

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique
Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine: Science de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Spécialité: Microbiologie Appliquée

**Etude du profil bactériologique des infections à
entérocoques et leur résistance aux antibiotiques au
CHU de Tizi-Ouzou (Unité Nedir Mohamed)**

Présenté par :

MERAZGA Raouya

SELMANI Kahina

TERHA Zohra

Soutenu le, devant le jury composé de:

Mme ASMANI K.L.

MCA

Présidente

Mr. BOUACEM K.

MCA

Promoteur

Mme CHERIFI L.

Médecin Maître-assistante en Microbiologie

Co-promotrice

Mme AFIF CHAOUICHE T. MCA

Examinatrice

Année universitaire : 2022/2023

Remerciements

Nous remercions Dieu tout puissant

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements et notre profonde gratitude à notre promoteur Monsieur Bouacem K., Maître de Conférence Classe A pour la qualité de son encadrement, pour sa patience et sa disponibilité durant toutes les étapes de l'accomplissement de ce mémoire.

Nos remerciements s'adressent à notre co-promotrice Dr. Cherifi L., de nous avoir encadrées durant toute la période de stage. Son sérieux, la qualité de son enseignement furent d'une aide précieuse dans l'élaboration de ce travail.

Nous remercions tout le personnel du service de Microbiologie du CHU de Tizi-Ouzou (Unité Nedir Mohamed). Leur aide fut précieuse afin d'acquérir les compétences nécessaires pour concrétiser ce projet de recherche.

Nos remerciements s'adressent aux membres du jury : madame Asmi L., Maître de Conférence Classe A, d'avoir accepté de présider le jury. À madame Afif Chaouche T., Maître de Conférence Classe A, d'avoir acceptée d'examiner ce modeste travail.

Nous remercions tous les enseignants de la Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques.

Enfin, nous tenons à remercier tous nos amis, familles et collègues pour leur soutien.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à

Mes très chers parents que j'aime beaucoup, pour leurs sacrifices et soutiens tout au long de ma vie et aux quels je ne rendrai jamais assez « Que Dieu les protège ».

Mon cher mari Hamza pour son soutien et sa patience et surtout à mes deux petites princesses RYM et ELINE « Que dieu me les garde ».

Mes chères sœurs Amel et Dalila ainsi que leurs maris Omar et Mhamed et surtout à leurs enfants Samy, Islem, Mereime et Abd rahmane.

Toute ma famille et ma belle-famille exceptionnellement ma belle-sœur Fadila et mon beau père Ali.

Mes collègues Malika, Naima, kahina, karima, sadjia, sabrina...

Mes chères mamounettes, Rauoya et Kahina et à toute la promotion de master II Microbiologie Appliquée.

Zohra

A mes chers parents,

Un énorme merci à ceux sans qui je ne serais pas là. **Maman, Papa** pour votre soutien tout au long de mes études, vos qualités humaines exceptionnelles, les valeurs que vous avez su m'enseigner. Merci pour tout ce que vous avez fait car je vous dois tout et surtout pour tout votre amour. Je vous aime !

A mon frère, mon unique, merci d'être toujours à mes côtés pour partager mes hauts et mes bas.

A mon mari, tu as su rester patient durant mes doutes, mes changements d'humeurs et mes colères. Tu as trouvé les mots pour me rassurer et me permettre de relativiser. Tu as su me soutenir, me motiver et être présent quand j'en ai eu besoin merci pour tout.

A ma petite princesse, ma raison de vivre, Cyrine, que dieu te protège.

A ma meilleur amie Nadia, merci pour ton aide et ta présence à mes côtés à chaque fois que j'en ai besoin.

A ^{Mme} Moualek zohra, ma directrice, je ne pourrai jamais assez vous remercier. Sans votre soutien, vos encouragements, je n'aurai pas pu trouver cette persévérance.

A D^r Beddek Arezki, merci d'avoir été toujours présent dans nos moments de stress et d'avoir su mener à terme ma grossesse dans de bonnes conditions.

Aux super mamans, les guerrières, kahina, zozo, on a réussi !!

Raouya

Je dédie ce modeste travail à :

Mes très chers parents qui ont toujours cru en moi

Ma petite famille : mon cher mari Toufik et mes adorables
princes Samy et Yassine

Mes frères, mes belles-sœurs et mes neveux

Ma belle famille

A tous mes amis

A mes chères mamounettes !

