

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 en secteur biomédical et vétérinaire



Réf :

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 l'Hôpital d'Amizour

Présenté par :

ADOUANE Meriem & BORDJAH Assia

Soutenu le : **14 /06/2016**

Devant le jury composé de :

M ^{me} MESSAOUDI K.	MCB	Présidente
M ^r LADJOUZI R.	MCB	Encadreur
M ^r ADJEBLI A.	MAB	Examineur

Année universitaire : 2015/2016

Remerciements

On adresse nos remerciements les plus sincères à notre encadreur D LADJOUEZ pour sa disponibilité et son encouragement tout au long de la préparation de notre mémoire, et à M^{lle} ARGHOBE qui nous a guidé durant toute la période de notre stage.

On remercie également les membres de jury pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nos remerciements vont également à M^r Nait heddad, M^r Abdelli, et M^r Yessad responsables du laboratoire de l'hôpital d'Amizour qui nous ont fournis tous le nécessaire pour travailler dans les bonnes conditions, ainsi qu'à tout le personnel du laboratoire.

Sans oublier de remercier notre copromotrice M^{lle} ZAIDI.

Je dédie ce modeste travail

*A mon grand père qui a fait preuve jusqu'à ce moment d'un courage gravé à jamais
dans mon cœur*

A mes chers parents pour leur amour, leur soutien et leurs encouragements

*A mon adorable sœur Dahia, pour l'amour et la tendresse qu'elle m'apporte chaque
jour malgré la distance*

A mes chers frères Fayçal et Fouad

A ma chère cousine et sœur Wissam

A tous mes amis, particulièrement les plus intimes (Fouad, Mina, Meriem.....)

A mon Oncle

A mes grandes mères

A mes cousines Nesrine, Sabiha, Hassiba, Asma, Mina, Rima et précisément Amel

A mes tantes..... surtout Kahina et Sihem

A mes voisines Lamia, Kika et Mima

A tous mes camarades

ASSIA

Dédicaces

Tous les mots ne suffisaient pas pour exprimer la gratitude l'amour, le respect, la reconnaissance à mes chers parents

Papa, Mama,

Merci pour votre amour, confiance et toutes les sacrifices consentis pour moi, vous êtes la raison de mes efforts.

A ma sœur Biba et à mes frères Halim et Lamine sans oublier sa femme Dihia

Merci de m'avoir encouragé sans cesse.

A toutes mes amies

En particuliers les plus intimes (kahina, safia, lamia, assia).

A mes cousines et cousins

Fouza, Mima, Linda, Céline, Sara, Yamina, Sonia, Tija, Bila, Iméne, Alem, Fouad, Ayoub.....

A mes chers oncles et tantes

En particulier khali Lachemi merci pour votre soutien.

A ma chère amie et binôme assia

Merci pour ta générosité et courage.

Meriem

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction.....01

Synthèse bibliographique

- I. Généralités et propriétés physico-chimiques des entérocoques.....02
- II. Implication des entérocoques dans les infections nosocomiales.....03
- III. Les infections à entérocoques en Algérie.....04
- IV. Multirésistance aux antibiotiques des entérocoques.....05

Matériel et Méthodes

- I. Contexte de l'étude et lieu de stage.....09
- II. Recueil des souches.....09
- III. Isolement, purification et identification des souches d'entérocoques...09
 - III.1. Isolement sur gélose à la bile, esculine et azide de sodium (BEA).....10
 - III.2. Repiquage sur M17- Glucose.....11
 - III.3. Coloration de Gram.....11
 - III.4. Test de Catalas.....11
 - III.5. Croissance sur Bouillon Hyper Salé.....11
 - III.6. Résistance à la chaleur.....11
 - III.7. Résistance au tellurite de potassium.....12
- IV. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques.....12
- V. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) sur milieu liquide.....13
- VI. portage anal d'entérocoques résistants à la vancomycine.....13

Résultats

- I. Recueil des souches.....15

II.	Répartition des souches selon la provenance des prélèvements.....	16
III.	Répartition des souches selon la nature du prélèvement.....	17
IV.	Répartition des souches en fonction de l'âge et du sexe.....	17
V.	Répartition des souches par espèce.....	18
VI.	Sensibilité des souches cliniques aux antibiotiques.....	18
VII.	Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	19
VIII.	Sensibilité des souches selon la nature de prélèvements.....	20
IX.	Résistance des souches d'environnement hospitalier aux antibiotiques.....	21
X.	Taux de portage des entérocoques résistants à la vancomycine.....	22
Discussion.....		23
Conclusion.....		28
Références bibliographiques		
Annexes		

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Types de résistance aux antibiotiques des entérocoques

Tableau II : Antibiotiques testés et diamètres critiques d'interprétation

Tableau III : Les volumes de la solution de vancomycine correspondants pour chaque CMI

Tableau IV: Identification des souches d'entérocoques isolées au niveau de l'hôpital Ben Merad El Meki d'Amizour

Tableau V: Résistance aux aminosides de bas niveau chez les souches cliniques d'entérocoques

Tableau VI : Renseignements collectés au cours de l'étude.

Tableau VII : les germes associés aux entérocoques dans les infections

Tableau VIII : provenance et identification des souches d'environnement hospitalier

Tableau IX : Etude de la sensibilité aux antibiotiques des souches cliniques d'entérocoques

Tableau X : Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches d'environnement hospitalier

Liste des figures

Figure 1 : Protocol d'identification des entérocoques

Figure 2 : Protocol du portage anal de VRE

Figure 3 : Aspect des colonies d'entérocoques sur BEA

Figure 4 : Aspect microscopique des entérocoques

Figure 5 : Résultat du test de catalase

Figure 6 : Croissance sur Bouillon hyper salé

Figure 7 : Résistance à 60°C / 30min

Figure 8 : Résistance au tellurite de potassium

Figure 9 : Répartition des souches selon la provenance des prélèvements

Figure 10 : Répartition des souches s'entérocoques selon la nature du prélèvement

Figure 11 : Répartition des souches en fonction de catégorie d'âge

Figure 12 : Répartition des souches en fonction de sexe

Figure 13 : Répartition des souches en par l'espèce

Figure 14 : Sensibilité des souches aux antibiotiques

Figure 15 : Résultats de la CMI sur milieu liquide

Figure 16 : Profil de sensibilité des souches d'entérocoques isolées selon la nature du prélèvement

Figure 17 : Résistance des souches d'environnement hospitalier aux antibiotiques

Liste des abréviations

ADN : Acide Désoxyribonucléique.
AK : Amikacine.
AMP : Ampicilline.
ARN : Acide Ribonucléique.
BEA : Bile Esculine Azide.
BMR : Bactérie Multi Résistante.
CDC: Centers for Disease Control and prevention.
CHU : Centre Hospitalier Universitaire.
CLIN : Comités de Luttés contre les Infections Nosocomiales.
CMI : Concentration minimale inhibitrice.
EARSS : European Antimicrobial Resistance Surveillance System.
ECBU : Examen Cytobactériologie des Urines.
ERG : Enterococcus Resistant Glycopeptide.
ERV : Enterococcus Resistant Vancomycin.
I : Intermédiaire.
InVS : Institut nationale de Veille Sanitaire.
IPM : Imipenème.
GME : Gentamycine.
MLS : Macrolide lincosamide streptogramine.
NHSN: Health-Care National Safety Network
NNIS : National Nosocomial Infections Surveillance.
R : Résistant.
RIF : Rifamicine.
RP : Pristinamycine.
S: Sensible.
SCN : Staphylocoque à coagulase négative
SR : Spiramycine.
TET : Tétracyclines.
UFC : Unité formant colonies.
VAN: Vancomycine.

Introduction

Les entérocoques sont des bactéries lactiques utilisées depuis des siècles dans l'industrie alimentaire. Ces microorganismes jouent un rôle essentiel dans la conservation et dans la qualité bactériologique des aliments. Cependant, ce sont des marqueurs de contamination fécale (**Aguilar-Galvez et al., 2011**). En effet les entérocoques sont très répandus dans la nature et peuvent être retrouvés dans le sol, les plantes, l'eau et la nourriture (**Teixeira et al., 2007**), sauf que leur habitat le plus important reste l'intestin de l'homme et des animaux à sang chaud (10^5 - 10^8 UFC/g de la matière fécale) (**Murray, 1990; Devriese et al., 2006**).

Les entérocoques sont des bactéries commensales non virulentes, néanmoins elles peuvent passer du stade commensal au stade pathogène opportuniste (**Mutnick et al., 2003**). Ainsi, les infections à entérocoques sont principalement d'origine endogène, elles proviennent directement du microbiote digestif du patient, mais de nos jours, une forte contamination exogène, est aussi démontrée (**Hidron et al., 2008; Werner et al., 2008; Arias et al., 2010**).

Longtemps considérés comme des germes à faible pouvoir pathogène essentiellement responsables de quelques infections extrahospitalières. Leur implication dans les infections urinaires ou intra-abdominales, les abcès viscéraux, les pneumonies, les septicémies, les endocardites et les méningites est bien établi, en effet leur pouvoir pathogène s'exerce en association avec d'autres germes, mais il passe au second plan par rapport à celui des agents étiologiques principaux de ces infections. C'est pourquoi les laboratoires poussaient peu l'identification de ces bactéries et la bornaient bien souvent à un groupage antigénique permettant de classer l'agent isolé comme streptocoque du groupe D (**Megran, 1992; Bouvet et Couvry, 1994; Jett et al., 1994**).

L'élasticité génomique de ces bactéries et leur grande capacité à accumuler les gènes de résistance aux antibiotiques permet, d'une part de s'adapter à de nombreux écosystèmes et, d'autre part, d'être des vecteurs d'antibiorésistance et de virulence bactérienne. Par conséquent, les entérocoques sont maintenant clairement identifiés comme une des causes majeures d'infections nosocomiales (**Lyytikainen et al., 2008; Ogier et Serror, 2008**), en effet, ils occupent la quatrième position derrière *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* (**Coignard et al., 2006**).

Synthèse bibliographique

I. Généralités et propriétés physicochimiques des entérocoques

En 1906, Andrewes et Horder ont isolé un organisme d'un patient présentant une endocardite et ont estimé que ce streptocoque était si caractéristique de l'intestin de l'homme que le terme *streptococcus faecalis* lui a été attribué. Orla-Jensen, en 1919 a utilisé une autre terminologie pour décrire les souches de *streptococcus faecium* (Murray, 1990).

Au début des années 1930, et sur la base de la classification antigénique de Lancefield, *S. faecalis* et *S. faecium* ont été classées dans le groupe sérologique D (Lancefield, 1933). Quelques années plus tard (1937), Sherman a proposé un schéma de classification qui séparait les streptocoques en quatre divisions : pyogènes, viridans, lactiques et entérocoques (Klein, 2003). En effet ce dernier terme a été proposé pour la première fois en 1899 par Thiercelin qui a introduit en 1903 en collaboration avec Jahaud le terme du genre *Enterococcus* (Murray, 1990; Stiles et Holzapfel, 1997).

Mais ce n'est qu'en 1984 que les espèces *S. faecalis* et *S. faecium* ont été officiellement transférées dans le genre *Enterococcus*, cela a été établi grâce aux méthodes génotypiques, tels que l'hybridation ADN-ADN et le séquençage de l'ARN 16S (Moreno et al., 2006). Actuellement, 44 espèces forment le genre *Enterococcus* de la famille des *Enterococaceae*, ordre des *Lactobacillales*, issus de l'embranchement des *Firmicutes* (Ladjouzi, 2013; Aguilar-Galvez et al, 2012).

Les entérocoques sont des bactéries à Gram positif qui se présentent sous forme de coques isolés ou arrangés en paires ou en courtes chainettes et dont le génome contient un faible pourcentage en G+C (37.5% à 44%) (Pulsen et al., 2003). Ce sont des organismes anaérobies aérotolérants, non sporulants, immobiles, oxydase et catalase négative bien que le gène codant cette dernière enzyme de détoxification existe dans leur génome (François et Mainardi, 1989; Horaud et LeBouguenec, 1989; Devriese et al., 1993; Frankenberg et al., 2002).

Ils sont pour la plupart alpha ou non hémolytiques, le caractère bêta hémolytique de certaines souches est codé par un gène d'origine plasmidique facilement transférable d'une souche à une autre (François et Mainardi, 1989; Horaud et LeBouguenec, 1989). Les entérocoques sont des microorganismes mésophiles qui se développent dans une gamme de températures allant de 10°C à 45°C, avec une température optimale de 35°C. Certaines espèces peuvent survivre à 60°C pendant 30 min. Ils poussent dans des conditions hostiles de 6.5% de NaCl, de concentration en sels biliaires de 40% et dans une gamme de pH comprise entre 4.4 et 9.6 (Huycke, 2002; Teixeira et al., 2007).

L'espèce *Enterococcus faecalis* se caractérise par la résistance au tellurite de potassium (**Robert et al., 1999**), ainsi qu'aux agressions de l'environnement (stress oxydant, stress acide, agression de la paroi par le lysozyme) (**Casadevall et Pirofski, 2001**).

La majorité des entérocoques sont positifs au test de Vogues-Proskauer qui relie la production d'acétoïne à la fermentation du ribose. Ce test est largement utilisé dans la discrimination entre *Enterococcus* et *Streptococcus* (**Higashide et al., 2005**). Les entérocoques sont homofermentaires, ils produisent essentiellement de l'acide lactique et en quantité moindre, de l'acétate, du formate et de l'éthanol. Ils sont capable de métaboliser divers types de sucres comme le ribose, N-acétyl glucosamine, l'amygdaline, l'arbutine, le cellobiose, le D-fructose, le galactose, le β -gentiobiose, le glucose, le lactose, le maltose, le D-mannose, le β -D-méthyle glucopyranose, la salicine et le tréhalose (**Schleifer et al., 1984; Gentry-Weeks et al., 1999; LeBlanc, 2006**).

II. Implication des entérocoques dans les infections nosocomiales

Une infection est dite nosocomiale si elle apparait au cours ou à la suite d'une hospitalisation et si celle ci était absente à l'admission à l'hôpital. Ce critère est applicable à toute infection. Lorsque la situation précise à l'admission à l'hôpital n'est pas connue, un délai de 48 heures après l'admission (ou un délai supérieur à la période d'incubation lorsque celle-ci est connue, est communément accepté pour distinguer une infection d'acquisition nosocomiale d'une infection communautaire (**Comité technique national des l'infections nosocomiales, 1999**). Pour les infections du site opératoire, on considère comme nosocomiales les infections survenues dans les 30 jours suivants l'intervention, ou, s'il ya mise en place d'une prothèse ou d'un implant, dans l'année qui suit l'intervention (**Horan et al., 1992**).

Les entérocoques ont vu ces dernières années leur rôle prendre de l'importance dans les infections nosocomiales (**Courvalin, 2006**) et chez les sujets ayant des terrains débilisés (insuffisants rénaux, diabétiques, immunodéprimés et transplantés (**Cereda, 2001; Caglar, 2006**).

Ces bactéries sont dangereuses de part leur multi résistance naturelle à de nombreuses familles d'antibiotiques (**Leclercq, 1997; Courvalin, 2006**), aggravée ces dernières années par l'émergence des souches résistantes aux glycopeptides (**Caglar et Citak., 2006; Courvalin, 2006**).

Les premières souches d'*Enterococcus faecium* résistantes aux glycopeptides (ERG) ont été isolées au Royaume Unis en 1986 et en France en 1987 (**Leclercq et al., 1988**). Mais c'est aux Etats Unis (USA) que les ERG ont émergé à la fin des années 1980 où elles sont devenues endémiques et se placent au 3^{ème} rang des bactéries multi résistantes (**National Nosocomial Infections Surveillance, 2004**), devenant un important problème de santé publique. On attribue cette émergence à l'utilisation massive de la vancomycine orale dans les traitements des infections à *Clostridium difficile* à partir de 1984 (**Rice, 2001**).

Aux USA, le rapport national **Antibiotic Resistance Threats in The United States, of Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 2013** fait état de 30% de résistance pour les entérocoques.

Les recommandations du CDC pour la maîtrise des ERG n'ont été émises qu'en 1995, ce qui a été beaucoup trop tardif pour enrayer l'épidémie déjà largement implantée (**Recommandations and Reports, 1995**).

Aux USA et en Europe le type de résistance prédominant est van A alors que pour les pays Asiatiques et l'Australie, le phénotype van B est prédominant (**Yang et al., 2007**).

En Europe, les données du réseau **European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS)** montrent une augmentation de ERG, mais avec des proportions contrastées. Concernant les bactériémies à ERG, leur proportions est au-delà des 20% pour plusieurs pays comme : Irlande, Portugal, Grand Bretagne,...mais les taux restent inférieur 1% pour la plupart des pays surveillés.

En France, peu de signalement sont réalisés entre 2001 et 2003, ensuite le nombre a augmenté depuis 2004 jusqu'en 2008 puis une diminution a pu être observé en 2009 avec une stabilité inférieur 1% en 2010 jusqu'à 2013 (**Thiol et al., 2011**).

III. Les infections à entérocoque en Algérie

A ce jour, très peu de données sont disponibles concernant l'épidémiologie des entérocoques en Algérie, seulement quelques cas d'*Enterococcus* résistant à la vancomycine (VRE) ont été décrits pendant une dizaine d'années.

