1992). Infections Due to Beta-Lactamase-producing, High-Level Gentamicin-resistant *Enterococcus faecalis*.

Vuke-Weledji , (2014) Infections et colonisations urinaires à Entérocoque à l'HMI Mohammed V de Rabat.

Weinstock, D. M., Conlon, M., Iovino, C., Aubrey, T., Gudiol, C., Riedel, E., Young, J. W., Kiehn, T. E. & Zuccotti, G. (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.

Williams, A. M., Rodrigues, U. M. & Collins, M. D. (1991). Intrageneric relationships of *Enterococci* as determined by reverse transcriptase sequencing of small-subunit rRNA. *Res Microbiol* **142**, 67–74.

Yassin, A., Amin, M. & Hashem, Y. (2015). Molecular characterization of *Enterococcus spp.* clinical isolates from Cairo, Egypt. *Indian J Med Microbiol* **33**, 80.

Les entérocoques: épidémiologie dans les hôpitaux de l'Est de la France en 1996: Réseau franc-comtois de lutte contre les infections nosocomiales. (1998, février). .

ANNEXE I : La composition des milieux de culture utilisés.

Milieu M17 agar

- Tryptone.....	2.50g
- Peptone pepsique de viande.....	2.50g
- Peptone papainique de soja.....	5.00g
- Extrait autolytique de levure.....	2.50g
- Extrait de viande.....	5.00g
- Lactose.....	5.00g
- Glycérophosphate de sodium.....	19.00g
- Sulfate de magnésium.....	0.25g
- Acide ascorbique.....	0.50g
- Agar bactériologique.....	15.00g

Milieu Mueller-Hinton

- Hydrolysât acide de caséine.....	17.5g
- Infusion de viande.....	2.0g
- Amidon soluble.....	1.5g
- Agar bactériologique.....	17.0g
pH de milieu prêt à l'emploi à 25°C :	25.0g

Milieu Bile Esculine Azide de Sodium

- Tryptone.....	17.0g
- Peptone pepsique de viande.....	3.0g
- Extrait autolytique de levure.....	5.0g

- Bile de bœuf bactériologique.....10.0g
- Chlorure de sodium.....5.0g
- Esculine.....1.0g
- Citrate ferrique ammoniacal.....0.5g
- Azide de sodium.....0.15g
- Agar bactériologique.....13.0g

pH de milieu prêt à l'emploi à 25°C :

Milieu CHROMagar Orientation

- Chromopeptone.....16.1g
- Mélange chromogène.....1.3g
- Gélose.....15.0g
- pH 6,9 ± 0,2

Bouillon hypersalé 6.5 % NaCl

- Peptone.....17g
- NaCl.....65g
- pH 7.1± 0,2

Annexe II

Tableau des valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour *Enterococcus* spp.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)		
		R	I	S
Ampicilline	10µg	≤ 16	≥ 17
Tétracycline	30 µg	≤ 14	15-18	≥ 19
Vancomycine	30 µg	≤ 14	15-16	≥ 17
GHN	120 µg	≤ 6	7-9	≥ 10
Erythromycine	15 µg	≤ 13	14-22	≥ 23
Furanes	300 µg	≤ 14	15-16	≥ 17
Chloramphénicol	30 µg	≤ 12	13-17	≥ 18

Annexe III

Fiche signalétique du patient

N° d'ordre :

Nom :

prénom:

Age :

Sexe : F M

Service :

Date d'hospitalisation :

Type de prélèvement :

Date de prélèvement :

Examen demandé :

Diagnostic clinique :

Antécédents :

Résultats :