Kahina

Api: Appareillage et procédé d'identification

ATB : Antibiotiques

ARNr : Acide ribonucléique ribosomique

BEA : Bile, esculine, azide

BGT: Bouillons glucosé tamponné

CCI: Service de chirurgie infantile

CHU: Centre Hospitalo-Universitaire

CMI : La concentration minimale inhibitrice

Da : Dalton

ECBU: Examen cytbactériologique des urines

***E. faecalis* :** *Enterococcus faecalis*

ERV : Entérocoques résistants à la vancomycine

Fig : Figure

kDa : Kilodalton

OMS : Organisation mondiale de la Santé

ORL : Oto-Rhino-Laryngologie

SA : Substance d'agrégation

TS : Trypticase-Soja

***vanC* :** vancomycine C

Figure 1: Aspect d' <i>E. faecium</i> après coloration de Gram au microscope optique (x 100).....	3
Figure 2: Galerie Api20 Strep Identification d' <i>Enterococcus faecium</i>	5
Figure 3: Mécanisme d'adhésion chez <i>E. faecalis</i> avec différentes protéines de surface aux substrats hydrophobes.....	6
Figure 4: Étapes de la formation et de la dispersion d'un biofilm bactérien.....	7
Figure 5: Principales voies de transmission nosocomiales des entérocoques résistants à la vancomycine (ERV).....	9
Figure 6: Liaison entre la vancomycine et les différentes formes de dipeptide terminal des précurseurs pentapeptidiques.....	13
Figure 7: Dispositif VITEK.....	20
Figure 8: Colonies d' <i>Enterococcus</i> isolées à partir d'un pus sur milieu chromogène.....	21
Figure 9: <i>Enterococcus faecalis</i> après coloration de Gram.....	21
Figure 10: Répartition des souches selon les services.....	22
Figure 11: Répartition des cas prélèvements positifs selon la tranche d'âge.....	23
Figure 12: Répartition des prélèvements positifs selon le sexe.....	23
Figure 13: Répartition des souches selon les prélèvements.....	24
Figure 14: Répartition des souches isolées selon les espèces.....	24
Figure 15: Répartition de l'espèce <i>E. faecalis</i> selon les prélèvements.....	25
Figure 16: Répartition des espèces <i>E. faecium</i> selon les prélèvements.....	25
Figure 17: Répartition des espèces <i>E. faecalis</i> et <i>E. faecium</i> selon les prélèvements.....	26
Figure 18: AntibioGramme sur gélose Mueller-Hinton additionnée de sang.....	26

Tableau I : Caractères phénotypiques des entérocoques les plus fréquemment rencontrés en pathologie humaine (Denis, 2011).....	4
Tableau II: Mécanisme de résistance intrinsèque aux antibiotiques chez les entérocoques (Kiruthiga et <i>al.</i> ,2020).....	12
Tableau III : Profil de résistance (R+I) des souches isolées du 1 ^{er} janvier au 31 mai 2023 ...	27
Tableau IV: Profil de résistance d' <i>Enterococcus faecalis</i> du 1 ^{er} janvier au 31 mai 2023.....	28
Tableau V: Profil de résistance d' <i>E.faecalis</i> selon l'étude interne réalisée au niveau du CHU de Tizi-ouzou pour l'année 2022.....	29
Tableau VI: Profil de résistance (R+I) aux antibiotiques d' <i>Enterococcus faecium</i>	29
Tableau VII: Profil de résistance d' <i>E.faecium</i> selon l'étude interne réalisée au niveau du CHU de Tizi-Ouzou pour l'année 2022.....	30

Annexes

Tableau A: Matériel non biologique (Annexe 1).

Tableau B: Liste des antibiotiques testés (Annexe 6).

Sommaire

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Glossaire

Liste de figures.....

Liste des tableaux.....

Table des matières.....

Introduction.....1

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les entérocoques.....2

1- Historique découverte et taxonomie.....2

2- Habitat.....2

3- Caractéristiques bactériologiques.....3

3.1- Caractères morphologiques.....3

3.2- Caractères culturels.....3

3.3- Caractères biochimiques.....4

4- Facteur de virulence.....5

4.1- Facteurs liés à la membrane favorisant la colonisation (adhésines).....5

4.1.1- Substance d'agrégation (SA).....5

4.1.2- Protéines de surface extracellulaire (ESP).....6

4.1.3- Protéine de liaison au collagène – Ace.....6

4.2- Facteurs sécrétés.....7

4.2.1- Hémolysine β bactériocine.....7

4.2.2- Hyaluronidase.....7

4.2.3- Gélatinase.....7

4.2.4- Biofilm.....7

5- Les entérocoques en pathologie humaines.....8

Sommaire

5.1- Epidémiologie des infections à entérocoques.....	8
5.1.1- Infections à entérocoques dans le monde.....	8
5.1.2- En Algérie.....	8
5.2- Mode de transmission.....	9
Chapitre II : Résistance des entérocoques aux antibiotiques.....	10
1- Généralités sur les antibiotiques et problématique de la résistance bactériennes.....	10
1.1- Antibiotiques qui agissent par inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne	10
1.1.1- Glycolipides.....	10
1.1.2- β-lactamines.....	10
1.1.3- Fosfomycine.....	10
1.2- Antibiotiques qui agissent par altération de l'intégrité de la membrane cytoplasmique	10
1.3- Antibiotiques qui agissent par inhibition de la synthèse protéique.....	10
1.4- Antibiotiques qui agissent sur inhibition du métabolisme des folates.....	10
1.5- Antibiotiques qui agissent sur inhibition des acides nucléiques.....	11
2- Résistance bactériennes aux antibiotiques.....	11
2.1- Résistance naturelle.....	11
2.1.1- Résistance aux bêtalactamines.....	11
2.1.2- Résistance aux glycopeptides.....	11
2.2- Résistances acquise.....	13