Le premier cas d'*E. faecalis* résistant à la vancomycine isolé en Algérie n'a pas été dans un complexe d'épidémie hospitalière. L'examen cyto bactériologique (ECBU) d'un échantillon d'urine reçu en novembre 2006 à révélée un *E. faecalis* résistant à la vancomycine chez un patient âgé de 24 ans qui souffre d'une uropathie malformative (**Aggoune et al., 2008**).

Par la suite, deux autres cas d'infections à ERG ont été signalés. Parmi eux, un cas d'infection causée par *E. faecalis* résistant à la vancomycine isolé à l'hôpital central de l'armée en Algérie (**Aggoune et al., 2008**).

En novembre 2010, selon le **Réseau algérien de surveillance de la résistance aux antibiotiques**, signalons pour la première fois, l'isolement à partir d'une hémoculture un *E. faecium* résistant à la vancomycine et à la téicoplanine, portant un gène de *van A*. L'enquête a révélé qu'il s'agit bien d'un cas autochtone survenu chez un patient âgé de 47 ans hospitalisé pour brûlure grave.

En 2011, un total de 8 souches d'ERV, dont 5 à l'hôpital et 3 en externe, ont été signalés par certains laboratoire du **Réseau algérien de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques**, il s'agit d'*E. faecium* porteurs de gène *van A* exprimant une résistance de très haut niveau à la vancomycine et à la téicoplanine.

En 2012, une étude épidémiologique sur les entérocoques a été menée afin d'évaluer la prévalence des ERV au CHU d'Alger, quatre souches *Enterococcus gallinarum* résistant à la vancomycine décrite portant le gène *van C1* (**Djahmi et al., 2012**).

Un autre cas de résistance aux glycopeptides a été récemment signalé par les travaux de Hamidi (**Hamidi et al., 2013**).

IV. Multirésistance aux antibiotiques des entérocoques

La résistance est particulièrement importante chez les entérocoques puisque ce groupe de bactéries est intrinsèquement résistants aux agents antimicrobiens couramment utilisés dans les hôpitaux (céphalosporines et autres bêtalactamines tels que les pénicillines, aminoglycosides, clindamycine et lincomycine, quinolones, streptogramine A et glycopeptides (**Tannock et Cook, 2002**).

La résistance partielle ou complète aux bêtalactamines est due à la présence chez les entérocoques d'une PLP, la PLP5, qui possède une faible affinité pour ces antibiotiques.

Les entérocoques possèdent un bas niveau de résistance aux aminosides, cette résistance est le fait d'une inefficacité du transport actif de ces molécules à travers la membrane cytoplasmique (**Dressel et al., 1999**). Chez *E. faecium*, la production naturelle d'une enzyme, la 6-N'acétyl transférase confère un phénotype de résistance de type K (kanamycine), T (tobramycine), N (nétilmicine), épargnant la gentamycine. La synergie entre la gentamycine (Concentration minimale inhibitrice = 4 et 16 µg/ml) et les β-lactamines, est conservée (**Leclercq et Courvalin, 1997**).

E. gallinarum, *Enterococcus casseliflavus* et *Enterococcus flavescens* ont une résistance modérée à la vancomycine (CMI entre 8 et 32 µg/ml) mais une sensibilité conservée pour la teicoplanine (0.5 et 1 µg/ml), cette résistance est la conséquence de la présence du gène chromosomique *van C* qui code pour une ligase D-ala-D-ser (**Uttley et al., 1988; Cattoir et Leclercq, 2010**).

Les Macrolides, lincosamides, et streptogramines (MLS), antibiotiques qui inhibent la synthèse protéique en stimulant la dissociation du ribosome et du complexe ARNt-peptide, cela entraîne une inhibition de l'élongation protéique (**Roberts et al., 1999**).

E. faecalis présente la particularité de résister à la streptogramine A et aux lincosamides, cette résistance est due à la présence du gène *lsa* dont la séquence en acide aminés serait similaire à une protéine transmembranaire de type transporteur ABC à efflux actif (**Ross et al., 1990; Allignet et al., 1992; Singh et al., 2001**).

Avec l'utilisation abusive et intensive des antibiotiques, les entérocoques se sont adaptés et ont développé de nouvelles résistances. Soit par des mutations spontanées soit par transfert de plasmides ou de transposons provenant d'autres microorganismes (**Donskey et al., 2003; Brandl et al., 2008; Ubeda et al., 2010**).

La résistance acquise aux bêtalactamines consiste soit en une production de pénicillinase soit en une modification de la cible, la PLP5, ou en une hyperproduction de celle-ci. La résistance par production de pénicillinase concerne exclusivement l'espèce *E. faecalis*, Le support de cette résistance est un gène *bla Z* codant pour la pénicillinase du *S. aureus*, exprimée de manière constitutive. En ce qui concerne la résistance par modification de la cible ; il s'agit de mutations survenant près du site actif de la PLP5 chez *E. faecium*, conduisant ainsi à la diminution d'affinité de celle-ci pour les β-lactamines. Alors que l'hyperproduction de la PLP5 conduit à des CMI de pénicilline G de 8 à 32 µg/ml (**Patterson et al., 1988; Rybkine et al., 1988; Fontana et al., 1994**).

Quant aux mécanismes de résistance acquis aux aminosides, la résistance par production d'enzymes est le mécanisme le prédominant chez les entérocoques, ce mécanisme d'origine plasmidique en est le même décrit chez les staphylocoques et conférant les mêmes phénotypes de résistance. Ces enzymes, classées en 3 catégories en fonction de la réaction qu'elles catalysent (nucléotidation, phosphorylation ou acétylation) sont nommées en fonction de leurs substrats. Ainsi l'enzyme ANT(6) induit une résistance à la streptomycine ; APH (3') se traduit par une résistance à la kanamycine, à la nétilmicine et à l'amikacine ; l'ANT (4') induit quant à elle une résistance à la tobramicine alors que l'enzyme bi fonctionnelle APH (2'') _AAC (6')

détoxifie la kanamycine, l'amikacine, la nétilmicine, la tobramicine et la gentamycine (Tolmasky, 2007).

Le mécanisme de résistance développé par les entérocoques contre les glycopeptides est une modification de la cible de l'antibiotique, c'est-à-dire de la nature du précurseur D-ala-D-ala (Depardieu et al, 2007). La résistance acquise à la vancomycine est due à l'expression par la bactérie d'un opéron de résistance (opéron *van*) qui code des enzymes impliquées à la fois dans la synthèse d'un précurseur du peptidoglycane de faible affinité et dans l'élimination du D-ala-D-ala. (Courvalin, 2006; Cattoir et Leclercq, 2010; Xu et al. 2010).

Ainsi, 8 types de résistance acquise ont été caractérisés : Van A, Van B, Van D, Van G, Van L, Van M, Van N. Les résistances de type Van A, Van B, Van D et Van M sont responsables de la synthèse du précurseur D-ala-D-lac, tandis que les types Van E, Van G, Van L et Van N conduisent à la synthèse du dipeptide D-ala-D-ser (Depardieu et al., 2007; Boyd et al., 2008; Cattoir et Leclercq, 2010; Xu et al., 2010, Lebreton et al., 2011).

La résistance acquise de type MLS chez les entérocoques est due soit, à une modification de la cible soit, à l'inactivation d'antibiotique ou à un efflux actif de celui-ci. Dans le premier cas le mécanisme repose sur l'action d'une méthylase réalisant la méthylation d'une adénine de la sous unité 23S de l'ARN ribosomique (Hunt, 1988; Leclercq et Courvalin, 1993; Jensen et al., 1999). Ces enzymes sont codées par les gènes *erm A* ou *erm B* présentant 100% d'homologie avec les déterminants *erm* impliqués chez *S. aureus* (Portillo et al., 2000). En effet une seule altération de l'ARNr 23S confère une résistance croisée aux Macrolides, Lincosamides et Streptogramines (phénotype MLSB) (Hunt, 1988; Leclercq et Courvalin, 1993; Jensen et al., 1999). En ce qui concerne le mécanisme de pompe, les gènes *mef A*, *mef E*, *msr A*, *msr C* et *mre A* sont impliqués dans l'efflux actif des macrolides, Les gènes *mef* et *mrc A* ont été associés à une résistance limitée aux macrolides (phénotype M), le gène *msr A* a été associé à la résistance aux macrolides et à la streptogramine B, alors que le gène *msr C* a été impliqué dans l'efflux de l'érythromycine, de la pristinamycine et de la virginiamycine. Le mécanisme d'action enzymatique confère uniquement une résistance aux antibiotiques MLS structurellement liés (Ross et al., 1990; Clancy et al., 1996; Clancy et al., 1997; Tait_Kamradt et al., 1997; Portilo et al., 2000).

Le contexte de cette étude s'inscrit dans la contribution à faire l'état des lieux préliminaires des infections dues aux entérocoques dans la wilaya de Bejaia (hopital d'Amizour), ainsi

d'étudier la prévalence de la résistance des souches d'entérocoques principalement à la vancomycine, aux bêtalactamines et aux autres familles d'antibiotiques.

Tableau 1 : Types de résistance aux antibiotiques des entérocoques (Dupont et Plantefève, 2002)

Types de résistance	Antibiotiques
Naturelle	céphalosporines
	aminosides bas niveau
	clindamycine
	fluoroquinolones
	contrimoxazole
Acquise	β-lactamines
	aminosides haut niveau
	glycopeptides
	erythromycine
	tétracycline
	rifampicine
	chloramphénicol
	acide fusidique

Matériel et Méthodes

I. Contexte de l'étude et lieu de stage

A fin de faire l'état des lieux des infections dues aux entérocoques dans la wilaya de Bejaia, l'hôpital d'Amizour a été visé pour contribuer à cette étude, du fait de l'importance qu'il occupe au niveau régional. En effet, c'est le seul hôpital de la wilaya doté de service oncologie, en plus des services médecine interne, chirurgie, réanimation, pédiatrie et maternité ; renfermant un nombre total de lit de 209, ainsi le nombre d'admissions enregistrées en 2015 a atteint 11378 patients. L'étude s'est déroulée au niveau du laboratoire de microbiologie de l'hôpital durant une période allant du début janvier au début mai 2016.

II. Recueil des souches

Un total de 420 prélèvements (urines, prélèvements vaginaux, prélèvements de gorge, hémocultures, pus, liquides d'ascite, liquides péritonéaux, liquides pleuraux, liquides céphalorachidiens, et selles) issus de patients hospitalisés et de patients à titre externe ont été analysés dans le but d'isolement, d'identification et de caractérisation des souches d'entérocoques. Des prélèvements provenant d'environnement hospitalier ont fait également l'objet de cette étude dans le cadre de suspicion d'infections nosocomiales.

III. Isolement, purification et identification des souches d'entérocoques

Les entérocoques sont identifiés par leur capacité à hydrolyser l'esculine sur milieu sélectif, et l'examen direct qui inclut la coloration de Gram et le test de la catalase. A fin de pousser l'identification, d'autres tests sont nécessaires, à savoir : la croissance sur milieu hyper salé, la résistance à la chaleur, la résistance au tellurite de potassium qui met en évidence *E. faecalis* et la résistance à bas niveau aux aminosides. Le schéma ci dessous représente la démarche d'identification.

Les milieux de culture ; leur composition et les produits chimiques sont rapportés dans l'annexe I.

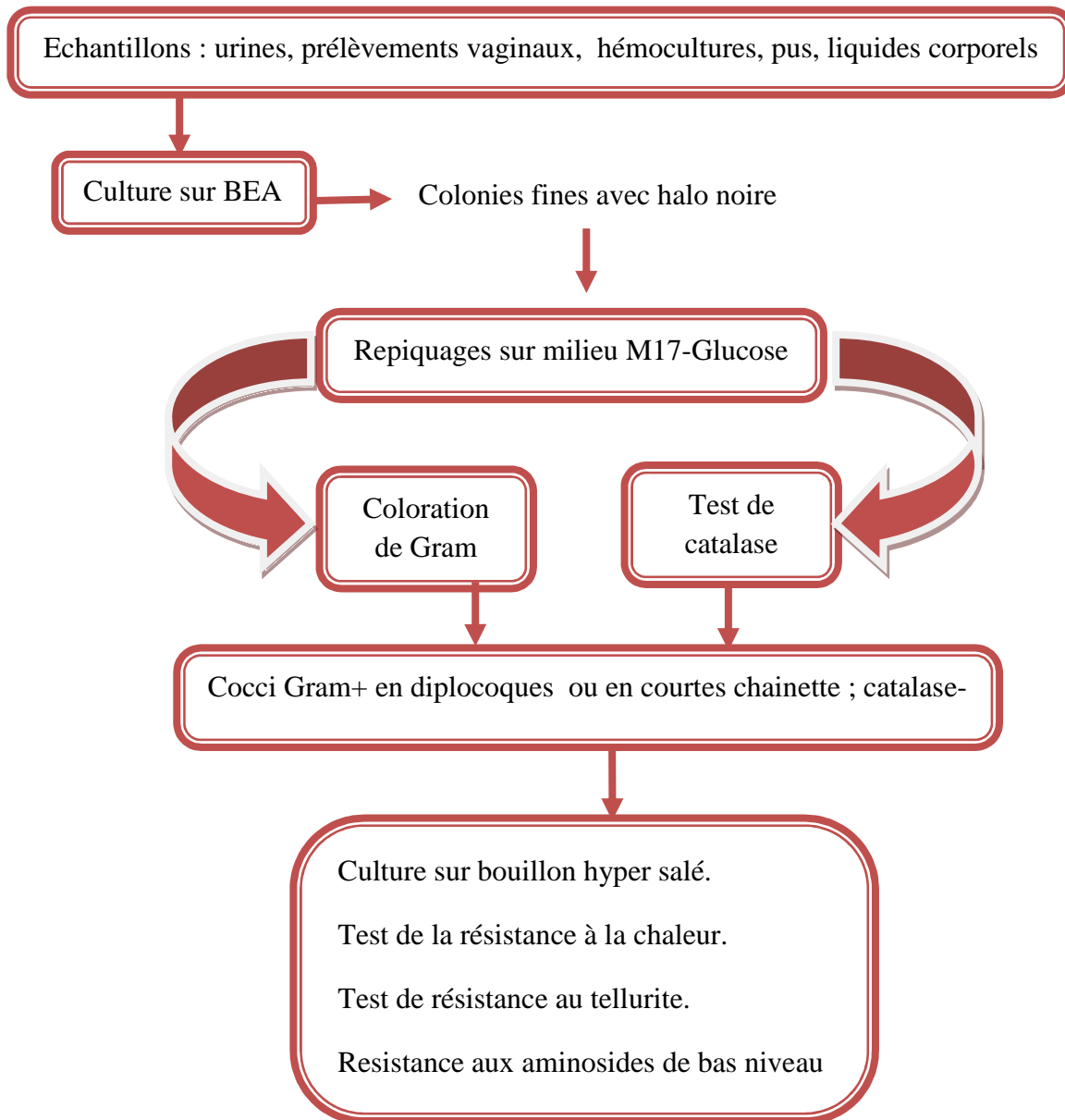


Figure 1 : Protocol d'identification des entérocoques

III.1. Isolement sur gélose Bile, Esculine et Azide de sodium (BEA)

La gélose BEA est un milieu destiné à l'isolement sélectif des streptocoques du groupe D et des entérocoques qui tolèrent la bile et hydrolysent l'esculine en glucose et esculétine. Cette dernière donne une coloration noire avec le citrate de fer; La sélection se fait grâce à la bile qui est un inhibiteur des bactéries autres qu'intestinales et que les entérocoques, et l'azide de sodium qui inhibe les bactéries à Gram négatif.

Après homogénéisation, les échantillons ont été ensemencés en stries sur la gélose BEA; puis incubés à 37°C pendant 24 à 48h; les entérocoques forment de fines colonies avec halo noir (esculine positif).

III.2. Repiquage sur gélose M17-Glucose

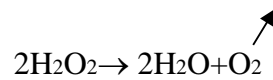
La gélose M17 additionnée du glucose à 0,5% est utilisée pour améliorer la croissance des entérocoques, les colonies sélectionnées à partir du BEA ont été repiquées et incubées à 37°C pendant 24h.

III.3. Coloration de Gram

La coloration de Gram a été réalisée selon la méthode représentée dans l'annexe II. Les entérocoques apparaissent sous forme de cocci Gram positif (couleur violette) regroupés en diplocoques ou en courtes chaînettes.

III.4. Test de catalase

Pendant leurs respiration aérobie, certaines bactéries produisent du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) qui est toxique, ces dernières le dégrade alors grâce à la catalase, cette enzyme est capable de décomposer l'H₂O₂ selon la réaction



A fin de réaliser ce test nous avons sélectionné les colonies pures ayant poussées sur M17-glucose; une parcelle de colonies a été alors prélevée et mise en contact avec une goutte d'eau oxygénée sur une lame propre.

Une catalase positive se traduit par le dégagement de bulles d'air, alors que les colonies catalase négative ont été sélectionnées pour la suite de l'identification.