ANNEXE VI

coucl	Age	sexe	service	Date d'hospitalisation	Diagnostic	Type de prélèvement	Date de prélèvement
1	62	H	MIH	03/04/2015	pied diabétique infecté	pus	03/04/2015
2	49	F	CHUF	06/04/2015	néoplasie du colon + chimiothérapie	liquide de drainage	08/04/2015
3	61	H	CHUH	10/04/2015	écoulement d'une plaie d'intervention	pus	12/04/2015
4	60	H	MIH	30/03/2015	pied diabétique infecté	pus	17/04/2015
5	60	H	ORT	14/04/2015	plaie chirurgicale	pus	14/04/2015
6	Adulte	H	PU	16/04/2015	pied diabétique infecté	pus	16/04/2015
7	3 mois	H	pédiatrie	29/04/2015	syndrome d'infection + suspicion d'infection urinaire	Urine	29/04/2015
8	55ans	H	MIH	30/04/2015	DT2 (amputation 1/3 moyen de la jambe)	pus	30/04/2015
9	5	H	Neurochirurgie	25/04/2015	Spina bifida	écoulement purulent	28/04/2015
10	27 mois	H	Neurochirurgie	04/05/2015	Hyperthermie	Sang	06/05/2015
11	Nouveau-né	H	Pédiatrie	20/05/2015	Suspission d'infection urinaire	urine	25/05/2015
12	Adulte	H	MIH	24/05/2015	ulcère du talon (DT2)	pus	25/05/2015
13	9 mois	H	Pédiatrie	22/05/2015	IRC	Cathéter central	5/06/1015
14	70	F	MIF	25/06/2015	pied diabétique	pus	27/06/2015
15	87	F	MIF	24/06/2015	gangrène infecté	pus	25/06/2015
16	61	F	MIF	17/06/2015	infection du gros orteil (Dt2)	pus	18/06/0215
17	Adulte	F	MIF	17/06/2015	pied diabétique	pus	17/06/2015
18	89	F	Bloc op	16/06/2015	escarre des crêtes iliaques infectées	pus	16/06/2015
19	Adulte	H	PU	08/06/2015	masse sous scapulaire dure avec contexte	pus	08/06/2015

						fébrile		
21	adulte	H	CHUH	14/07/2015		néoplasme du rectum	Pus	14/07/2015
22	adulte	H	UMC	14/07/2015		Pied diabétique	Pus	14/07/2015
23	65 ans	H	CHUH	19/07/2015		néoplasme du colon, restriction tumorale, plaie infectée	Pus	27/07/2015
24	30 mois	H	Pédiatrie	26/07/2015		pustuleuse de la face	Pus	26/07/2015
25	adulte	H	CHUH	17/07/2015		néoplasme du rectum	pus	17/07/2015
26	adulte	F	MIF	17/08/2015		pied diabétique	pus	17/08/2015
27	44 ans	H	MIH	13/08/2015		pied diabétique	pus	15/08/2015
28	87 ans	F	MIF	13/09/2015		pied diabétique	pus	13/09/2015
29	adulte	F	EXT	15/09/2015		pertes vaginales	pertes vaginales	15/09/2015
30	54 ans	H	CHIH	09/09/2015		abcès périanale	pus	09/09/2015
31	adulte	F	UMC	07/09/2015		pied diabétique	Pus	07/09/2015
32	63 ans	H	CHUH	16/09/2015		abcès de la marge anale	pus	19/09/2015
33	3 mois	H	CCI	14/09/2015		sepsis de la paroi	Liquide de plaie op	15/09/2015
34	48 ans	F	Bloc op	02/09/2015			collection rétropériane	01/10/2015
35	76 ans	F	chirurgie générale	27/09/2015		plaie chirurgicale infectée	pus	01/10/2015
36	Enfant	F	Pédiatrie			Fièvre prolongée	hémoculture	
37	âgé	H	MIH	03/10/2015		pied diabétique	pus	04/10/2015
38	Adulte	H	MIH			pied diabétique	pus	
39	Adulte	H	Réanimation	23/11/2015		asthme respiratoire chronique	pus (paroi abdominal)	26/11/2015
40	78	H	NCH	23/11/2015		fièvre+ céphalées	urine	25/11/2015
41	49	H	CHOH	18/11/2015		plaie chirurgicale	pus	18/11/2015
42	13	H	CCI	1/11/2015		jujénostomie suite à une perforation intestinale post traumatique	suintement issue de la bouche du jéjunostomie	01/11/2015
43	87	F	MIF	08/12/2015		pied diabétique	pus	09/12/2015
44	adulte	H	PU			Brulure infectée	pus	