Matériel et méthodes

1-Présentation de l'étude	15
1.1-Objectifs	15
1.2- Critères d'inclusion.....	15
1.3- Critères d'exclusion.....	15
2- Matériel.....	15
3- Méthodes.....	15

Sommaire

3.1- Prélèvement.....	15
3.1.1- Fiche de renseignement.....	16
3.1.2- Acheminement et précautions lors de la manipulation du prélèvement.....	16
3.2- Méthodes manuelles.....	16
3.2.1- Mise en culture et examen macroscopique.....	16
3.2.2- Examen microscopique.....	17
3.2.3- Tests biochimiques.....	17
3.2.4- Tests de sensibilité aux antibiotiques.....	18
3.3- Méthodes automatisées.....	19
3.3.1- Dispositif VITEK	19
3.3.2- Antibiogramme par le dispositif Vitek®.....	20

Résultats

1-Résultats d'isolement et d'identifications des entérocoques	21
1.1-Aspect des colonies.....	21
1.1- Coloration de Gram.....	21
1.3- Tests biochimiques.....	22
2- Résultats de l'étude épidémiologique.....	22
2.1- Répartition des souches selon la provenance des prélèvements.....	22
2.2- Répartition des souches en fonction de l'âge.....	23
2.3- Répartition des souches selon le sexe.....	23
2.4- Répartition des souches selon les prélèvements.....	24
2.5- Répartition des souches isolées selon les espèces.....	24
2.6- Répartition des espèces <i>E. faecalis</i> et <i>E. faecium</i> selon les prélèvements.....	25
3-Etude de l'antibiorésistance.....	26

Sommaire

Discussion

I. Etude de la répartition des souches.....	31
II. Profil de résistance aux antibiotiques.....	32
1- Les macrolides	32
2- Les fluoroquinolones.....	32
3- Les Bétalactamines	32
4-Les glycopeptides.....	33
Recommandations.....	34
Conclusion.....	35
Références bibliographiques.....	36
Annexes	
Résumé/ Abstract	

Introduction

L'antibiorésistance bactérienne est un problème mondial qui suscite de vives inquiétudes. Parmi les bactéries émergentes, on trouve les entérocoques. Ils font partie de la flore commensale du tractus gastro-intestinal de l'homme et des animaux (**Hayes et al., 2003**), et ne sont pas connus pour être particulièrement pathogènes. Cependant, leur rôle dans les infections opportunistes et nosocomiales a considérablement augmenté ces dernières années. Les deux principales espèces responsables d'infections chez l'homme sont *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* (**Kuhn et al., 2005**).

La plasticité génétique (transfert d'éléments génétiques) de ces bactéries leur permet, d'une part de s'adapter à de nombreux écosystèmes et, d'autre part, d'être vecteurs d'antibiorésistance et de virulence bactérienne (**Aguilar-Galvez, 2012**).

Le traitement des infections causées par les entérocoques est problématique en raison de leur sensibilité réduite intrinsèque à plusieurs antibiotiques fréquemment utilisés tels que la clindamycine, les céphalosporines et le triméthoprim/sulfaméthoxazole. De plus, une résistance acquise par transfert latéral de gènes (β -lactamines, macrolides et glycopeptides) avec l'émergence ultérieure de multirésistants de haut niveau de résistance aux aminoglycosides et aux glycopeptides (ERG) dont la vancomycine (ERV), rendent le traitement plus difficile (**Mohanty et Behera, 2022**).

La plus grande menace que présentent les entérocoques résistants aux glycopeptides est sans doute leur capacité à transférer des gènes de résistance à des bactéries Gram positif plus pathogènes comme *Staphylococcus aureus* (**Yousfi, 2020**).

En Algérie, les infections à entérocoques ne cessent de gagner du terrain, entraînant chaque jour une morbidité et une mortalité exponentielles. Elles sont le résultat de plusieurs facteurs, telle la pression de sélection exercée par les antibiotiques, un dysfonctionnement des procédures thérapeutiques et un déséquilibre de l'hygiène hospitalière. La surveillance devient plus que jamais indispensable (**Rahmoun, 2021**).

Le but de cette étude a été d'évaluer le niveau et le profil de résistance des espèces d'*Enterococcus* isolées à l'hôpital universitaire de Tizi-Ouzou, en détectant la présence éventuelle résistances aux glycopeptides. Le choix de ce modèle d'étude est conforté par le fait qu'actuellement, la prévention des maladies nosocomiales et la résistance aux antibiotiques deviennent des problèmes majeurs de santé publique.