III.5. Croissance sur bouillon hyper salé

Une eau peptonée (1L) additionnée de 65g de NaCl est utilisée ; 2 à 3 colonies sont ensemencées dans 5ml du bouillon hyper salé ; l'incubation s'est faite à 37°C pendant 24h à 48h.

III.6. Résistance à la chaleur

La majorité des entérocoques sont capables de pousser sous des températures allant de 10 à 45°C et peuvent survivre à une température de 60°C pendant 30min et 45°C pendant 24h.

Un volume de 100 µl d'une suspension bactérienne de 10⁸ UFC/ml à entérocoque est ensemencé dans 5ml du bouillon nutritif ou trypticase de soja puis placé 30 min au bain marie à 60°C; l'incubation s'est faite à 37°C pendant 24h.

III.7. Résistance au tellurite de potassium

En plus de propriétés de résistance aux milieux hostiles, propres aux entérocoques, *E. faecalis* possède un pouvoir réducteur très marqué : il est capable de réduire le tellurite de potassium, qui constitue souvent une substance inhibitrice pour les autres espèces.

Un volume de 4,5 ml de bouillon nutritif est additionné de 0,5 ml de tellurite de potassium préalablement dilué à 1/250 (1 ml de tellurite de potassium est dilué dans 249 ml d'eau distillée).

IV. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques

La sensibilité des souches aux antibiotiques a été déterminée par la méthode de diffusion sur gélose Mueller Hinton selon les recommandations du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (CASFM, 2015). Des boîtes de gélose Mueller Hinton ont été ensemencées par écouvillonnage à partir d'une suspension bactérienne ayant une turbidité équivalente à celle de l'étalon 0,5 de la gamme de Mc Ferland (10⁸ UFC/ml). Les diamètres des zones d'inhibition ont été interprétés par référence au CASFM-EUCAST 2015 après incubation à 37°C pendant 18h à 24h.

Tableau II : Antibiotiques testés et diamètres critiques d'interprétation

Antibiotiques	Abréviation	Charge de disque	Famille	Diamètre S (mm)	Diamètre R (mm)
Vancomycine	VA	30µg	Glycopeptides	≥ 17	-
Rifampicine	Rif	5µg	Rifamycines	≥ 20	< 17
Tétracycline	TE	30 µg	Tétracyclines	≥ 19	< 17
Ampicilline	AMP	10µg	Betalactamines	≥ 19	< 16
Imipenème	IPM	10µg	Betalactamines	≥ 21	< 18
Pristinamycine	RP	15µg	Synergistines	≥ 22	< 19
Spiramycine	SR	100µg	Macrolides	≥ 24	< 19

V. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) sur milieu liquide

Les CMI ont été déterminée pour les souches ayant un diamètre de zone d'inhibition réduit à la vancomycine (souche N° 439) selon la méthode de dilution sur milieu liquide.

A partir d'une solution mère de vancomycine à 6mg/ml, des volumes croissants (multiple de deux) ont été additionnés à des volumes de 5ml du bouillon nutritif puisensemencés par 100 µl de la suspension bactérienne (10^8 UFC/ml). L'incubation s'est faite à 37°C pendant 24h et la CMI est définie comme étant la plus faible concentration en antibiotique inhibant toute croissance visible à l'œil nu. L'interprétation est faite suivant les recommandations du comité de l'antibiogramme de la société française 2015.

Le tableau ci- dessous montre les volumes de la solution de vancomycine correspondants pour chaque CMI. Le Protocol de préparation de la solution mère, et la méthode de calcul des volumes équivalents pour chaque CMI sont démontrés dans l'annexe III.

Tableau III: Les volumes de la solution de vancomycine correspondant pour chaque CMI

volumes	CMI (µg/µl)
0	0
0.833	1
1.66	2
3.33	4
6.66	8
13.33	16
26.66	32
53.33	64
106.66	128

VI. Portage anal d'entérocoques résistants à la vancomycine

Un Protocol d'isolement et de caractérisation des souches d'entérocoques résistantes à la vancomycine a été réalisé. Il comprend l'ensemencement d'un écouvillon anal dans 1ml de

bouillon d'enrichissement Trypticase Soja, après une incubation de 2h à 37°C, 50µl de la culture sont additionnés à 150µl du bouillon Rothe contenant de vancomycine à 20µl/ml, puis 150µl du mélange précédant est ensemencé par inondation sur gélose BEA additionnée de vancomycine (20µl/ml), l'incubation s'est faite à 37°C pendant 24h, les entérocoques donne des colonies grises avec halo noire. Le schéma ci-dessous représente le Protocol du portage.

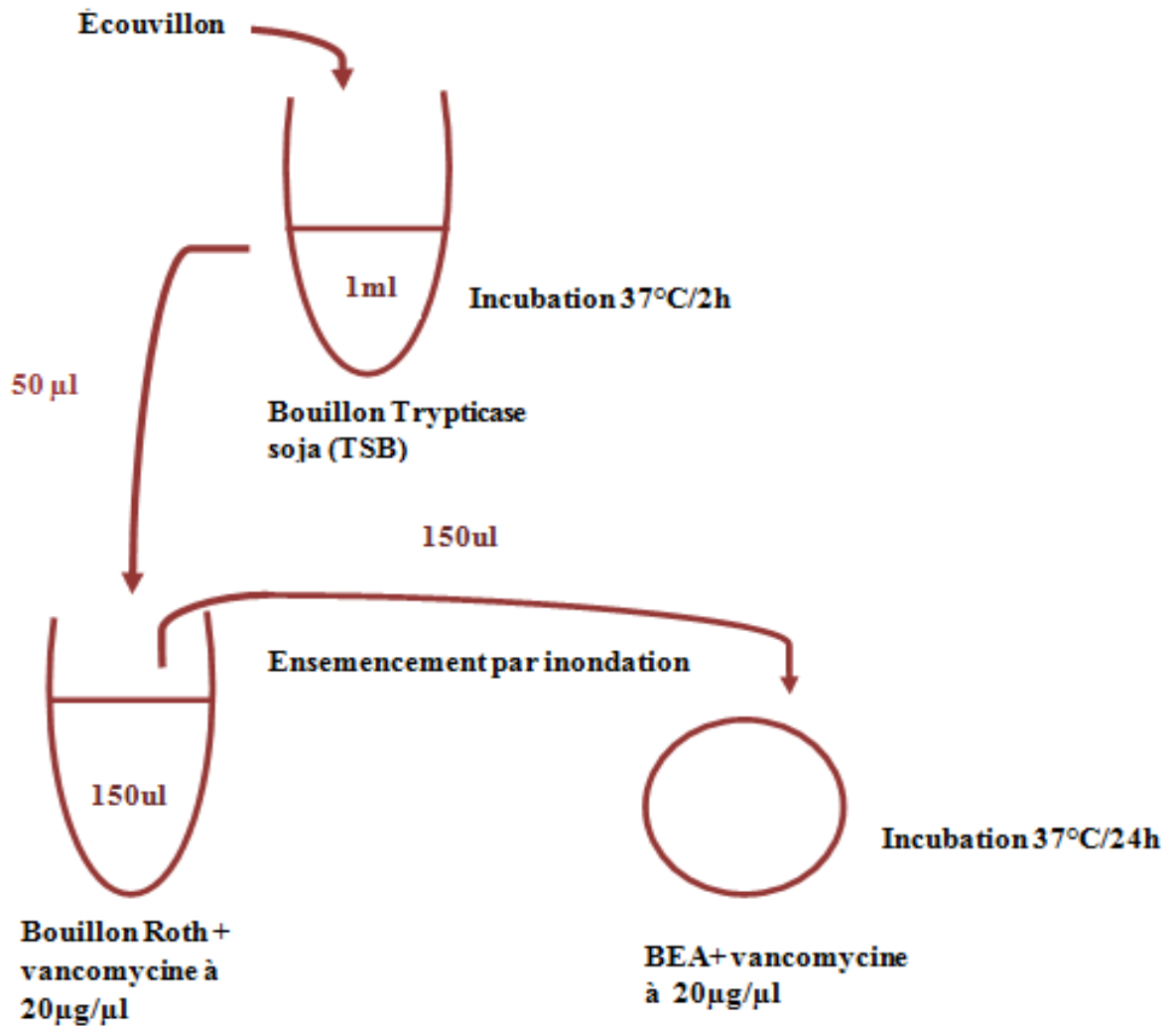


Figure 2 : Protocol du portage anal de VRE

Résultats

I. Recueil des souches

L'identification des entérocoques a été faite sur la base de l'aspect des colonies sur gélose BEA (figure 3), ainsi que leurs aspects microscopiques après la coloration de Gram (figure 4), et le test de catalase (figure 5). L'identification a été basée encore sur les tests classiques comprenant la croissance sur bouillon hyper salé (figure 6), la résistance à un traitement thermique de 60°C pendant 30 min (figure 7) et la résistance au tellurite de potassium pour *E. faecalis* (figure 8). Le tableau IV en annexe IV représente les résultats d'identification. L'étude de la résistance à bas niveau aux aminosides est également considérée comme un critère d'identification de ces souches (tableau V en annexe IV).



Figure 3 : Aspect des colonies d'entérocoques sur BEA

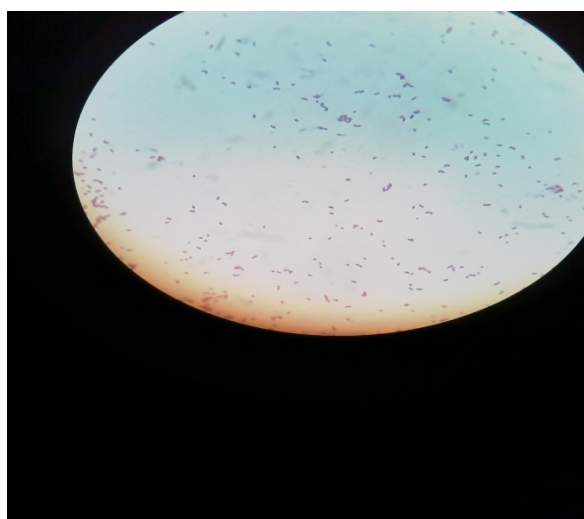


Figure 4 : Aspect microscopique des entérocoques

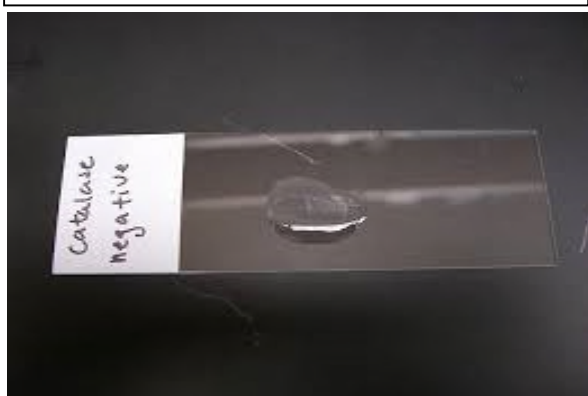


Figure 5 : Résultat du test de catalase

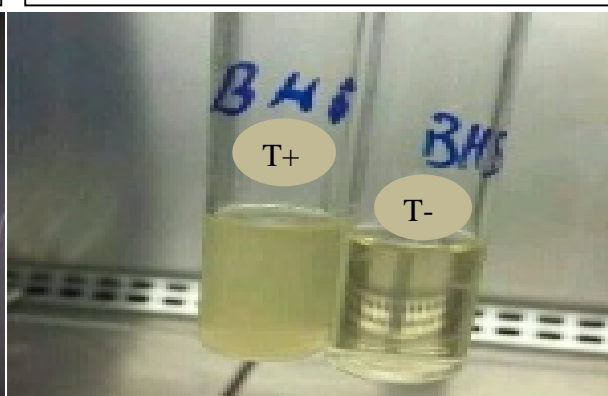


Figure 6 : Croissance sur bouillon hyper salé

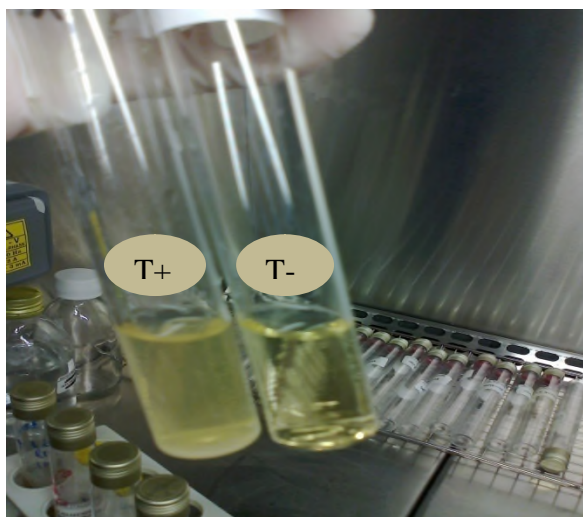


Figure 7 : Résistance à 60°C / 30min

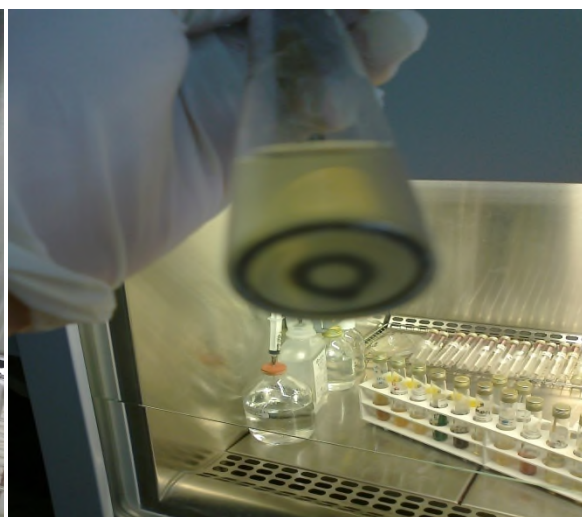


Figure 8 : Réduction de tellurite de potassium

De ce fait, au cours de cette étude, nous avons isolé et identifié 62 souches d'entérocoques dont 54 seraient *E. faecalis* et 8 autres entérocoques, pour les quelles ont été notées la provenance, la nature ainsi que la date du prélèvement. (Tableau VI en annexe IV).

Dans les prélèvements, les entérocoques ont été isolés seuls dans 53,22% des cas et associés à d'autres germes dans près de 46,77% des cas. Le tableau VII en annexe IV montre les germes associés aux entérocoques dans les infections.

Nous avons également identifié cinq souches d'entérocoques provenant d'environnement hospitalier au cours d'une suspicion d'infections nosocomiales. Le tableau VIII en annexe IV présente la provenance et les résultats d'identification.

II. Répartition des souches selon la provenance des prélèvements

La répartition des souches d'entérocoques isolées en fonction de la provenance du prélèvement est rapportée dans la figure 9. On note que les souches sont le plus souvent isolées dans les infections communautaires avec 69.35% des souches. Quant aux infections hospitalières, les entérocoques sont majoritairement isolés au niveau de service médecine interne avec 14.51% des souches, suivi par le service de pédiatrie (6.45%), puis par les services maternité, chirurgie et réanimation (3.22% pour chacun d'eux).

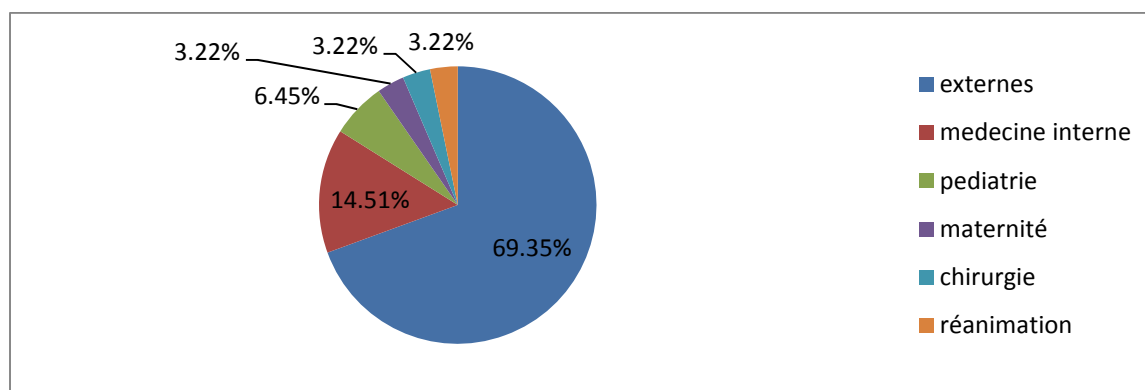


Figure9 : Répartition des souches selon la provenance des prélèvements

III. Répartition des souches selon la nature du prélèvement

Sur un total de 62 souches, 80,64% ont été isolées à partir de prélèvements urinaires, 12,9% à partir de prélèvements vaginaux, 4,84% à partir de pus et seulement une seule souche (1,61%) a été isolée des hémocultures.