45	87ans	F	MIF	08/12/2015	pied diabétique infecté	pus	09/12/2015
46	1 an	H	CCI	18/01/2016	brulure surinfectée	pus	18/01/2016
47	33 ans	H	CHUH	29/01/2016	sepsis rachis dorsal	pus	29/01/2016
48	66 ans	H	MIH	01/02/2016	pied diabétique	pus	01/02/2016
49	82 ans	H	PU	08/02/2016	suspension d'infection de LA	Liquide d'Ascite (ponction)	08/02/2016
50	36 ans	F	CHUF	20/01/2016	péritonite post-op j9	liquide péritonéal (ponction)	10/02/2016
51	58jrs	H	Pédiatrie	14/02/2016	Plaie infectée	pus	14/02/2016
52	adulte	F	Cardiologie	10/12/2016	ST+CIV large	Sonde urinaire	17/02/2016
53	Adulte	H	PU		abcé sous cutané sur cicatrice chirurgicale	pus	15/02/2016
54	52 ans	H	MIH	11/02/2016	pLaie infectée	pus	17/02/2016
55	ADULTE	F	Externe			urine	18/02/2016
56	57 ans	F	Externe			perte vaginale (pus)	21/02/2016
57	10 mois	H	Pédiatrie	19/02/2016	abcé périanale	pus	21/02/2016
58	70ans	F	PU	25/02/2016	hydronéphrose	pus	25/02/2016
59	65 ans	H	Réanimation	23/02/2016	arrêt cardiorespiratoire sur OAP massif+ hyperthermie	sang	27/02/2016
60	2mois1/2	F	Pédiatrie		fièvre mal tolérée	hémoculture	21/03/2016
61	37ans	F	Réanimation	31/03/2016		hémoculture	01/04/2016
62	40 ans	F	bloc opératoire	02/09/2015		collection retro périanale (pus)	01/10/2015
63	76ans	F	chirurgie générale	23/09/2015	plaie chirurgicale infecté	pus	01/10/2015
64	34 ans	H	chirurgie orthopédique	10/03/2016	sepsis hanche gauche sur PTH	PUS	13/03/2016
65	31 ans	F	Gynécologies	19/04/2016	suppuration de la paroi (pus de la cicatrice)	pus	19/04/2016
66	nv né	F	néonatalogie	12/04/2016	fièvre mal tolérée	hémoculture	12/04/2016

Résumé

Ce travail effectué au CHU Khalil Amrane de Béjaia avait pour objectif d'établir un état des lieux des infections à entérocoques dans la région de Béjaia. L'ensemble des résultats montrent que la majorité des souches sont isolées à partir de pus avec un taux de 84%. Deux espèces seulement ont été incriminées : *E. faecalis* (95,45%) et *E. faecium* (4,55%). La majorité des prélèvements proviennent du service de médecine interne (11 isolats) représenté par les infections de pied diabétique avec un taux de 29%. L'âge et le sexe des patients ne sont pas considérés comme un facteur de risque vu l'absence de différence significative. Toutes les souches ont exprimés une résistance, au moins, à un des antibiotiques testés. Les taux résistance les plus élevés concernent l'érythromycine avec un taux de 61,54%, gentamycine à haut niveau (35,29%), la tétracycline (31,54%), l'ampicilline (26,32%). Des taux de résistance plus bas à la Furanes (12,50%) et au chloramphénicol (6,25%) sont enregistrés. Aucun VRE n'a été détecté. Cependant une souche d'origine urinaire a présenté une résistance intermédiaire la vancomycine. Ainsi, la résistance des souches d'entérocoques isolées au niveau de CHU Khalil Amrane vis-à-vis tous ces antibiotiques peuvent entraîner un important problème de santé publique si des mesures de contrôle et de surveillance ne seront pas établis afin d'éviter la dissémination des souches résistants et prévenir l'émergence des VRE.

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

Abstract

This work conducted at the University Hospital Khelil Amrane of Bejaia aimed to establish an inventory of enterococcal infections in the region of Béjaia. The overall results show that the majority of the strains were isolated from pus with a rate of 84%. Only two species have been incriminated: *E. faecalis* (95.45%) and *E. faecium* (4.55%). The majority of the samples come from the internal medicine service (11 isolates) represented by diabetic foot infections with a rate of 29%. The age and the sex of patients are not considered as a risk factor view the absence of significant difference. All strains expressed resistance, at least, to one of the tested antibiotics. The highest resistance prevalences are erythromycin with a rate of 61.54%, high level gentamycin (35.29%), tetracycline (31.54%) and ampicillin (26.32%). Lower rates of resistance to furans (12.50%) and chloramphenicol (6, 25%) are recorded. No VRE was detected. However, a urinary strain showed intermediate resistance to vancomycin. Thus, the resistance of isolated Enterococci at CHU Khelil Amrane against these antibiotics can cause a significant public health problem if the control and surveillance measures will not be established to avoid the dissemination of resistant strains and prevent the emergence of VRE.

Key words: enterococci, multidrug resistance, emergence, VRE.