Le principal objectif de ce travail est d'étudier la répartition des souches d'entérocoques isolées selon les différents services du CHU Nedir Mohammed de Tizi-Ouzou, le sexe, l'âge le type de prélèvement ainsi que le profil de résistance aux antibiotiques en particulier les Glycopeptides.

Dans ce travail on s'intéresse aussi à la répartition des espèces *E. faecalis* et *E. faecium* au sein des prélèvements et d'évaluer leur profil de résistance aux antibiotiques. Ce dernier nous permettra de rechercher d'éventuelles souches émergentes résistantes aux Glycopeptides.

La synthèse bibliographique présentée dans ce manuscrit est divisée en trois parties : la première résume les connaissances actuelles sur le genre *Enterococcus*, son environnement, son pouvoir pathogène et ses facteurs de virulence. La seconde partie se veut être sur les antibiotiques et l'émergence des résistances aux antibiotiques. Dans la dernière partie sont décrites les résistances aux antibiotiques rencontrées chez les entérocoques.

Synthèse bibliographique

I Généralités sur les entérocoques

1-Historique, découverte et taxonomie

Initialement décrits par Thiercelin et classés comme des streptocoques fécaux en 1906 (*Streptococcus faecalis*) et 1919 (*Streptococcus faecium*), il a fallu attendre 1984 et des expériences d'hybridation ADN-ADN ainsi que l'analyse des séquences de l'ARNr 16S pour montrer que les espèces *S. faecium* et *S. faecalis* étaient suffisamment distinctes des autres streptocoques pour justifier la création du genre *Enterococcus*. (Schleifer *et al.*, 1984).

La phylogénie de ce genre ne cesse d'évoluer du fait de l'avènement de nouvelles technologies permettant une évolution quasi-constante de la taxonomie. En effet, initialement composé des deux espèces précédemment citées, le genre *Enterococcus* comptait 37 espèces en 2011, 48 espèces en 2013 et 55 espèces en 2017 (Aguilar-Galvez, 2012).

Le nom « Entérocoque » a été, pour la première fois, utilisé en 1899 par Thiercelin. Ce nom a été proposé pour préciser l'origine intestinale d'un nouveau diplocoque à Gram positif. Les entérocoques ont subi par la suite de considérables changements dans leur taxonomie. Le genre *Enterococcus* est placé dans la famille des *Enterococcaceae*.

Classification (Schleifer *et al.*, 1984)

Règne	<i>Bacteria</i>
Division	<i>Firmicutes</i>
Classe	<i>Bacilli</i>
Ordre	<i>Lactobacillales</i>
Famille	<i>Enterococcaceae</i>
Genre	<i>Enterococcus</i>

2- Habitat

Les entérocoques sont des bactéries ubiquistes présentes dans différentes niches écologiques telles que l'intestin de l'homme et des animaux dont les reptiles, les oiseaux et même les insectes. On les retrouve également dans le milieu extérieur (Plantes, sols, eaux...) (Mundt *et al.*, 1962), (Deibel *et al.*, 1963), (Flahaut *et al.*, 1997), (Gilmore *et al.*, 2013).

Chez l'homme, les entérocoques sont des membres minoritaires de la communauté bactérienne du tractus gastro-intestinal. Les analyses moléculaires ont démontré que ces bactéries ne formaient qu'environ 1% de la microflore intestinale chez un adulte (Sghir *et al.*, 2000). De nombreuses études ont établi qu'*E. faecalis* est l'espèce la plus communément retrouvée parmi les entérocoques (Noble *et al.*, 1978 ; Benno *et al.*, 1986), suivie par l'espèce *E. faecium*. On retrouve généralement de 10^5 à 10^7 et 10^4 à 10^5

E. faecalis et *E. faecium*, respectivement, par gramme de fèces humaines (Franz et al., 1999).

Les entérocoques peuvent aussi se retrouver dans d'autres sites corporels tels que la cavité buccale (La gorge) et le tractus génito-urinaire humain (Le vagin) (Devriese et al., 2006; Schloissnig et al., 2016).

3-Caractéristiques bactériologiques

3.1-Caractères morphologiques

Les entérocoques sont des cocci à Gram positif immobiles (sauf *E. casseliflavus* et *E. gallinarum* qui sont mobiles à 30°C), anaérobies facultatifs aérotolérants, catalase négative, non capsulés, de 0,6 à 1µm de diamètre en moyenne, disposés en paires ou en courtes chaînettes (fig. 1) (Gillespie et Hawkey, 2006).

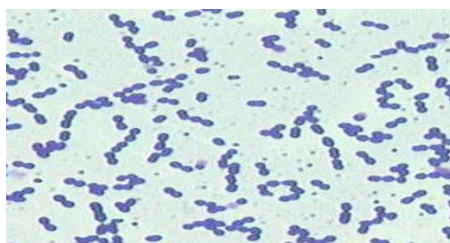


Figure 1: Aspect d'*E. faecium* après coloration de Gram (Gillespie et Hawkey, 2006).