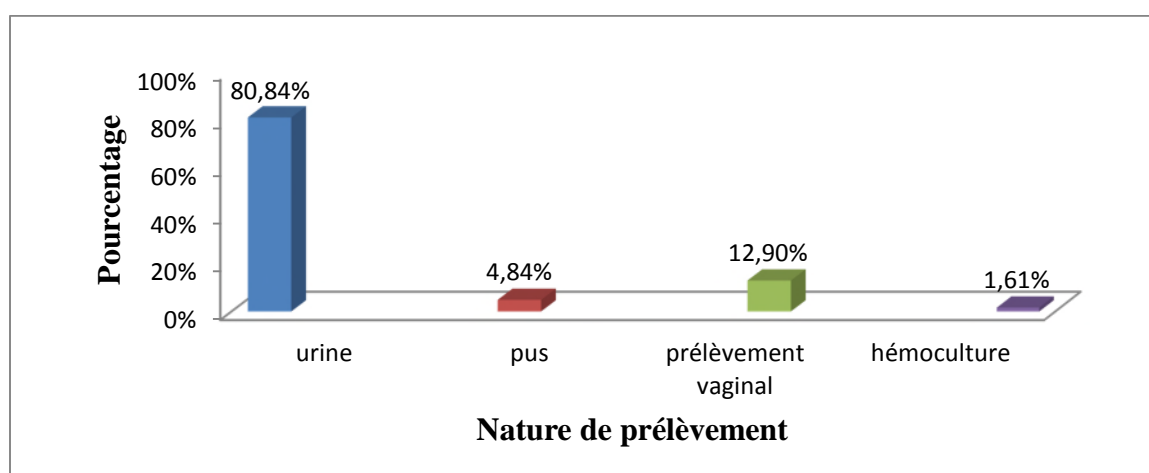


Figure 10 : Répartition des souches d'entérocoques selon la nature du prélèvement.

IV. Répartition des souches en fonction de l'âge et du sexe

L'âge des patients dont les entérocoques ont été isolés varie de 1ans à 92ans et leurs répartition en catégories d'âge est rapportée dans la figure 11, le résultat montre que le nombre maximal des cas rentre dans la catégorie d'âge de 16ans à 39ans, suivie par l'âge de 40ans à 59ans puis par les catégories de 1ans à 15ans et plus de 60ans. Sur la totalité des patients, 45 (73,77%) était de sexe féminin, et 16 (26,22%) de sexe masculin (figure 12).

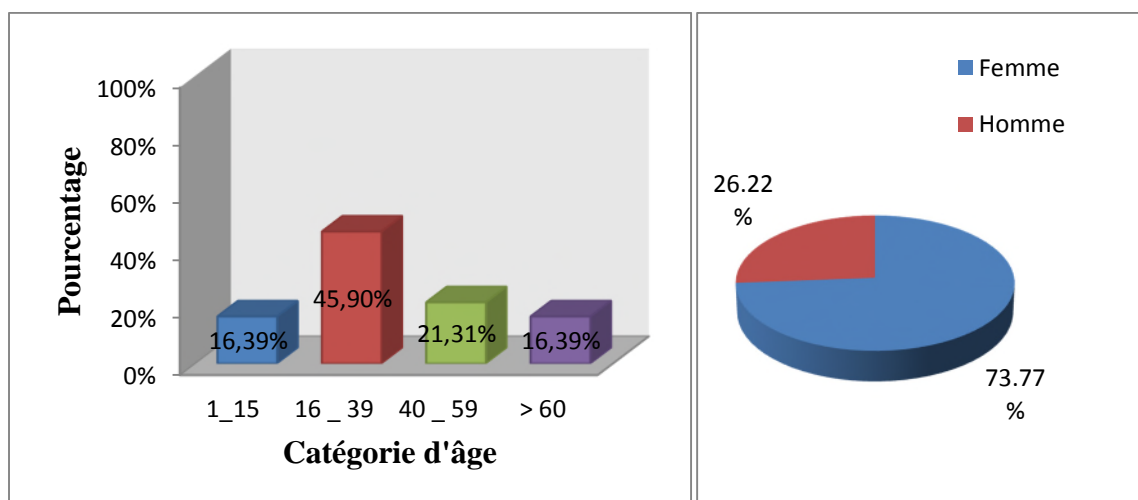


Figure 11 : Répartition des souches en fonction de catégorie d'âge

Figure 12 : Répartition des souches en fonction de sexe

V. Répartition des souches par espèces

Se basant sur la faculté d'*E. faecalis* à réduire les tellurites de potassium, notre résultat montre que l'espèce la plus fréquemment isolée serait *E. faecalis* avec 87,09% des souches, les 12,90% des souches représentent les autres entérocoques (figure 13). Cependant, d'autres analyses sont nécessaires pour confirmer l'identité d'*E. faecalis*.

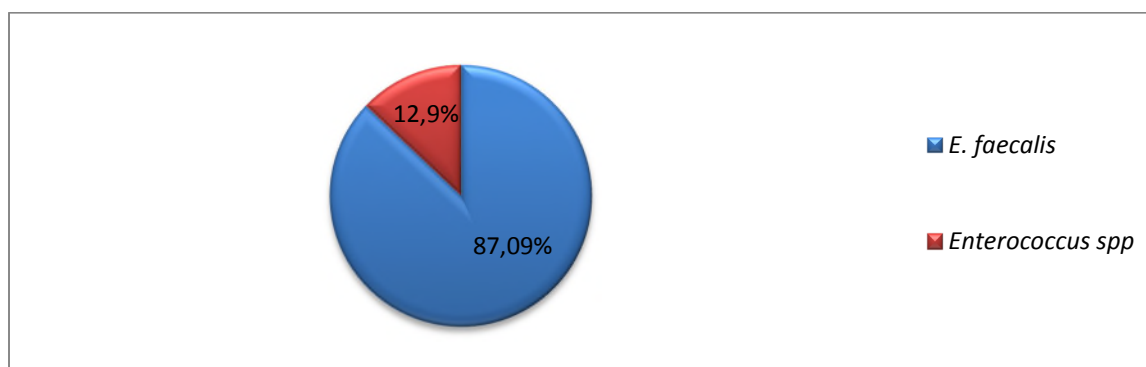
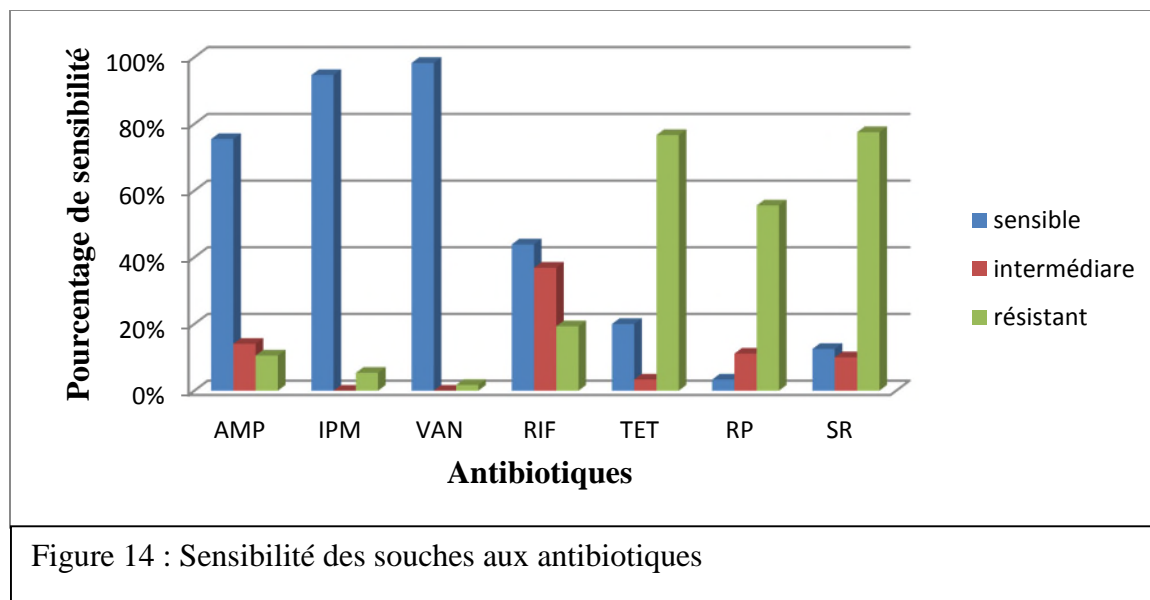


Figure 13 : Répartition des souches selon l'espèce

VI. Sensibilité des souches aux antibiotiques

Les résultats de l'étude de sensibilités des souches d'entérocoques aux antibiotiques (*In vitro*) sont représentés dans la figure 14, ainsi dans le tableau IX en annexe IV. Des taux de résistance élevés de 97,5% et 66,67% ont été déterminés respectivement pour la spiramycine et la pristinamycine qui appartiennent aux macrolides et apparentés. La tétracycline et la

rifampicine ont également des taux de résistance élevés, de 80% et 56,14% respectivement. Concernant les β -lactamines les taux sont variables, ils varient de 5,35% à 24,56% pour l'imipénème et l'ampicilline. Il est à noter que toutes les souches testées étaient sensibles à la vancomycine à l'exception de la souche 439 qui présentait un diamètre réduit à la vancomycine et pour laquelle la CMI a été déterminée.



VII. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)

La CMI de la vancomycine obtenue pour la souche 439 était de 16 μ g/ml ; elle correspond à une résistance modérée.

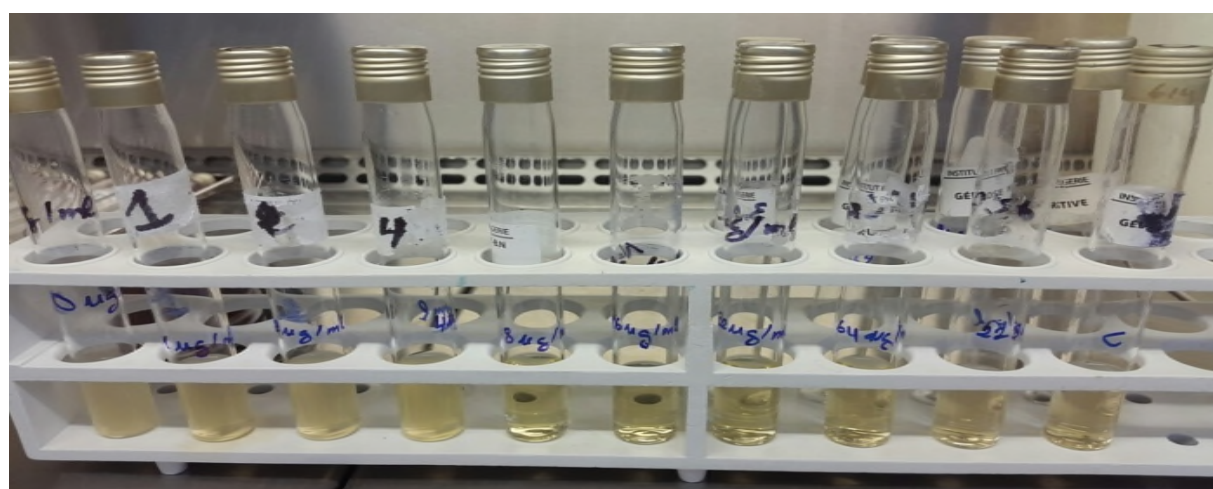


Figure 15 : Résultats de la CMI sur milieu liquide.

VIII. Profil de sensibilité des souches d'entérocoques isolées selon la nature du prélèvement

Urine

Les pourcentages de résistance aux β -lactamines pour les souches d'origine urinaire étaient de 31,11% et 6,81% pour l'ampicilline et imipénème respectivement, à noter également des taux de résistance de 86,35% à la tétracycline, 60% à la rifampicine, 65,71% à la pristinaïmycine, et 83,86% à la spiramycine.

Pus

Nous avons obtenu 100% de sensibilité à l'ampicilline, à l'imipénème et à la tétracycline. Les souches avaient des taux de résistance de 33,33% à la rifampicine, de 66,67% à la pristinaïmycine et de 100% à la spiramycine.

Hémoculture

La seule souche d'hémoculture était sensible à l'ampicilline et à l'imipénème, et présente une résistance intermédiaire à la rifampicine, pristinaïmycine et spiramycine.

Prélèvements vaginaux

Nous avons obtenu 100% de sensibilité à l'ampicilline et à l'imipénème, et une bonne activité de la rifampicine avec une sensibilité de 62,5% des souches. Le pourcentage de résistance à la tétracycline était de 71,42%. Un taux de 83,34% des souches étaient résistantes à la pristinaïmycine. Enfin, toutes les souches étaient résistantes à la spiramycine.

Toutes les souches provenant de différentes origines étaient sensibles à la vancomycine à l'exception d'une souche d'origine urinaire.

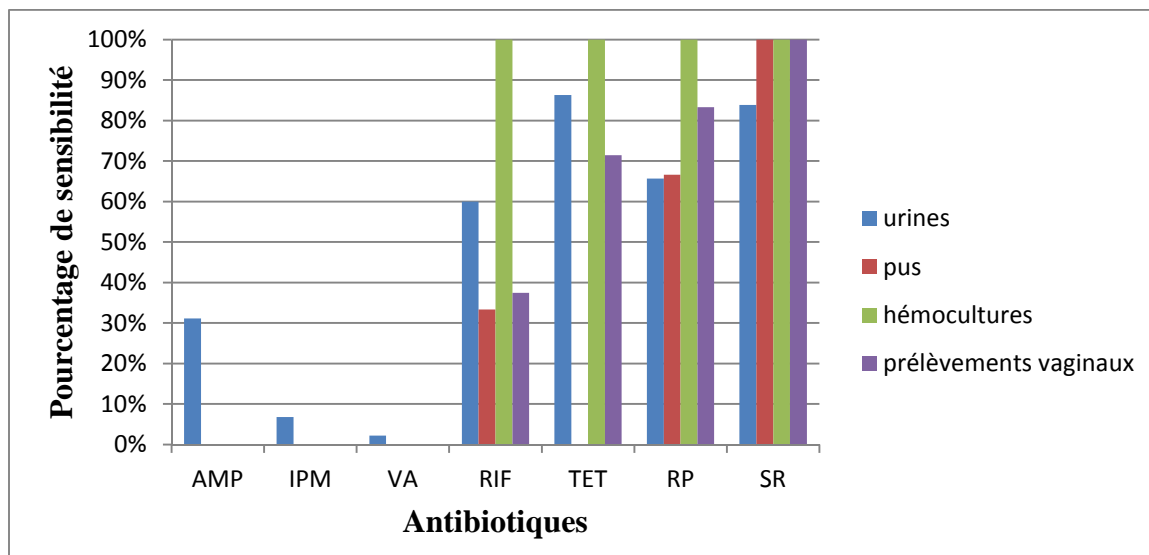


Figure 16 : Profil de sensibilité des souches selon la nature du prélèvement

IX. Résistance des souches d’environnement hospitalier aux antibiotiques

Les isolats d’entérocoques présentaient des taux de résistances de 80% pour la rifampicine et la pristina mycine, 60% pour la tétracycline et 40% de résistance pour l’ampicilline et l’imipénème, en revanche 100% des souches présentaient une sensibilité à la vancomycine. Les résultats de l’étude de la sensibilité des souches aux antibiotiques sont rapportés dans la figure 16 et le tableau X en annexe IV.

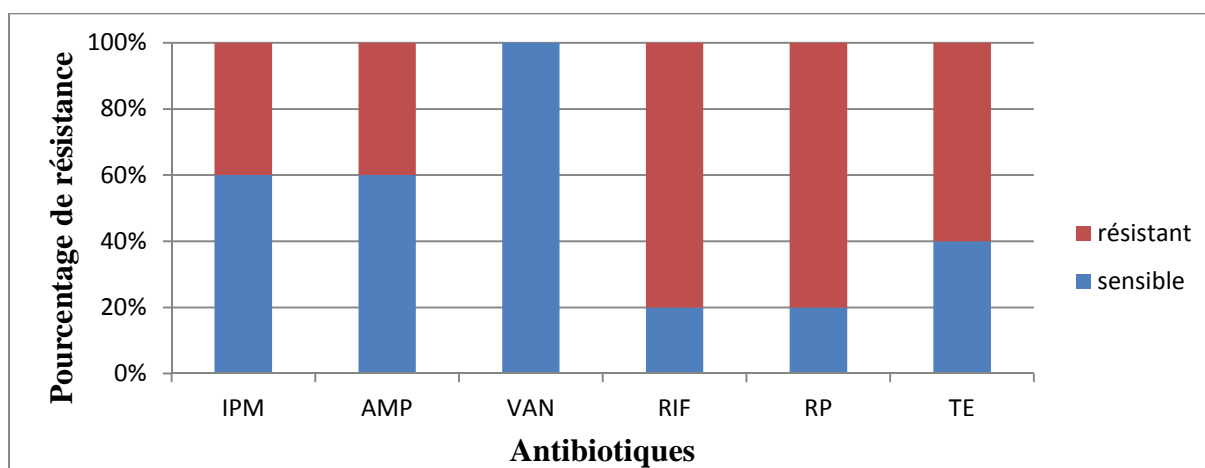


Figure 17 : Résistance des souches d’environnement hospitalier aux antibiotiques

X. Portage des entérocoques résistants à la vancomycine

Dans notre étude les cinq portages réalisés chez les patients ayant reçus de la vancomycine pendant au moins 7 jours révèle l'absence de VRE.