3.2- Caractères cultureux

Les bactéries du genre *Enterococcus* sont peu exigeantes en facteurs de croissance et peuvent donc se multiplier aisément sur les géloses ordinaires Trypticase-Soja (TS) additionnée de sang. Mésophiles, elles se développent entre de 10 à 45 °C, avec une température optimale de 35°C. Ils survivent à un traitement de 60 °C pendant 30 min ce qui explique leur persistance dans l'environnement (Aguilar-Galvez, 2012).

La croissance peut se faire sous toutes les conditions respiratoires (anaérobie, aérobie et aérobie avec adjonction de 5% de CO₂ et à un pH optimal de 7,2 à 7,4 (Vancanneyt et al., 2004). Les colonies sont assez larges (0,5 à 1,5mm), légèrement bombées, blanches ou grises.

La majorité des souches sont non hémolytiques; toutefois, après 48 à 72 heures d'incubation, on note parfois une faible hémolyse α. *E. faecalis* et *E. durans* peuvent occasionnellement produire une β-hémolyse faible (Denis, 2011).

Certains milieux sélectifs peuvent être utilisés pour sélectionner les entérocoques à partir de prélèvements polymicrobiens :

Milieu BEA (bile, esculine, azide), les entérocoques apparaissent de couleur noire du fait de l'hydrolyse de l'esculine, tandis que les bactéries à Gram négatif sont inhibées par

l'azide (Denis, 2011).

Milieu chromogène : utilisés dans le diagnostic des infections urinaires, exemple du milieu gélose ChromID™ VRE (bioMérieux). Il contient, à partir d'une gélose de base, des mélanges chromogènes permettant la détection des enzymes produites par les bactéries : alpha-glucosidase, enzyme qui est à l'origine de la formation des colonies bleu-vertes d'*E. faecalis* ou d'une β -galactosidase avec formation des colonies violettes d'*E. faecium* (Denis, 2011; Facklam, 1972).

3.3- Caractères biochimique

La plupart des espèces d'entérocoques possèdent l'antigène de groupe D de Lancefield et, comme les streptocoques du groupe D, ils poussent en présence de bile à 40 % en hydrolysant l'esculine, ils sont résistants à la Bacitracine et à l'Optochine. En revanche, ils s'en distinguent par une croissance en milieu hostile, à 10 et 45 °C, ainsi qu'en milieu à NaCl à 6,5 %, et par une hydrolyse du L-pyrrolidonyl- β -naphthylamide (Denis, 2011). Une identification permettant de préciser l'espèce repose sur l'étude de différents caractères phénotypiques (tab. I).

Tableau I: Caractères phénotypiques des entérocoques les plus fréquemment rencontrés en pathologie humaine (Denis, 2011).

	<i>E. avium</i>	<i>E. casseliflavus</i>	<i>E. durans</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. gallinarum</i>	<i>E. hirae</i>	<i>E. mundtii</i>	<i>E. raffinosus</i>
mobilité	-	+	-	-	-	+	-	-	-
Pigmentation jaune	-	+	-	-	-	-	-	+	-
Résistance au tellurite de potassium	-	-	-	+	-	-	V	-	-
Production d'acétoïne	V	V	+	+	+	V	+	+	V
Hydrolyse de l'arginine	-	V	+	+	+	+	+	+	-
Hydrolyse du pyruvate	+	V	-	+	-	-	-	-	+
Fermentation de l'arabinose	+	+	+	-	+	+	-	+	+
Fermentation du lactose	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Fermentation du mannitol	+	+	+	+	+	+	-	+	+
Fermentation du méthyl-α-D-glucopyranoside	V	+	-	-	-	+	-	-	V
Fermentation du raffinose	-	+	V	-	V	+	+	+	+
Fermentation du saccharose	V	+	+	+	+	+	+	+	+
Fermentation du sorbitol	+	V	-	+	-	-	-	V	+
Fermentation du sorbose	+	-	-	-	-	-	-	-	+

V : variable

Les *Enterococcus* sont homofermentaires. Ils produisent essentiellement de l'acide

lactique et en quantité moindre, de l'acétate, du formiate et de l'éthanol (Aguilar-Galvez, 2012). En plus des caractères précédents, il est, parfois, nécessaire de recourir à des galeries biochimiques plus complètes :

- **Manuelle:** API 20 Strep ® (bioMérieux) (Denis, 2011) ; La première partie teste des enzymes et la production de butan-diol (fig.2)
- 2), la deuxième partie l'utilisation de différents glucides (Carvalho et al, 2004).
- **Automatisé:** système Vitek 2 avec les cartes Vitek 2 GP ® (bioMérieux) (Denis, 2011).



Figure 2: Galerie Api20 Strep Identification d'*Enterococcus faecium*, D'après Biomérieux France (Carvalho et al., 2004).