Discussion

Les infections couramment causées par les entérocoques comprennent les infections des voies urinaires et génitales, les infections intra abdominales et pelviennes, les infections de plaies, les bactériémies et les endocardites (**Schmidt_Heiber et al., 2007; Sakka et al., 2008; Mittal et al., 2016**).

Dans notre étude, le taux le plus élevé d'isolement des souches d'entérocoques, étant de l'urine (80,64% des souches), suivi par les prélèvements vaginaux, les pus et enfin les hémocultures. Ces résultats sont comparables avec d'autres travaux rapportant un nombre maximal d'entérocoques dans les échantillons urinaires (**Adhikari., 2010; Preeti et al., 2013; Kudo et al., 2014**). De plus, une étude similaire a rapporté des proportions de 64,6% pour les isolats cliniques d'origines urinaires, 15,7% d'origines des pus et 11,2% d'hémocultures (**El_Ghazawy et al., 2016**). Cependant d'autres études ont montré que les hémocultures (25% des isolats cliniques) étaient le deuxième site d'isolement des entérocoques, suivies par les pus (19%), autres liquides corporels (8%) et les prélèvements vaginaux (7%), contre 41% d'isolats d'origines urinaires (**Mittal et al., 2016**).

Dans notre étude, *E. faecalis* serait l'espèce d'entérocoque la prédominante présentant 87,09% des isolats cliniques, De nombreuses études rapportent que *E. faecalis* est l'espèce la plus isolée parmi les entérocoques, notamment l'étude rapportée en Inde (**Wavare et al., 2015**) et celle rapportée en Algérie, cette dernière signale un taux de 75,3% pour les souches d'*E. faecalis*, suivi par un taux de 21,2% pour *E. faecium*, puis par *E. gallinarum* (2,4%) et *E. casseliflavus* (1,2%) (**Bourafa et al., 2016**). Dans d'autres pays, les infections à entérocoques sont le plus souvent causées par *E. faecalis* avec 80-85% des isolats cliniques, suivies par *E. faecium* avec 10-15% des isolats et plus rarement par *Enterococcus durans*, *Enterococcus avium*, *Enterococcus raffinosus*, *Enterococcus mundtii* *Enterococcus hirae*, *E. gallinarum* et *E. casseliflavus* (**Parvati et Applaraju., 2003; DePerio et al., 2006**).

Les infections à entérocoques sont le plus fréquemment retrouvées chez les femmes que chez les hommes, en particulier les infections urinaires, où il ya possibilité d'entrée d'entérocoques intestinaux dans la voie urinaire en raison de la proximité des flores urétrale et anale (**Steven et al., 1992**).

Dans notre étude, les entérocoques étaient majoritairement isolés chez les femmes avec un taux de 73%, ces résultats se rapprochent de ceux retrouvés par (**Tornero et al., 2014**). En Algérie autres auteurs ont rapporté aussi que les entérocoques sont majoritairement isolés chez les femmes avec 59% des souches (**Djahmi et al., 2012**).

Dans notre étude, le nombre maximal de cas d'infection à entérocoques est retrouvé chez la catégorie d'âge de 16 à 39 ans comprenant 45.9% du total des cas. Ces résultats sont similaires à ceux rapportés en Inde, en revanche, d'autres études ont rapporté un taux d'isolement plus élevé chez les sujets âgés de plus de 60 ans (**Bhat et al., 2015; Wavare-Sanjay et al., 2015**).

L'implication des entérocoques dans les infections a été moins établi, principalement à cause du caractère poly microbiens de ces infections, en particulier dans les infections intra abdominales où les entérocoques sont toujours presque en association avec les entérobactéries et les germes anaérobies (**Moellering, 1992; Montravers et Carbon, 1994**).

Dans notre étude 53,22% des infections à entérocoque étaient poly microbiennes, ces résultats se rapprochent de ceux retrouvés en Europe montrant que les infections à entérocoques sont dans 54% des cas poly microbiennes et que les germes retrouvés en association étaient les SCN, *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* et *Enterobacter cloacae* (**Tornero et al., 2014**). En revanche, les résultats retrouvés en Algérie montrent que les entérocoques étaient majoritairement isolés seuls dans les infections cliniques (83.66% des isolats sont mono microbiens) (**Djahmi et al., 2012**).

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

L'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, étaient peu sensibles aux aminopénicilines avec une prévalence de 24,56% (n=57). Nos résultats sont similaires à ceux rapportés en Algérie par (**Djahmi et al., 2012**) rapportant une prévalence de 30,4% (n=125), en revanche nos résultats sont relativement faibles comparés à l'étude réalisée en France en 2014 par le Réseau EARS-Net et montrant un taux élevé (45%), alors qu'il était presque à moitié en 2002 avec une prévalence 19,5% (n=2008) (**Trystran et al., 2014**).

En ce qui concerne le taux de résistance à l'imipénème retrouvé dans notre étude, il présentait 5,35% (n=56), ce taux est relativement faible comparé aux résultats rapportés en Mont-Goddine et rapportant une prévalence de 11% (n=143) de résistance (**Muthur et al.,**

2003; Delaere et al., 2007). La résistance aux β -lactamines est peut être liée à la production de β -lactamase plasmidique. Ceci a été rapporté chez quelques souches d'*E. faecalis* et rarement chez *E. faecium* (**Rice., 2001**), ou bien par hyperproduction de la PLP5, fréquente chez *E. faecium* responsable d'une faible affinité aux β -lactamines (**Bonin et al., 1996**).

Dans notre étude, nous avons détecté un taux de résistance très élevé à la tétracycline, qui valait 80% (n=30), nos résultats sont similaires à ceux rapportés en Algérie (82,4%) (**Djahmi et al., 2012**), en revanche d'autres études en Inde ont rapporté respectivement des résistances moyennes de 60% (n= 100) à 80% (**Hinnong Brown, 1995; Weijia et al., 2014**). L'acquisition de la résistance à la tétracycline peut être conférée par différents mécanismes et gènes, y compris les mécanismes d'efflux codés par les gènes *tet K* et *tet L*. De plus une protection du ribosome codée par les gènes *tet M*, *tet O* ou *tet S*, ainsi qu'un mécanisme inconnu codé par le gène *tet U* (**Chopra et Roberts., 2001**).

La résistance aux rifampicines est également décrite, révélant un taux de résistance de 56,14%. Le résultat obtenu dans notre étude n'est pas très éloigné de ceux rapportés par en Chine (66% pour n= 100) et en Liban (**Zouain et Araj., 2001; Weijia et al., 2014**). La plupart des résistances aux rifampicines sont médiées par des mutations dans le gène *rpo B* qui code pour la sous unité β de l'ARN polymérase (**Enne et al., 2004**).

Nos résultats montrent des taux de résistance de 66,67% et 87% à la pristinamycine et à la spiramycine respectivement. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés en Tunisie (**Abbassi et al., 2003**). Le mécanisme de résistance habituellement impliqué est la méthylation de l'ARN ribosomal 23S codé par le gène *erm B* (erythromycine ribosomal methylase) (**Roberts et al., 1991**).

L'ERG est endémique aux USA à cause de l'utilisation à partir des années 1980 de la vancomycine orale, il en est d'apparition récente en Europe suite à l'utilisation de l'avoparicine. Dans notre pays, l'isolement d'ERG reste rare (**Hamidi et al., 2013**). Dans notre étude, une seule souche a été trouvée résistante à la vancomycine chez une personne ayant jamais reçu une antibiothérapie à base de la vancomycine, l'origine alimentaire de la souche est écartée vue de non utilisation de l'avoparicine en Algérie. Le portage n'a pas été possible en raison du décès du patient. Le taux de résistance à la vancomycine était de 1,61%, ces résultats sont similaires à ceux rapportés en Algérie en 2011 par le **Réseau de surveillance des bactéries aux antibiotiques**, et en 2016 indiquant l'absence d'ERV dans leurs isolats (**Bourafa et al., 2016**), également en Inde, la prévalence des souches d'*E.*

faecalis résistantes à la vancomycine est comprise entre 2% et 6% (**Taneja et al., 2004; Kapoor et al., 2005**). En revanche le taux d'ERV était plus élevé (35,5%) en Amérique du Nord selon **Health-Care National Safety Network (NHSN)** en 2009. La CMI de la vancomycine pour la souche était de 16µg/ml, montrant une résistance modérée à cet antibiotique. La résistance modérée à la vancomycine est peut être due à l'acquisition de la souche de l'un des gènes *van B*, *van E*, *van G* ou *van N*, codant pour des enzymes impliquées dans la synthèse de précurseurs du peptidoglycane de faible affinité pour la vancomycine et conférant des CMI variables à celle-ci, allant de 4 à 1000µg/ml pour le gène *vanB*, 8 à 32µg/ml pour le gène *vanE*, et 16µg/ml pour *vanG* ou *vanN* (**Cattoir et Leclercq, 2010**).

Dans notre étude seules les souches d'origine urinaire présentaient des résistances aux β-lactamines et aux glycopeptides, avec des prévalences de 2,22% pour la vancomycine et de (31,11%) pour l'ampiciline, nos résultats se différencient de ceux rapportés en Tunisie où le taux de résistance aux β-lactamines est plus élevé chez les souches provenant d'hémoculture (**Ben Redjab et al., 2008**).

Concernant la résistance aux autres antibiotiques (macrolides, rifampicine), le taux de résistance des souches est élevé de 65% à 100% il est plus ou moins similaire entre les souches provenant de différentes origines. Nos résultats ne sont pas très éloignés de ceux rapportés en Tunisie (**Ben Redjab et al., 2009**).

L'hygiène hospitalière est un problème fréquent rencontré dans tous les services hospitaliers. Au fil des années, la résistance des micro-organismes n'a cessé de croître entraînant un risque nosocomial grandissant (**Brucker., 1998**).

Les cinq souches provenant de l'environnement hospitalier présentaient un pourcentage de 40% de résistance aux antibiotiques testés à l'exception de la vancomycine. La problématique posée n'est pas seulement liée à la présence d'entérocoques dans l'environnement hospitalier et le risque de colonisation et le déclenchement d'infection chez les patients hospitalisés, mais aussi l'acquisition de la résistance chez ces entérocoques à divers familles d'antibiotiques, qui laisse les cliniciens avec des options thérapeutiques très limitées faces à ces souches multi résistantes en cas d'infection.

Bien qu'il soit difficile de démontrer si la contamination de l'environnement hospitalier est la cause ou la conséquence de l'infection, des arguments indirects permettent le plus

souvent d'impliquer l'environnement comme réservoir primaire ou secondaire potentiellement à l'origine d'infections nosocomiales (**Cavello et al., 2002**).

Conclusion

Au cours de cette étude réalisée au laboratoire de microbiologie de l'hôpital d'Amizour durant une période de 4 mois, 420 échantillons ont été analysés, notre objectif de départ était d'isoler, identifier, puis caractériser les phénotypes de résistance des souches d'entérocoques principalement à la vancomycine, aux bêtalactamines et aux autres familles d'antibiotiques.

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 bactéricide synergique entre un agent actif sur la paroi (vancomycine ou bêtalactamine) et un aminoside de haut niveau. 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 s'avère difficile voire problématique. De ce fait, les conséquences se traduisent par une plus grande mortalité, et aussi par une augmentation des coûts et la durée d'hospitalisation.

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

- ✓ Les résultats d'identification de 420 prélèvements révèle 62 souches d'entérocoques cliniques, parmi les quelles 87.09% correspondraient à *Enterococcus faecalis*. Ainsi 5 souches d'entérocoques provenant de l'environnement hospitalier.
- ✓ Les résultats montrent que les souches, sont le plus souvent isolées dans les infections communautaires (69.35%), suivi par le service médecine interne (14.51%).
- ✓ La majorité des infections causées par les entérocoques sont d'origine urinaire (80.64%).
- ✓ Les entérocoques ont été fréquemment isolés chez les patients âgés de 16 à 39 ans, avec une prédominance du sexe féminin à 73.77% des cas contre 22.33 % du sexe masculin.
- ✓ La caractérisation des phénotypes de résistances aux antibiotiques de l'ensemble des isolats cliniques et d'environnement hospitalier révèle des multi résistances aux divers antibiotiques au sein du même isolat.
- ✓ Les taux de résistance vis-à-vis de la spiramycine, tétracycline, pristnamycine, rifampicine sont de 87%, 80%, 66.66%, et 54.16% respectivement. Des faibles taux de résistance de 5.36% et 24.56% sont enregistrés pour l'imipenème et l'ampicilline respectivement.

Conclusion et perspectives

- ✓ Concernant la résistance à la vancomycine, uniquement une seule souche a montré un diamètre réduit.
- ✓ Un taux de 80% des souches d'environnement sont résistantes à la rifampicine et la pristinaamycine, 60% à la tétracycline et 40% de résistance à l'ampicilline et l'imipénème.

Malgré la faible prévalence des ERV, une surveillance étroite et des mesures préventives doivent être mener. De plus, une nécessité à maintenir une politique d'utilisation des antibiotiques d'une façon raisonnable, notamment la vancomycine et la teicoplanine puisque ces derniers sont considérés comme agent du dernier ressort.

Tous les laboratoires de microbiologie doivent rester vigilants devant l'isolement de toutes souches d'*Enterococcus* présentant un diamètre réduit 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 multi résistantes (BMR) et la recherche des entérocoques et notamment les ERV.

Enfin, notre étude nous a permis de faire un état des lieux préliminaire dans la région de Bejaia, commune d'Amizour et de mettre l'accent sur les infections à entérocoques auparavant méconnues par les établissements hospitaliers de la région de béjaia. Ceci afin de prévenir l'émergence des entérocoques vancomycine Résistants.

Références Bibliographiques

A

Abbassi, M. S., Achour, W., Ben Hassen, A. (2003). Caractéristiques des souches d'entérocoques isolées chez des patients neutropéniques au centre national de greffe de moelle osseuse de Tunis. *Bull Soc Pathol Exot* **97**, 2, 91-94.

Adhikari, L. (2010). High-level aminoglycoside resistance and reduced susceptibility to vancomycin in nosocomial Enterococci. *J Glob Infect* **2(3)**, 231-235.

Aggoune, N., Chabani, A., Tiouit, D., Naim, M., Rahal, K. (2008). Premier cas d'*Enterococcus faecalis* résistant à la vancomycine en Algérie. *Méd et mal infect* **38**, 557-558.

Antibiotic Resistance Threats in the Unites States. (2013). Centrs for Disease Control and Prevention. *Mal infect* 800 232-4636.

Aguilar-Galvez, A., Dubois-Dauphin, R., Destain, J., Campos, D., Thonart, P. (2011). Les entérocoques : avantages et inconvinients en biothechnologie. *Biotechnol Agron Soc* **16(1)**, 67-76.

Aguilar-Galvez, A., Dubois-Dauphin, R., Destain, J., David Campos, D., Thonart, P . (2012).Les entérocoques : avantages et inconvenients en biotechnologie. *Biotechnol Agron Soc* **16(1)**, 67-76.

Allegiant, J., El Solh, N. (1992). Sequence of a staphylococcal plasmid gene, vga. encoding a putative ATP-binding protein involved in resistance to virginiamycin Alike antibiotics. *Gene*. **1(17)**, 45-51.

Arias, C. A., Contreras, G. A., Murray B. E. (2010). Management of multidrug resistant Enterococcal infections. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect*. **16(6)**, 55-62.

B

Ben Redjeb, S., Boutiba-Ben Boubaker, I. (2004-2007). L'antibio-Résistance en Tunisie. *LART; LR 99ES 09*.

Bhatt, P., Maj, A., Patel, A., Sahni, A. K., Brig, C., Praharaj, A. K., Surg, C., Retd, D., Grover, N., Col, F., Chaudhari, C. N., Surg, C., Kumar, N., Das, B., Kulkarni, M. (2015). Emergence of multidrug resistant enterococci at a tertiary care centre. *Med J Armed Forces India* **71**(2), 139-144.

Bouraafa, N., Aba,t C., Loucif, L., Olumuyiwa-Olaitan, A., Bentorki, A. A., Boutefnouche, N., Rolain, J. M. (2016). Identification of vancomycin susceptible major clones of clinical *Enterococcus* from Algeria. *J Glob Antimicrob Resist* **6**, 78-83.

Bonin, M., Chantelat, P., Febre, C., Mermet, F., Muin, B., Talon, D., Tronel, H. (1996). Les entérocoques : épidémiologie dans les hôpitaux de l'Est de la France. *Med Mal Infect* **29**, 93-98.

Bouvet, A., Couvry, G. (1994). Identification des entérocoques en microbiologie clinique. *Med Mal Infect* **24**, 132-40.

BM, Fawcett D, Gillani N, Mulvey MR. (2008). Molecular characterization of *Enterococcus faecalis* N06-0364 with low-level vancomycin resistance harboring a novel D-Ala-D-Ser gene cluster, vanL. *Antimicrob Agents Ch* **52**, 2667-2672.

Brandl, K., Plitas, G., Mihiu, C. N., Ubeda, C., Jia, T., Fleisher, M., Schnabl, B., DeMatteo, R. P., Pamer, E. G. (2008). Vancomycin-Resistant enterococci exploit antibiotic_induced innate immune deficits. *Nature* **455**(7214), 804-7.