4-Facteurs de virulence

Ces facteurs ont pour rôle de permettre l'adhérence aux cellules hôtes et à la matrice extracellulaire, faciliter l'invasion des tissus, moduler la réponse immunitaire et inflammatoire et causer des dommages par l'intermédiaire de toxines.

Les facteurs de virulence des entérocoques sont sujets à davantage d'études étant donné leur présence de plus en plus inquiétante lors d'infections nosocomiales et à leur résistance accrue aux antibiotiques.

Chez l'homme, Plus de 90% des infections à entérocoques sont causées par *Enterococcus faecalis*, suivi par *Enterococcus faecium* (Kayaoglu et Ørstavik, 2004).

Les facteurs de virulence sont représentés par ceux liés à la membrane et ceux sécrétés par la bactérie.

4.1-Facteurs liés à la membrane favorisant la colonisation (adhésines)

4.1.1-Substance d'agrégation (SA)

C'est une adhésine de nature protéique : glycoprotéine codée par le gène *asal* porté par de grands plasmides conjugatifs. La substance d'agrégation (SA) est une glycoprotéine codée par un gène plasmidique régulé par des phéromones. Ces dernières favorisent le lien à des récepteurs de la surface des eucaryotes (Aguilar-Galvez, 2012). De plus, cette substance d'agrégation permet ainsi la formation d'agrégats cellulaires améliorant le transfert

plasmidique qui se fait à haute fréquence par conjugaison (**Wierzchowska et al., 2017**).

L'adhérence des bactéries aux tissus de l'hôte étant une étape cruciale dans le processus d'infection (**fig. 3**), la présence de SA dans les souches peut conduire à l'accroissement de la capacité de colonisation. De plus, elle joue un rôle dans la propagation au sein d'une espèce de plasmides, sur lesquels d'autres les facteurs de virulence des entérocoques sont codés, comme la cytolysine et les déterminants de la résistance aux antibiotiques (**Wierzchowska et al., 2017**). Une étude suggère que la combinaison d'hémolysine et de la substance d'agrégation entraîne une mortalité accrue dans l'endocardite due à *E. faecalis* (**Chow et al., 1993**).

4.1.2-Protéines de surface extracellulaire (ESP)

Associée à la paroi bactérienne, avec un poids moléculaire de environ 200 kDa c'est la plus grande protéine d'entérocoque identifiée. Des études de la protéine Esp ont confirmé son implication dans l'échappement immunitaire (**Fisher et Phillips, 2009**) et sa participation à la formation du biofilm qui peut jouer un rôle important dans l'échange de matériel génétique entre les cellules et augmenter leur résistance aux antibiotiques (**Wierzchowska et al., 2017**).

La fréquence du gène codant pour Esp est plus élevée parmi les isolats cliniques que parmi les isolats commensaux (**Kayaoglu et Ørstavik, 2004**).

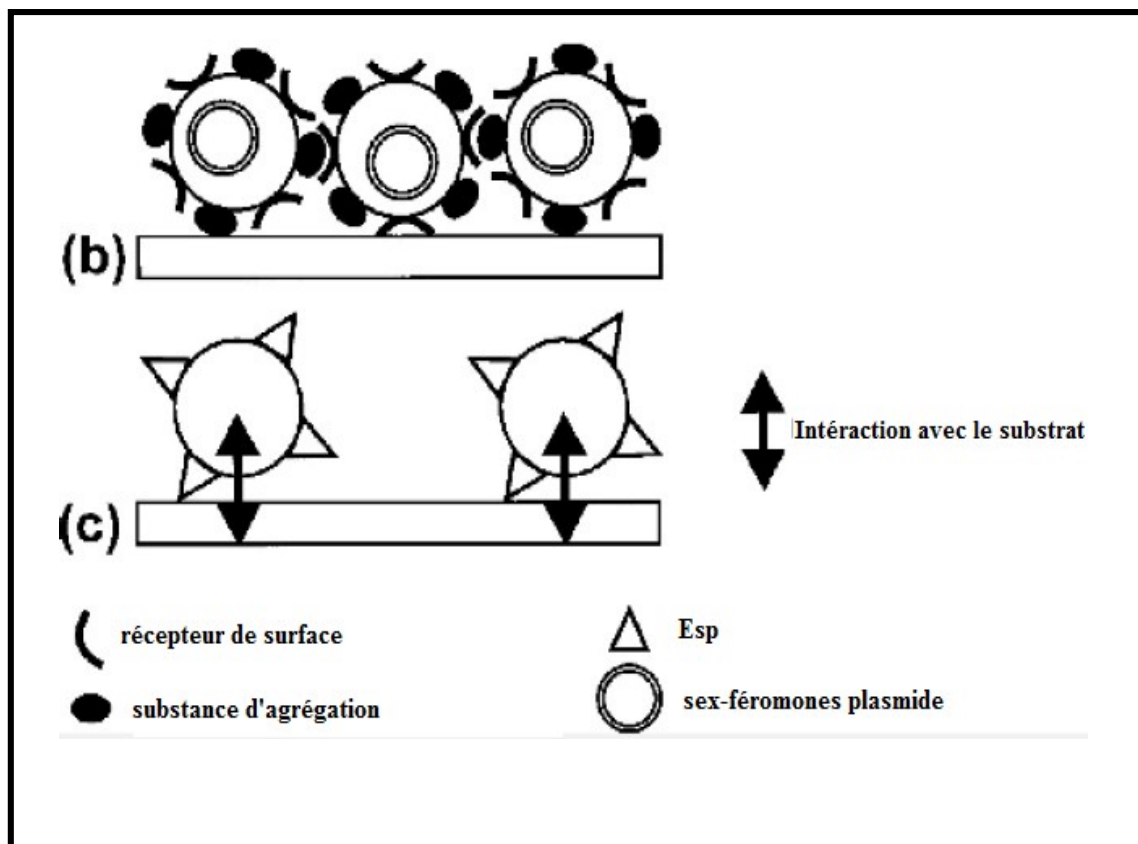


Figure 3: Mécanisme d'adhésion chez *E. faecalis* avec différentes protéines de surface aux substrats hydrophobes (**Eaton et Gasson, 2001**).

4.1.3-Protéine de liaison au collagène – Ace : (facteur de colonisation accessoire)

C'est une protéine de surface ayant des propriétés adhésives, avec un poids moléculaire d'environ 74 kDa (Wierzchowska et al., 2017).

4.2-Facteurs sécrétés

4.2.1-Hémolysine β bactériocine

C'est un complexe cytolytique protéique. Il provoque une lyse cellulaire : érythrocytes humains, de lapin ou de cheval, et de nombreuses bactéries à Gram positif (Effet bactériocine) (Horaud, 1989), (Jettet et al., 1994), (Francois et al., 1989). L'expression de l'hémolysine ou de la cytolysine produite par *E. faecalis* var. *zymogenes* s'est avérée être régulée par le mécanisme du quorum sensing (Giridhara et al., 2009), elle est codée par 5 gènes intégrés dans des plasmides ou dans le chromosome bactérien.

La production des cytolysines semble être un facteur de risque important lié aux entérocoques pathogènes, ce mécanisme de lyse étant une stratégie bactérienne pour contourner les réactions immunitaires chez l'hôte. La fréquence de mortalité causée par une infection à entérocoques β -hémolytiques est cinq fois supérieure à celle observée par une infection à entérocoques non β -hémolytiques (Huycke et al., 1991).

4.2.2-Hyaluronidase

C'est une enzyme codée par le gène *hyl* (chromosomique) qui dégrade l'acide hyaluronique, constituant majeur de la matrice extracellulaire des cellules animales (Kayse, 2003).

4.2.3-Gélatinase

C'est l'un des facteurs de virulence largement étudié chez *E. faecalis*: il s'agit d'une Zinc-métalloprotéase, capable d'hydrolyser la β -insuline, la gélatine, le collagène, la caséine, l'hémoglobine et d'autres peptides biologiquement actifs. La gélatinase contribue au processus de formation de biofilm, ce qui peut accroître la capacité des entérocoques à coloniser les tissus et à persister dans les sites d'infection (Del Papa, 2007).

4.3-Biofilm

La capacité des entérocoques à se lier à divers biomatériaux, tels que les endoprothèses urétrales et biliaires et les cathéters intravasculaires a été associée avec leur aptitude à produire des biofilms (Mohamed et Huang, 2007).

Le biofilm permet de coloniser des surfaces, de se protéger de l'action des substances antimicrobiennes, de médier l'adhésion et l'invasion aux cellules hôtes (fig.4).

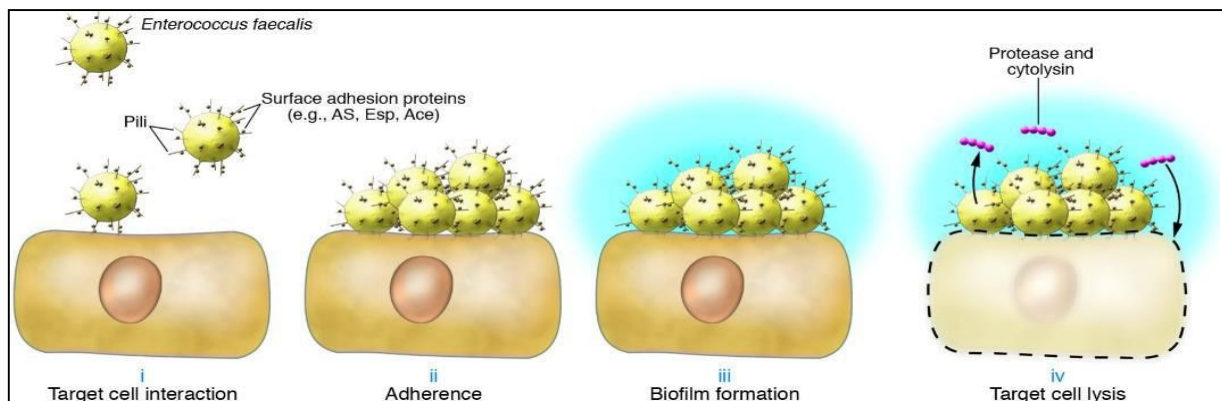


Figure 4: Étapes de la formation et de la dispersion d'un biofilm bactérien (Del Papa, 2007).