C

- Caglar Citak, E., Oguz, A., Karadeniz, C., Okur, V., Basustaoglu, A., Arman, D. (2006).** First recurrent infection with vancomycin-resistant *Enterococcus* from Turkey. *J Infect* **53** 147–50.
- Casadevall A, Pirofski L. (2001).** Host-pathogen interactions: the attributes of virulence. *J Infect* **184**, 337-344.
- Cattoir, V., Leclercq, R. (2010).** Enterococci resistant to glycopeptides. *Med Sci (Paris)* **26**, 936-942.
- Cavallo, J. D., Antoniotti, G., Baffoy, N., Guignement-Courdais, S., Hajjar, J., Horn, C., LeGouhir, C., LeGuyader, A., LeJeune, B., Manier, M., Salomon, V. (2002).** Surveillance microbiologique de l'environnement dans les établissements de santé.
- Courvalin, P.(2006).** Vancomycin-resistance in Gram positive cocci. *Clin Infect* **42**(1),S25–34.
- CDC National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS). (2004).** System Report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004, *Am J Infect Control* **32**,470-85.
- Cereda, F., Sader, H., Jones, R., Sejas, L. A., Zanatta, Y, et al. (2001)** *Enterococcus faecalis* resistant to vancomycin and teicoplanin (VAN A phenotype) isolated from a bone marrow transplanted patient in Brazil. *Braz J Infect* **5**(1), 40–6.
- Clancy, J., Petitpas, J. W., Dib-Hajj, F., Yuan, W., Cronan, M., Kamath, A. V., Bergeron, J., Retsema, J. A. (1996).** Molecular cloning and functional analysis of a novel macrolide-resistance determinant, *mefA*, from *Streptococcus pyogenes*. *Mol. Microbiol* **22**, 867-879.

Clancy, J., Dib-Hajj, F., Petitpas, J. W., Yuan, W. (1997). Cloning and characterization of a novel macrolide efflux gene, *mreA*, from *Streptococcus agalactiae*. *Antimicrob Agents Ch* **41**, 2719-2723.

Coignard, B., Thiolet, J. M., Lacavé, L. (2006). Enquête nationale de prévalence de des infections nosocomiales. *InVS*.

Comité technique national des l'infections nosocomiales. (1999). Les infections nosocomiales : définition et circonstances de survenue. **3**. [En ligne]. (<http://social-sante.gouv.fr/IMG/pdf/dossier.pdf>).

Chopra, I., Roberts, M. (2001). Tetracycline antibiotics : mode of non infectious drug resistance plasmid. *J.Bacteriol* **124**,784_790.

Courvalin, P. (2006). Vancomycin Resistance in Gram-Positive Cocci. *Clin Infect* **42**, 25-34.

D

Delaere, B., Ausselet, N., Glupczynski, Y. (2007). Mont-Godine, Taux de résistance aux antibiotiques des souches isolées de prélèvements de patients hospitalisés.

Depardieu, F., Podglajen, I., Leclercq, R., Collatz, E., Courvalin, P. (2007). Modes and modulations of antibiotic resistance gene expression. *Clin Microbiol* **20**, 79-114.

DePerio, M. A., Yarnold, P. R., Warren, J., Noskin, GA. (2006). Risk factors and outcomes associated with non-Enterococcus faecalis, non-Enterococcus faecium enterococcal bacteremia. *Infect Control Hosp Epidemiol* **27**(1), 28-33.

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* **2**, 155-158.

Devriese, L. A., Pot, B., Collins, M. D. (1993). Phenotypic identification of the genus *Enterococcus* and differentiation of phylogenetically distinct enterococcal species and species groups. *J Appl Bacteriol* **75**, 399-08.

Devriese, L. A., Baele, A. M., Butaye, P., Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, KH., stackebrandt, E., (2006). The genus *Enterococcus*: Taxonomy. In Prokaryotes 3rd edition. *Spr, New York, NY, USA* **4**, 4-75.

Djahmi, N., Boutet, D. A., Nedjai, S., Dekhil, M., Sotto, A., Lavigne, J. P. (2012). Molecular epidemiology of *Enterococcus sp.* Isolated in university hospital in Algeria. *J Infect* **44**, 655-662.

Djahmi, N., Boutet-Dubois, A., Nedjai, S., Dekhil, M., Sotto, A., Lavigne, J. P. (2014). Molecular epidemiology of *Enterococcus sp.* isolated in a university hospital in Algeria. *J Infect* **71**(2), 139-144.

Donskey, C. J., Chowdhry, T. K, Hecker, M. T, Hoyen, C. K, Hanrahan, J. A., Hujer, A. M, Hutton-Thomas, RA., Whalen, CC., Bonomo, RA., Rice, LB. (2000). Effect of antibiotic therapy on the density of vancomycin_resistant enterococci in the stool of colonized patients. *N Engl J Med* **343**(26), 25-32.

Dressel, D. C., Tornatore_Reuscher, M. A., Boschman, C. R., Stosor, V., Zembower, T., Postelnick, M. J, Noskin, GA., Peterson, LR. (1999). Synergistic effect of gentamicin plus ampicillin on enterococci with differing sensitivity to gentamicin: a phenotypic assessment of NCCLS guidelines. *Diagn Microbiol Infect* **35**(3), 219-225.

Dupont, H., Plantefère, G, (2002). Conférences d'actualisation, P.541-554. www.sfar.org/sfar_actu/ca_02/html/ca_02_35/ca_02_35.Htm.

E

Enne, V. I., Delsol, A. A, Roe, J. M., Bannett, P. M. (2004). Rifampicin resistance and its fitness coest in *Enterococcus faecium*; *J Antimicrob Ch.*

El-Ghazawy, I., Okasha, H., Mazloun, S. (2016). A study of high level aminoglycoside resistant enterococci *Afr J Microb Res* **10**(16) 572-577.

F

Fontana, R., Aldegheri, M., Ligozzi, M., Lopez, H., Sucari, A., Satta, G. (1994). Over production of a low-affinity penicillin binding protein and high-level ampicillin resistance in *Enterococcus faecium*. *Antimicrob Agents Ch.* **38**, 19-30.

François, N. S., Mainardi, J. L. (1988). *Enterococcus faecalis* : Aspects bactériologique, épidémiologique et Thérapeutique. *Feuil. Biol* **39** (220), 21-26.

Frankenberg, L., Brugna, M., Hederstedt, L. (2002). *Enterococcus faecalis* heme-dependent catalase. *J Bacteriol* **184**, 6351-6356.

H

Hamidi, M., Ammari, H., Ghaffor, M., Benamrouche, N., Tali-Maamar, H., Tala-Khir, F., Younsi, M., Rahal, K. (2013) Émergence d'*Enterococcus faecium* résistant aux glycopeptides en Algérie: à propos d'un cas. *Ann Biol Clin* ; **71**(1), 104-6 doi:10.1684/abc.2012.0781.

Harbarth, S., Albrich, W., Godmann, D. A., Huebner, J. (2001). Control of multiply resistant cocci; do international comparisons help. *Lancet Infect* **1**(4);251-61.

Henning, K., Brown, A.E.(1995). Vancomycin resistant enterococci. *Infect. Urol* **8** (6): 185-187.

Hidron, A. I., Edwards, J. R., Patel, J., Horan, T. C., Sievert, D. M., Pollock, D. A. (2008). NHSN annual update antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-Associated infections: annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006_2007. *Infect Control Hosp Epidemiol* **29** (11), 996-1011.

Higashide, T., Takahashi, M., Mayumi, O., Sakurai, Y., Tamura, T., Sugiyama, K. (2005). Endophthalmitis caused by *Enterococcus mundtii*. *J Clin Microbiol* **43**(3), 1475-1476.

Horaud, T., LeBouguenec, C. (1989). Streptococcaceae : Genre *Enterococcus*.in Le Minor L, Veron M. *Bacteriol Med* **825**-28.

Horan, T. C., Gaynes, R. P., Martowe, W. J ., coll, M. (1992) CDC definitions of nosocomial surgical sites infections, 1992 : a modification of CDC definitions of surgical wound infections. *Infect Control Hosp Epidemiol* **13** : 606-8.

Hunt, CP. (1988). The emergence of enterococci as a cause of nosocomial infection. *Br J Biomed Sci* **55**, 149-156.

Huycke, M. M., Moore, D. R. (2002). In vivo production of hydroxyl radical by *Enterococcus faecalis* colonizing the intestinal tract using aromatic hydroxylation. *Rad Biol Med* **33**(6), 818-826.

J

Jensen, L. B., Frimodt-Moller, N., Aarestrup, F. M. (1999). Presence of erm gene classes in gram-positive bacteria of animal and human origin in Denmark. *FEMS Microbiol. Lett* **170**, 151–158.

Jett, B. D., Huycke, M. M., Gilmore, M. S. (1994). Virulence of enterococci. *Clin Microbiol* **7**, 462-478.

K

Kapoor, L., Randhaw, V. S., Deb, M. (2005). Antimicrobial resistance Of enterococcal blood isolates at a pediatric care hospital in India. *Japan J Infect* **58**(2), 101-103.

Klein, G. (2003). Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastro-intestinal tract. *Int J Food Microbiol* **88**(2-3), 123-31.

Kudo, M., Nomura, T., Yomoda, S., Tanimoto, K., Tomita, H. (2014). Nosocomial infection caused by vancomycin-susceptible multidrug-resistant *Enterococcus faecalis* over a long period in a university hospital in Japan. *Microbiol Immunol* **58**, 607-614.

L

Ladjouzi, R. (2013). Analyse des mécanismes de tolérance aux antibiotiques ciblant la paroi chez les entérocoques. Travail de diplôme en vue de l'obtention du diplôme doctorat, aspect moléculaire et cellulaire de la biologie, Ecole doctorale normande biologie Intégrative, Sante, Environnement, p. 225.

Lancefield, R. C. (1933). A serological differentiation of human and other groups of hemolytic streptococci. *J Exp Med* **57**, 571-595.

LeBlanc D. (2006) . *Enterococcus. Prokaryotes*, **4**, 175-204.

Lebreton, F., Depardieu, F., Bourdon, N., Fines-Guyon, M., Berger, P., Camiade, S., Leclercq, R., Courvalin, P., Cattoir, V. (2011). D-Ala-d-Ser VanN-type transferable vancomycin resistance in *Enterococcus faecium*. *Antimicrob Agents Ch* **55**, 4606–4612.

Leclercq, R., Courvalin, P., Bryskier, AJ., Butzler, JP., Neu HC, Tulkens PM (1993). Mechanisms of resistance to macrolides and functionally related antibiotics 125–141. *Ch, Pharma Clin*.

Leclercq, R., Courvalin, P. (1997). Resistance to glycopeptides in enterococci. *Clin Infect* **24**, 545-56.

Leclercq, R., Derlot, E., Duval, J., Courvalin, P.(1998) Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*. *N Engl J Med* **319**:157-61.

Lyytikäinen, O., Kanerva, M., Agthe, N., Möttönen, T., Ruutu, P. (2008). Healthcare-associated infections in Finnish acute care hospitals: a national prevalence survey. *J Hosp Infect* **69**, 288-294.

M

Megran, D. W. (1992). Enterococcal endocarditis. *Clin Infect* **15**, 63-71.

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. *Ther Conc J Path* **8**(26), 25-61.

Modi, G. B, Soni, S. T, Patel, K. J, Goswami, H. M., Vegad, M. M. (2012). Prevalence of vancomycin resistant enterococci in a tertiary care hospital, Western India. *Int J Microbiol Res* **4**(2), 182-185.

Montravers, P., Carbon, C. I. (1994). Les modèles expérimentaux permettent-ils de caractériser le rôle pathogène des entérocoques . *Med Mal Infect* **24** 152 -157.

Moreno, Sarantinopoulos, P., Tsakalidou, E., De Vuyst, L. (2006). The role and application of enterococci in food and health. *Int J Food Microbiol* **106**(1), 1-24.

Murray, B. E. (1990). The life and times of the *Enterococcus*. *Clin. Microbiol* **3**, 46-65.

Murray, B. E. (2000). résistant à la vancomycine infections à entérocoques. *N Engl J Med* **342** ; 710-721 [[PubMed](#)].

Mutnick, A. H, Biedenbach, D. J, Jones, R. N. (2003). Geographic variations and trends in antimicrobial resistance among *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997–2000). *Diagn Microbiol Infect* **46**, 63-68.

O

Ogier, J. C, Serror, P. (2008). Safety assessment of dairy microorganisms: the *Enterococcus* genus. *Int J Food Microbiol* **126**, 291–301.

P

Parvati, S., Applaraju, B. (2003) Isolation, characterization & antibiogram of enterococci isolated from clinical sample. *Indian J Pathol Microbiol* **46**(3), 5-13.

Patterson, J. E., Masecar, B. L., Zervos, M. J. (1988). Characterization and comparison of two penicillinase producing strains of *Streptococcus (Enterococcus) faecalis*. *Antimicrob Agents Chemother* **32**, 122-4.

Paulsen, I. T., Banerjee, L., Myers, G. S., Nelson, K. E., Seshadri, R. S., Read, T. D., Fouts, D. E., Eisen, J.A., Gill, S. R., Heidelberg, J. F., Tettelin, H., Dodson, R. J., Umayam, L., Brinkac, L., Beanan, M., Daugherty, S., DeBoy, R. T., Durkin, S., Kolonay, J., Madupu, R., Nelson, W., Vamathevan, J., Tran, B., Upton, J., Hansen, T., Shetty, J., Khouri, H., Utterback, T., Radune, D., Ketchum, K. A., Dougherty, B. A., Fraser, C. M. (2003). Role of mobile DNA in the evolution of vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis*. *Science* **299**, 2071-2074.

Portillo, A., Ruiz-Larrea, F., Zarazaga, M., Alonso, A., Martinez, J. L., Torres, C. (2000). Macrolide resistance genes in *Enterococcus* spp. *Antimicrob Agents Chemother* **44**, 967-71.

Preeti, S., Raman, M., Nirwan, P. S., Meeta, S., Dahiya, S. (2013). Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Enterococcus* species Isolated from Different Clinical Samples in a Tertiary Care Hospital of North India. *Natl J Med Res* **3**(4), 389-391.

R

Recommendation for preventing the spread of vancomycine resistance. (1995). Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. *Emerg Infect* **1**(2):66.

Réseau algérien de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques. (2010).
Alerte *Enterococcus faecium* Van A, [en ligne].<http://www.sante.dz/aarn/alerte.htm>).

Réseau algérien de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques. (2011).
Alerte *Enterococcus faecium* Van A, [en ligne].<http://www.sante.dz/aarn/alerte.htm>).

Rice, L.B. (2001).Emergence of vancomycin-resistant enterococci. *Emerg Infect* **7**:183-187.

Roberts, M. C., Sutcliffe, J., Courvalin, P., Jensen, L. B, Rood, J., Seppala, H. (1999).
Nomenclature for macrolide and macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance determinants. *Antimicrob Agents Ch* **43**, 2823-2830.

Ross, J. I., Eady, E. A., Cove, J. H., Cundliffe, W. J., Baumberg, S., Wootton, J. C. (1990). Inducible erythromycin resistance in staphylococci is encoded by a member of the ATP-binding transport supergene family. *Mol Microbiol* **4**, 1207-1214.

Rybkin, T., Mainardi, J. L., Sougakoff, W., Collatz, E., Gutmann, L. (1988). Penicillin-binding protein 5 sequence alterations in clinical isolates of *Enterococcus faecium* with different levels of β -lactam resistance. *J Infect* **178**, 159-63.

S

Sakka, V., Tsiodras, S., Galani, L., Antoniadou, A., Souli, M., Galani, I., Pantelaki, M., Sifakas, N., Zerva, L., Giamarellou D. (2008). Risk-factors and predictors of mortality in patients colonised with vancomycin-resistant enterococci. *Clin Microbiol Infect* **14**(1), 14-21.

Schleifer, K., 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 Bacteriol* **34**(1), 31-34.

Schmidt-Hieber, M., Blau, I. W., Schwartz, S., Uharek, L., Weist, K., ET., Eckmanns, T., Jonas, D., Ruden, H., Thiel, E., Brandt, C. (2007). Intensified strategies to control vancomycin-resistant enterococci in immunocompromised patients. *Int J Hematol* **86**(2), 158-62.

Schouten, M. A., Voss, A., Hoogkamp-Korstanje, A and the European VRE Study Group. (1999). Antimicrobial susceptibility patterns of enterococci causing infections in Europe. *Antimicrob Agents Ch* **43**(25), 42-6.

Shafiyabi, S., Mariraj, J., Sumathi, S., Shanmugam., Krishna, S. (2013). Emergence of vancomycin resistant enterococci in a tertiary care hospital in South India. *Int J Pharm Biomed Res* **4**(2), 111–113.

Singh, K. V., Malathum, K., Murray, B. E. (2001). Disruption of an *Enterococcus faecium* species-specific gene, a homologue of acquired macrolide resistance genes of staphylococci, is associated with an increase in macrolide susceptibility. *Antimicrob Agents Ch* **45**, 263-266.

Singh, K. V., Weinstock, G. M., Murray, B. E. (2002). An *Enterococcus faecalis* ABC homologue (Lsa) is required for the resistance of this species to clindamycin and quinupristin_dalfopristin. *Antimicrob Agents Ch* **46**(6), 45-50.

Sonal, S., Krishna, P. S., Malik, V. K, Mathur, M. D. (2003). Vancomycin resistance *Enterococcus* in nosocomial urinary tract infections. *Indian J Pathol Microbiol* **46**(2), 25-68.

Steven, G., Jana, M. S., Bertha, C. H., Nan, E. P., Facklam, R. R., Robert, C. C .(1992). Antimicrobial susceptibility patterns of common and unusual species of enterococci causing infections in the United States. *J Clin Microbiol* **30**(9), 2373-8.

Stiles, M. E., Holzapfel, W. H. (1997). Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int J Food Microbiol* **36**(1) 1-29.

T

Tait-Kamradt, A. J., Clancy, M., Cronan, F., Dib-Hajj, L., Wondrack, W., Yuan, F., Sutcliffe, J. (1997). *mefE* is necessary for the erythromycin-resistant M phenotype in *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Ch* **41**, 2251–2255.

Thiolet, J., Poujol, I., Vaux, S., Alleaume, S., Coignard, B. (2011) Le signalement des Infections nosocomiales : un outil pour la détection et le suivi des infections émergentes en établissements de santé en France. *Bull Epidemiol Hebd* **193-7**.

Taneja, N., Rani, P., Emmanuel, R., Sharma, M. (2004). Significance of vancomycin resistant enterococci from urinary specimens at a tertiary care centre in northern India. *J Med Res* **119**, 72–74.

Tannock, G. W., Cook, G. M. (2002). Enterococci as Members of the Intestinal Microflora of Humans, in *The Enterococci: pathogenesis, molecular biology, and antibiotic resistance*, Gilmore MS. *Editor, ASM Press DC* **101-132**.

Teixeira, L. M., Carvalho, M da G. S., Facklam R. R., Murray P. R., Baron E. J., Jorgensen JH., Landry ML., Pfaller M A., (2007). *Enterococcus*. In *Manual of clinical microbiology* 9th edition **1**, 430-54. *ASM Pres DC USA*.

Tolmasky, M., Bonomo, R. (2007). Aminoglycoside-modifying enzymes: characteristics, localization, and dissemination, in *Enzyme-Mediated Resistance to Antibiotics: Mechanisms, Dissemination, and Prospects for Inhibition*. *ASM Press* **35–52**.

Top, J., Willems, R., Bonten, M. (2008). Emergence of CC17 *Enterococcus faecium*: from commensal to hospital-adapted pathogen. *FEMS Immunol Med Microbiol* **52**, 297 – 308.

Tornero, E., Senneville, G., Euba, S., Petersdorf, D., Rodriguez-Pardo, B., Lakatos, M. C., Ferrari, M., Pilaes, A., Bahamonde, R., Trebse, N., Benito, L., Sorli, M. D., Toro, J. M., Baraiaetxaburu, A., Ramos, M., Riera, A., Jover, S., Palomino, J., Ariza, J., Soriano, A. (2014). Characteristics of prosthetic joint infections due to *Enterococcus sp.* And predictors of failure: a multi-national study. *Clin Microbiol infect* **20**, 1219–1224.

Trystram, D., Jarlier, V., Chardon, H., Brieu, N., Péan, Y., Costa, Y., Ploy, M. C., Varon, E., Jarlier, V., Maugat, S., E., Vaux, S. (2002-2014). Contribution de la France au réseau européen de surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques. *Réseau EARS-Net. France*.

U

Ubeda, C., Taur, Y., Jenq, R. R., Equinda, M. J., Son, T., Samstein, M., Vial, A., Socci, N. D., Vanden Brink, M. R., Kamboj, M., Pamer, E. G. (2010). Vancomycin-resistant *Enterococcus* domination of intestinal microbiota is enabled by antibiotic treatment in mice and precedes blood stream invasion in humans. *J Clin Invest* **120**(12), 4332-41.

Uttley, A. H., Collins, C. H., Naidoo, J., George, R. C. (1988). Vancomycin resistant enterococci [letter]. *Lancet* **1**, 57-8.

W

Wavare Sanjay, M., Ghorpade, M. V., Gajul Shivali, V., Sajjan Annapurna, G., Karigoudar Rashmi, M. (2015). A study of vancomycin resistant enterococci isolate from urinary tract infections. *Int J Phar* **5**, 337-339.

Werner, G., Coque, T. M., Hammerum, A. M., Hope, R., Hryniewicz, W., Johnson, A., Klare I., Kristinsson, K. G., Leclercq, R., Lster, C. H., Liflie, M., Novais, C., Olsson-Liljequist, B., Peixb, L. V., Sadowy, E., Simonsen, G., Top, J., Vuopio-Varkila, J., Willems, R. J., Witte, W., Woodford, N. (2008). Emergence and spread of vancomycin resistance among enterococci in Europe. *Euro Surveill Bull Eur Sur Mal Transm Eur Commun Bull* **13**(47), 37-39.

WeiJia, J., Gang, L., Wang, W. (2014). Prevalence and Antimicrobial Resistance of *Enterococcus* species: A Hospital-Based Study in China. *Int J Environ Res Public Health* **11**(3).

Willey Brucker, G. (1998). Infections nosocomiales et environnement hospitalier.

X

Xu, X., Lin, D., Yan, G., Ye, X., Wu, S., Guo, Y., Zhu, D., Hu, F., Zhang, Y., Wang F., Jacoby, G. A., Wang, M. (2010). vanM, a new glycopeptide resistance gene cluster found in *Enterococcus faecium*. *Antimicrob Agents Ch* **54**, 4643-4647.

Y

Yang, K. S., Fong, Y. T., Lee, H. Y., Kurup, A., Koh, T. H., Koh, D., Lim, M. K.(2007). Predictors of vancomycin_resistant enterococcus(VRE)carriage in the first major VRE outbreak in Singapore. *Ann Acad Med Sing* **36**(6) ,379-83.

Zouain, M.G., Araj,G. F.(2001). Antimicrobial resistance of Enterococci in Lebanon. *Inter J Antimicrob* **17** ;209-213.

Annexes

ANNEXE I

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

❖ Milieux de cultures

Gélose BEA

Extrait de viande	3g
Peptones	17g
Extrait de levure	5g
Citrate de sodium	1g
Citrate de fer	0.5g
Chlorure de sodium	5g
Esculine	1g
Bile de bœuf (désoxycholate)	10g
Azide de sodium	0.25g
Agar	13g
PH	7,3± 0,1

Gélose M17

Peptone universelle	5g
Peptone de farine de soja	5g
Extrait de levure	2.5g

Extrait de viande	5g
Acide ascorbique	0.5g
β-glycérophosphate de sodium	19g
Sulfate de magnésium	0.25g
PH	7,1 ± 0,2

Eau peptone tamponnée

Peptone	10g
Chlorure de sodium	5g
Phosphate disodique anhydre de potassium	3.5g
Déshydrogénophosphate de potassium	1.5g
pH	7,2 ± 0,2

Bouillon nutritif

Extrait de levure	2g
Extrait de viande	1g
Peptone	5g
NaCl	5g
pH	7,2 ± 0,2

Bouillon trypticase soja

Peptone papainique de soja	5g
----------------------------	----

Peptone tryptique de soja	15g
Glucose	2g
NaCl	5g
pH	7,3 ± 0,1

Gélose Mueller Hinton

Infusion de viande de bœuf	300g
Hydrolysat de caséine	17.5g
Amidon	1.5g
Agar	7,3 ± 0,1

Bouillon Rothe

Polypeptone	20g
Glucose	5g
Chlorure de sodium	5g
Phosphate monopotassique	2.7g
Phosphate dipotassique	2.7g
Azide de sodium	0.2g
pH	6.8 ± 0.2

❖ Produits chimiques

Fushine phénique

Fushine cristallisée	1g
Alcool éthylique	10ml
Phénon	5g
Eaudistillée	10ml

Violet de gentiane phénique

Violet de gentiane	1g
Phénol	11g
Ethanol	10ml
Eaudistillée	100ml

NaCl (0.9%)

Sodium	154mmol/l
Chlorure	154mmol
pH	4.5-7.0

H₂O₂ (10%)

Tellurite de potassium (4%)

Formule moléculaire : K₂O₃Te

ANNEXE II

Coloration de Gram

❖ Préparation de frottis

Prélever une goutte de la suspension bactérienne et la déposer au centre de la lame ;

Étaler avec la pipette sur la lame, de façon à obtenir un étalement mince ;

Sécher et fixer en portant la lame au –dessus de la flamme du Bec Bunsen

❖ Coloration

Déposer quelques gouttes de solution de violet de gentiane sur le frottis fixé, et laisser agir 1 min puis jeter l'excès ;

Déposer quelques gouttes de lugol, laisser agir quelques secondes ;

Décolorer à l'alcool en laissant laisser agir 5 à 10 secondes ;

Rincer à l'eau ;

Contre-colorer en déposant la fushine pendant 1 minute ;

Rincer à l'eau ;

Laisser sécher à l'air ;

Déposer une goutte de l'huile à émersion;

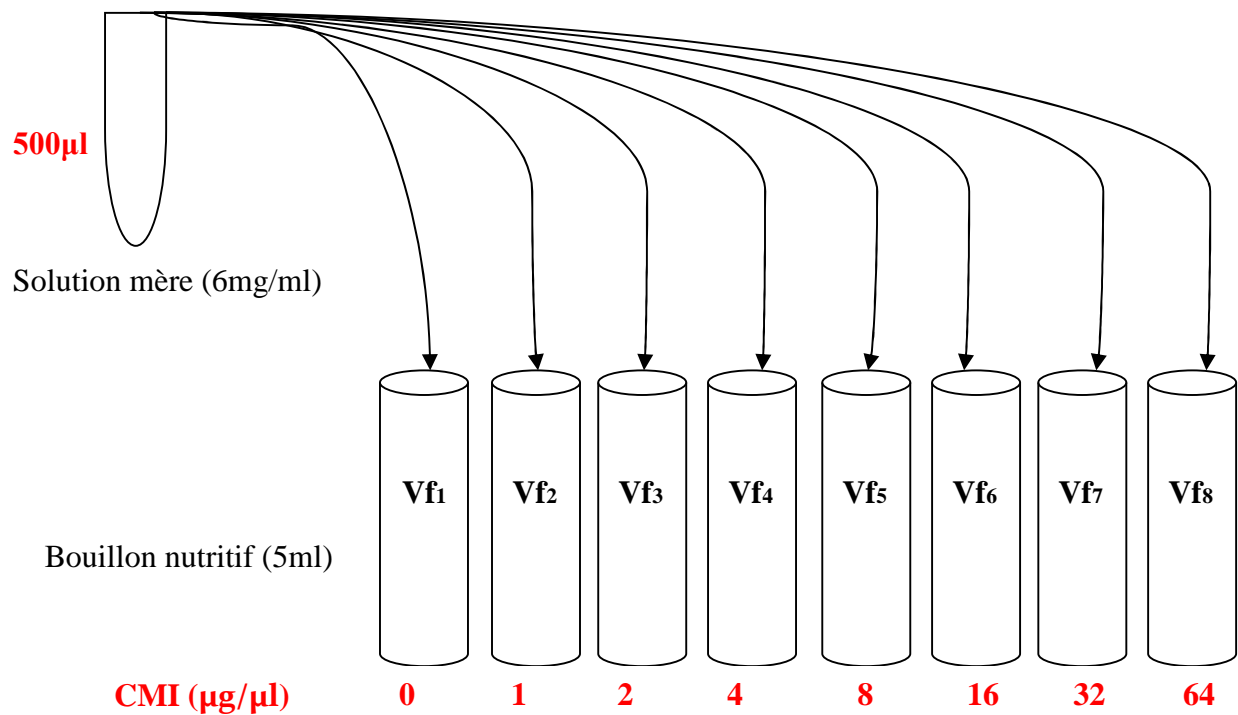
Observer au microscope optique ($G \times 100$), la forme, la disposition, et le Gram (Gram+ : couleur violette ; Gram- : couleur rose).

ANNEXE III

Préparation de la solution de vancomycine

Vancomycine pure : 6mg/ml \longrightarrow 6mg vancomycine + 1ml eau ultra pure (UP)

\longrightarrow 3mg vancomycine + 500 μ l UP

**Calcul de Vf2**

On a $C_i V_i = C_f V_f \longrightarrow C_{i2} V_{i2} = C_{f2} V_{f2}$

$\longrightarrow 1\mu\text{g}/\mu\text{l} \times 500\mu\text{l} = 6\mu\text{g}/\mu\text{l} \times V_{f2}$

$V_{f2} = 1\mu\text{g}/\mu\text{l} \times 500\mu\text{l} / 6000\mu\text{l}$

$V_{f2} = 0.833\mu\text{l}$

ANNEXE IV

Tableau IV: Identification des souches d'entérocoques isolées au niveau de l'hôpital Ben Merad El Meki d'Amizour

Souches	code	Isolement sur BEA	Gram	Catalase	Résistance à 60°C/30min	Croissance sur bouillon hyper salé	Réduction de tellurite de potassium
1	700	Culture positive, colonies grises avec halo noir	Coque à Gram positif, disposé en chaînettes	Catalase négative	Trouble	Trouble	Dépôt noir
2	702	+	+	-	+	+	+
3	716	+	+	-	+	+	Absence du dépôt noir
4	1	+	+	-	+	+	+
5	838	+	+	-	+	+	+
6	2	+	+	-	+	+	+
7	1062	+	+	-	+	+	+
8	1067	+	+	-	+	+	+
9	1068	+	+	-	+	+	+
10	1055	+	+	-	+	+	+
11	1099	+	+	-	+	+	+
12	225	+	+	-	+	+	-
13	1105	+	+	-	+	+	+
14	1193	+	+	-	+	+	+
15	1322	+	+	-	+	+	+
16	261	+	+	-	+	+	+
17	1412	+	+	-	+	+	-
18	3	+	+	-	+	+	-
19	4	+	+	-	+	+	-
20	1469	+	+	-	+	+	+
21	1480	+	+	-	+	+	-
22	1482	+	+	-	+	+	+
23	1494	+	+	-	+	+	+
24	5	+	+	-	+	+	+
25	286	+	+	-	+	+	+
26	1528	+	+	-	+	+	+
27	317	+	+	-	+	+	+
28	6	+	+	-	+	+	+
29	7	+	+	-	+	+	+
30	1982	+	+	-	+	+	+
31	8	+	+	-	+	+	+

32	1925	+	+	-	+	+	+
33	1856	+	+	-	+	+	+
34	9	+	+	-	+	+	+
35	2228	+	+	-	+	+	+
36	2214	+	+	-	+	+	+
37	2186	+	+	-	+	+	+
38	395	+	+	-	+	+	+
39	2232	+	+	-	+	+	+
40	2254	+	+	-	+	+	+
41	2263	+	+	-	+	+	+
42	2267	+	+	-	+	+	+
43	439	+	+	-	+	+	+
44	10	+	+	-	+	+	+
45	454	+	+	-	+	+	+
46	2261	+	+	-	+	+	+
47	2393	+	+	-	+	+	+
48	11	+	+	-	+	+	+
49	12	+	+	-	+	+	+
50	13	+	+	-	+	+	+
51	490	+	+	-	+	+	+
52	497	+	+	-	+	+	+
53	526	+	+	-	+	+	+
54	533	+	+	-	+	+	+
55	545	+	+	-	+	+	+
56	562	+	+	-	+	+	+
57	564	+	+	-	+	+	+
58	614	+	+	-	+	+	+
59	715	+	+	-	+	+	-
60	722	+	+	-	+	+	-
61	157	+	+	-	+	+	+
62	1293	+	+	-	+	+	+

Tableau V : Résistance aux aminosides de bas niveau chez les souches cliniques d'entérocoques

Code	Résistance aux aminosides de bas niveau	
	GEN	AK
700	ND	ND
702	ND	ND
716	ND	ND
1	ND	ND
838	ND	ND
2	17mm (R)	ND
1062	18mm (R)	ND
1067	16mm (R)	ND
1068	15mm (R)	ND
1055	16mm (R)	15mm (R)
1099	19mm (R)	ND
225	21mm (I)	ND

1105	19mm (R)	ND
1193	20mm (I)	7mm (R)
1322	18mm (R)	14mm (R)
261	19mm (R)	11mm (R)
1412	21mm (I)	13mm (R)
3	14mm (R)	22mm (I)
4	15mm (R)	13mm (R)
1469	15mm (R)	6mm (R)
1480	15mm (R)	11mm (R)
1482	15mm (R)	14mm (R)
1494	15mm (R)	12mm (R)
5	10mm (R)	11mm (R)
286	6mm (R)	6mm (R)
1528	13mm (R)	6mm (R)
317	15mm (R)	14mm (R)
6	15mm (R)	14mm (R)
7	16mm (R)	14mm (R)
1982	18mm (R)	14mm (R)
8	16mm (R)	14mm (R)
1925	6mm (R)	6mm (R)
1856	21mm (I)	21mm (I)
9	17mm (R)	15mm (R)
2228	14mm (R)	14mm (R)
2214	6mm (R)	8mm (R)
2186	16mm (R)	14mm (R)
395	20mm (I)	RH
2232	14mm (R)	13mm (R)
2254	12mm (R)	11mm (R)
2263	13mm (R)	12mm (R)
2267	14mm (R)	12mm (R)
439	17mm (R)	14mm (R)
10	17mm (R)	14mm (R)
454	18mm (R)	11mm (R)
2261	18mm (R)	14mm (R)
2393	7mm (R)	10mm (R)
11	6mm (R)	6mm (R)
12	6mm (R)	6mm (R)
13	18mm (R)	17mm (R)
490	19mm (R)	6mm (R)
497	15mm (R)	17mm (R)
526	ND	6mm (R)
533	ND	6mm (R)
545	13mm (R)	10mm (R)
562	ND	6mm (R)
564	14mm (R)	12mm (R)
614	17mm (R)	13mm (R)
715	ND	ND
722	ND	ND
157	ND	ND
1293	ND	ND

Tableau VI : Renseignements collectés au cours de l'étude.

Code	Date de prélèvement	Service	Sexe	Age	Type de prélèvement
700	01/02/2016	externe	femme	3ans	ECBU
702	01/02/2016	externe	femme	10ans	ECBU
716	01/02/2016	externe	femme	39ans	ECBU
1	03/02/2016	externe	femme	39ans	PV
838	07/02/2016	externe	femme	40ans	ECBU
2	10/02/2016	externe	femme	32ans	PV
1062	14/02/2016	externe	femme	31ans	ECBU
1067	14/02/2016	externe	femme	52ans	ECBU
1068	14/02/2016	externe	femme	60ans	ECBU
1055	14/02/2016	externe	femme	54ans	ECBU
1099	15/02/2016	externe	femme	35ans	ECBU
225	15/02/2016	médecine interne	homme	82ans	ECBU
1105	15/02/2016	externe	femme	05ans	ECBU
1193	22/02/2016	externe	femme	12ans	ECBU
1322	22/02/2016	externe	femme	34ans	ECBU
261*	23/02/2016	réanimation	femme	22ans	ECBU
1412	24/02/2016	externe	homme	9ans	ECBU
3	24/02/2016	externe	femme	29ans	PV
4	24/02/2016	externe	femme	35ans	PV
1469	28/02/2016	externe	femme	48ans	ECBU
1480	28/02/2016	externe	femme	36ans	ECBU
1482	28/02/2016	externe	femme	38ans	ECBU
1494	28/02/2016	externe	femme	56ans	ECBU
5	29/02/2016	externe	femme	76ans	ECBU
286*	29/02/2016	réanimation	femme	22ans	ECB de cathéter central
1528	29/02/2016	externe	femme	46ans	ECBU
317	03/03/2016	médecine interne	homme	80ans	PUS
6	09/03/2016	externe	femme	38ans	PV
7	11/03/2016	externe	femme	35ans	PV
1982	13/03/2016	externe	femme	34ans	ECBU
8	13/03/2016	externe	femme	30ans	PV
1925	15/03/2016	externe	femme	48ans	ECBU
1856	15/03/2016	externe	femme	50ans	ECBU
9	17/03/2016	externe	femme	39ans	ECBU
2228	20/03/2016	externe	femme	24ans	ECBU
2214	20/03/2016	externe	homme	48ans	ECBU
2186	21/03/2016	externe	homme	80ans	ECBU
395	21/03/2016	maternité	femme	25ans	ECBU
2232	21/03/2016	externe	femme	25ans	ECBU

2254	21/03/2016	externe	homme	29ans	ECBU
2263	22/03/2016	externe	femme	40ans	ECBU
2267	22/03/2016	externe	femme	25ans	ECBU
439	23/03/2016	médecine interne	homme	88ans	ECBU
10	23/03/2016	externe	femme	40ans	PV
454	24/03/2016	médecine interne	femme	68ans	ECBU
2261	24/03/2016	externe	homme	04ans	ECBU
2393	25/03/2016	externe	homme	16ans	ECBU
11	28/03/2016	pédiatrie	homme	20ans	ECBU
12	28/03/2016	médecine interne	femme	60ans	ECBU
13	28/03/2016	médecine interne	femme	84ans	ECBU
490	05/04/2016	médecine interne	homme	32ans	ECBU
497	07/04/2016	médecine interne	femme	23ans	ECBU
526	14/04/2016	pédiatrie	homme	1ans	ECBU
533	17/04/2016	chirurgie	homme	92ans	ECBU
545	20/04/2016	médecine interne	femme	29ans	hémoculture
562	22/04/2016	pédiatrie	homme	3ans	ECBU
564	24/04/2016	pédiatrie	homme	1ans	PUS d'ombilic
614	25/04/2016	chirurgie	femme	42ans	PUS
715	25/04/2016	externe	femme	56ans	ECBU
722	28/04/2016	externe	femme	38ans	ECBU
157	28/04/2016	maternité	femme	29ans	ECBU
1293	30/04/2016	externe	femme	29ans	ECBU

(* deux souches isolée chez le même patient)

Tableau VII : les germes associés aux entérocoques dans les infections

Code	Germes associés avec les entérocoques
715	<i>Escherichia coli</i>
722	<i>Staphylococcus aureus</i>
157	<i>Staphylococcus aureus</i>
2	SCN
1062	<i>Protus mirabilis</i>
1055	<i>Esherichia coli</i>
1105	SCN
1293	<i>Echerichia coli</i>
261	SCN
1469	SCN
1494	<i>Proteus mirabilis</i>
5	<i>Corynebacterium. Spp</i>
286	<i>Klebseila. Spp</i>
317	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
7	<i>Staphylococcus aureus</i>
9	SCN
2214	<i>Escherichia coli</i>
2232	SCN

2254	<i>Staphylococcus aureus</i>
439	<i>Staphylococcus aureus</i>
10	SCN
454	<i>Escherichia coli</i>
11	<i>Escherichia coli</i>
12	<i>Escherichia coli</i>
13	<i>Staphylococcus aureus</i>
490	SCN
526	<i>Escherichia coli</i>
562	<i>Escherichia coli</i>
614	<i>Staphylococcus aureus</i>

Tableau VIII : provenance et identification des souches d'environnement hospitalier

Souches	Provenance	Isolement sur BEA	Gram	Catalase	Résistance à 60°C/30min	Croissance sur bouillon hyper salé	Réduction du tellurite de potassium
1	Lit (médecine interne)	Culture positive, colonies grises avec halo noir	Couque à Gram positif, disposée en chaînettes	Catalase négative	Trouble	Trouble	Dépôt noir
2	Poignet de port (réanimation)	+	+	-	+	+	+
3	Lit (médecine interne)	+	+	-	+	+	+
4	Poignet de port (médecine interne)	+	+	-	+	+	+
5	Lit (médecine interne)	+	+	-	+	+	+

Tableau IX : Etude de la sensibilité aux antibiotiques des souches cliniques d'entérocoques

Code	AMP	IPM	VAN	RIF	TE	RP	SR
700	28mm(S)	28mm(S)	20mm(S)	17mm(I)	18mm(I)	ND	ND
702	21mm(S)	25mm(S)	21mm(S)	(ND)	ND	ND	ND

716	ND	ND	24mm(S)	22mm(S)	19mm(S)	ND	ND
1	26mm(S)	33mm(S)	25mm(S)	13mm(R)	6mm(R)	ND	ND
838	25mm(S)	31mm(S)	20mm(S)	18mm(I)	6mm(R)	ND	ND
2	23mm(S)	29mm(S)	23mm(S)	14mm(R)	6mm(R)	ND	ND
1062	17mm(I)	33mm(S)	22mm(S)	18mm(I)	14mm(R)	ND	ND
1067	14mm(R)	34mm(S)	22mm(S)	17mm(I)	12mm(R)	ND	ND
1068	15mm(R)	31mm(S)	21mm(S)	16mm(R)	11mm(R)	ND	ND
1055	16mm(R)	32mm(S)	20mm(S)	17mm(I)	6mm(R)	22mm(S)	ND
1099	17mm(I)	35mm(S)	23mm(S)	15mm(R)	8mm(R)	ND	ND
225	18mm(I)	34mm(S)	26mm(S)	20mm(S)	9mm(R)	ND	ND
1105	15mm(R)	32mm(S)	22mm(S)	15mm(R)	12mm(R)	ND	ND
1193	31mm(S)	28mm(S)	25mm(S)	18mm(I)	9mm(R)	30mm(S)	ND
1322	28mm(S)	35mm(S)	22mm(S)	16mm(R)	26mm(S)	26mm(S)	ND
261	30mm(S)	34mm(S)	25mm(S)	18mm(I)	10mm(R)	30mm(S)	ND
1412	26mm(S)	32mm(S)	26mm(S)	32mm(S)	7mm(R)	6mm(R)	ND
3	24mm(S)	28mm(S)	20mm(S)	21mm(S)	12mm(R)	6mm(R)	ND
4	22mm(S)	30mm(S)	23mm(S)	21mm(S)	6mm(R)	30mm(S)	6mm(R)
1469	24mm(S)	28mm(S)	17mm(S)	21mm(S)	7mm(R)	6mm(R)	6mm(R)
1480	22mm(S)	32mm(S)	19mm(S)	17mm(I)	12mm(R)	6mm(R)	6mm(R)
1482	23mm(S)	30mm(S)	19mm(S)	18mm(I)	13mm(R)	22mm(S)	18mm(R)
1494	22mm(S)	28mm(S)	18mm(S)	18mm(I)	ND	6mm(R)	6mm(R)
5	22mm(S)	30mm(S)	18mm(S)	17mm(I)	9mm(R)	6mm(R)	6mm(R)
286	6mm(R)	6mm(R)	22mm(S)	6mm(R)	27mm(S)	6mm(R)	21mm(I)
1528	23mm(S)	24mm(S)	20mm(S)	22mm(S)	6mm(R)	6mm(R)	6mm(R)
317	23mm(S)	26mm(S)	20mm(S)	23mm(S)	24mm(S)	21mm(I)	8mm(R)
6	24mm(S)	24mm(S)	20mm(S)	23mm(S)	24mm(S)	21mm(I)	6mm(R)
7	26mm(S)	30mm(S)	21mm(S)	25mm(S)	24mm(S)	30mm(S)	8mm(R)
1982	24mm(S)	31mm(S)	19mm(S)	18mm(I)	7mm(R)	25mm(S)	18mm(R)
8	22mm(S)	28mm(S)	19mm(S)	18mm(I)	11mm(R)	6mm(R)	6mm(R)
1925	22mm(S)	28mm(S)	18mm(S)	15mm(R)	6mm(R)	6mm(R)	6mm(R)
1856	23mm(S)	27mm(S)	24mm(S)	26mm(S)	ND	19mm(I)	18mm(R)
9	28mm(S)	28mm(S)	20mm(S)	20mm(S)	ND	27mm(S)	8mm(R)
2228	27mm(S)	29mm(S)	20mm(S)	19mm(I)	ND	22mm(S)	6mm(R)
2214	22mm(S)	31mm(S)	19mm(S)	19mm(I)	ND	6mm(R)	6mm(R)
2186	22mm(S)	32mm(S)	20mm(S)	21mm(S)	ND	24mm(S)	6mm(R)
395	27mm(S)	31mm(S)	21mm(S)	22mm(S)	ND	27mm(S)	6mm(R)
2232	19mm(S)	25mm(S)	19mm(S)	20mm(S)	ND	6mm(R)	18mm(R)
2254	22mm(S)	27mm(S)	18mm(S)	21mm(S)	ND	22mm(S)	21mm(I)
2263	20mm(S)	24mm(S)	21mm(S)	17mm(I)	ND	20mm(I)	18mm(S)
2267	18mm(S)	24mm(S)	19mm(S)	21mm(S)	ND	6mm(R)	6mm(R)
439	18mm(S)	24mm(S)	16mm(R)	12mm(R)	ND	6mm(R)	6mm(R)
10	25mm(S)	34mm(S)	20mm(S)	24mm(S)	ND	10mm(R)	8mm(R)
454	26mm(S)	33mm(S)	21mm(S)	24mm(S)	ND	6mm(R)	6mm(R)
2261	23mm(S)	30mm(S)	20mm(S)	22mm(S)	ND	6mm(R)	6mm(R)
2393	6mm(R)	6mm(R)	20mm(S)	15mm(R)	ND	7mm(R)	6mm(R)
11	17mm(I)	27mm(S)	17mm(S)	19mm(I)	ND	6mm(R)	6mm(R)
12	19mm(S)	26mm(S)	18mm(S)	18mm(I)	ND	6mm(R)	6mm(R)
13	6mm(R)	10mm(R)	20mm(S)	22mm(S)	ND	6mm(R)	6mm(R)
490	16mm(I)	31mm(S)	23mm(S)	20mm(S)	ND	6mm(R)	6mm(R)
497	26mm(S)	30mm(S)	17mm(S)	17mm(I)	ND	6mm(R)	6mm(R)

526	24mm(S)	ND	22mm(S)	19mm(I)	ND	23mm(S)	26mm(S)
533	28mm(S)	32mm(S)	21mm(S)	22mm(S)	ND	ND	6mm(R)
545	22mm(S)	22mm(S)	18mm(S)	17mm(I)	ND	20mm(I)	21mm(I)
562	30mm(S)	31mm(S)	20mm(S)	25mm(S)	ND	6mm(R)	6mm(R)
564	26mm(S)	28mm(S)	19mm(S)	21mm(S)	ND	22mm(S)	21mm(I)
614	22mm(S)	24mm(S)	18mm(S)	14mm(R)	ND	6mm(R)	6mm(R)
715	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
722	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
157	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1293	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

Tableau X : Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches d'environnement hospitalier

code	AMP	IPM	VAN	RIF	RP	TE
1	6mm (R)	6mm (R)	21mm(S)	14mm(R)	6mm(R)	6mm(R)
2	25mm(S)	24mm(S)	18mm(S)	16mm(R)	22mm(S)	9mm(R)
3	23mm(S)	27mm(S)	21mm(S)	13mm(R)	13mm(R)	23mm(S)
4	27mm(S)	34mm(S)	20mm(S)	20mm(S)	6mm(R)	6mm(R)
5	6mm (R)	6mm (R)	20mm(S)	9mm(R)	6mm(R)	24mm(S)

Résumé :

Notre étude a pour objectif la contribution à faire l'état des lieux des infections dues aux entérocoques dans la wilaya de Bejaia. La démarche expérimentale consiste à analyser différents types de prélèvements au niveau du laboratoire de microbiologie de l'hôpital d'Amizour, puis identifier les souches d'entérocoques par une série de tests classiques, et enfin les caractériser selon leur profil de résistance aux antibiotiques. Au cours de cette étude, 62 souches d'entérocoques ont été identifiées chez les deux sexes et chez les différentes catégories d'âge. Parmi ces souches, 97,5% et 66,66% ont été résistantes à la spiramycine et à la pristinamycine de la famille des MLS respectivement, 24,56% et 5,36% à l'ampicilline et l'imipénème de la famille des bêtalactamines respectivement, 80% et 56,14% à la tétracycline et la rifampicine respectivement. Concernant les glycopeptides une seule souche a présenté un diamètre réduit à la vancomycine. Dans l'environnement hospitalier, cinq souches d'entérocoques ont été isolées. Ces dernières présentent des taux de résistance de 80% à la rifampicine et à la pristinamycine, 60% à la tétracycline, 40% l'ampicilline et l'imipénème puis 100% de souches ont été sensibles à la vancomycine. Le rapport du portage anal des VRE chez les patients sous traitement de vancomycine était nul. Enfin, la résistance des souches d'entérocoques à la vancomycine reste rare dans nos hôpitaux, cependant, l'émergence des VRE et l'acquisition des gènes de résistance aux autres familles d'antibiotiques, probablement par le biais de souches multi résistantes de l'environnement hospitalier, doit être sous une extrême surveillance.

Mots-clés : Milieu hospitalier, entérocoques, résistance, antibiotiques.

Abstract

The present study aims to contribute to the inventory of infections due to enterococci in Bejaia. Therefore, different types of samples were analyzed at the microbiological laboratory of the hospital of Amizour; the strains were identified by a series of conventional tests, then characterized by their antibiotic resistant profile. During this study, 62 strains of enterococci were identified in both sexes and in different age groups. Among these strains, 97.5% and 66.66% were resistant to spiramycin and pristinamycin belonging to the family of MLS respectively, 24.56% and 5.36% ampicillin and imipenem belonging to the family of the beta-lactam respectively, 80 % and 56.14% were resistant to tetracyclin and rifampicin respectively. Concerning glycopeptides, only one strain was resistant to vancomycin. In the hospital environment, five strains were isolated. They present high level of resistance to rifampicin and pristinamycin (80%), to tetracycline (60%), to ampicillin and imipenem (40%). However, all strains were susceptible to vancomycin. Anal carrier rate of VRE in patients on vancomycin treatment was negative. The rate of resistance of enterococci to vancomycin was very low, but, the emergence of VRE and the acquisition of resistance genes to other families of antibiotics, probably by the drop of multi-resistant strains of the hospital environment, must be closely controlled.

Keywords: Hospital, enterococci, resistance, antibiotic.