5-Entérocoques en pathologie humaine

Les entérocoques étaient jusqu'à récemment considérés comme des commensaux inoffensifs, en particulier par rapport à d'autres pathogènes à Gram positif plus virulents. Cependant, il est de plus en plus évident que ces bactéries possèdent fréquemment plusieurs traits spécifiques qui leur permettent de survivre dans l'environnement hospitalier, de coloniser les patients et de provoquer des infections nosocomiales (Sava, 2010).

Les infections à entérocoques peuvent atteindre divers sites, notamment intra-abdominaux (cholécystites, péritonites en association avec les entérobactéries et anaérobies), les voies urinaires, les plaies chirurgicales ou les valves cardiaques (endocardites) et sont aussi responsables d'infections sur matériel (cathéters vasculaires ou biliaires, sondes urinaires, prothèses ostéo-articulaires ou valvulaires) (Magill *et al.*, 2014; Jones *et al.*, 1997).

Les infections à entérocoques en pathologie humaine sont principalement dues à deux espèces, *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium*, qui représentent 95% des isolats cliniques de ce genre bactérien (Arias et Murray 2012; Jones *et al.*, 1997). D'autres espèces mineures peuvent causer des infections chez l'homme comme *E. avium*, *E. gallinarum*, *E. casseliflavus*, *E. durans*, *E. hirae* ou *E. raffinosus* (Jolivet *et al.*, 2016; Gordon *et al.*, 1992).

5.1-Epidémiologie des infections à entérocoques

Du fait de leur tolérance vis-à-vis d'un large éventail de conditions physiques et chimiques, les entérocoques sont extrêmement répandus dans l'environnement. On peut ainsi isoler ces bactéries dans l'eau (douce ou salée), dans le sol, les plantes, le tube digestif et les selles de la plupart des animaux, ainsi que de l'homme. En outre, il est possible de les trouver aussi dans l'environnement hospitalier (Leclercq, 1997; Moellering, 1992).

5.1.1-Infections à entérocoques dans le monde

L'augmentation croissante des infections nosocomiales à entérocoques aux Etats-Unis se répartie en 2 périodes distinctes :

- Dès les années 1970-1980 et l'augmentation de l'utilisation des céphalosporines de 3^{ème} génération, antibiotiques inactifs sur ces germes, où 95% des isolats d'entérocoques étaient des souches de *E. faecalis*.
- Le début des années 90, la deuxième vague d'infections avec cette fois préférentiellement des isolats de *E. faecium*. Cette augmentation des isolats de *E. faecium* est corrélée avec l'utilisation massive de la vancomycine et des antibiotiques à large spectre, le plus souvent inactives sur ces bactéries (**Arias et Murray, 2012**).

Cette problématique localisée aux Etats-Unis dans les années 1990, semble désormais s'étendre au niveau mondial : Par exemple, aux Pays-Bas, le nombre moyen d'infections à entérocoques résistantes à l'ampicilline par hôpital sont passées d'environ 10 infections en 1999 à ~50 en 2009. En 2007, la résistance à la vancomycine chez les isolats cliniques d'entérocoques en Europe était > 30 % dans des pays comme la Grèce et l'Irlande (**Arias et Murray, 2012**).

5.1.2-En Algérie

En 2006, émergence d'un premier cas d'entérocoque résistant à la vancomycine (ERV), il s'agit d'une souche d'*E. faecalis* isolée à partir d'un ECBU appartenant à un jeune de 24 ans ayant subi plusieurs interventions chirurgicales effectuées dans des hôpitaux français et a toujours reçu un traitement antibiotique préventif (**Aggounne et al., 2008**).

5.2-Modes de transmission

La plupart des infections à entérocoque sont d'origine endogène, à partir de la flore digestive des patients, que ce soit directement par perforation digestive, ou par mécanisme ascendant lors des infections urinaires (**Chauffrey, 2012**) ou d'origine exogène: Que cela soit la flore transitoire ou résidente du personnel soignant, visiteurs, l'environnement, les dispositifs médicaux, locaux, les sources de pathogènes sont multiples (**fig.5**). La transmission peut se faire soit par voie manuportée (par contact direct) ou transmise par l'environnement, objets ou dispositifs médicaux (par contact indirect) (**Horan et al., 2008**).

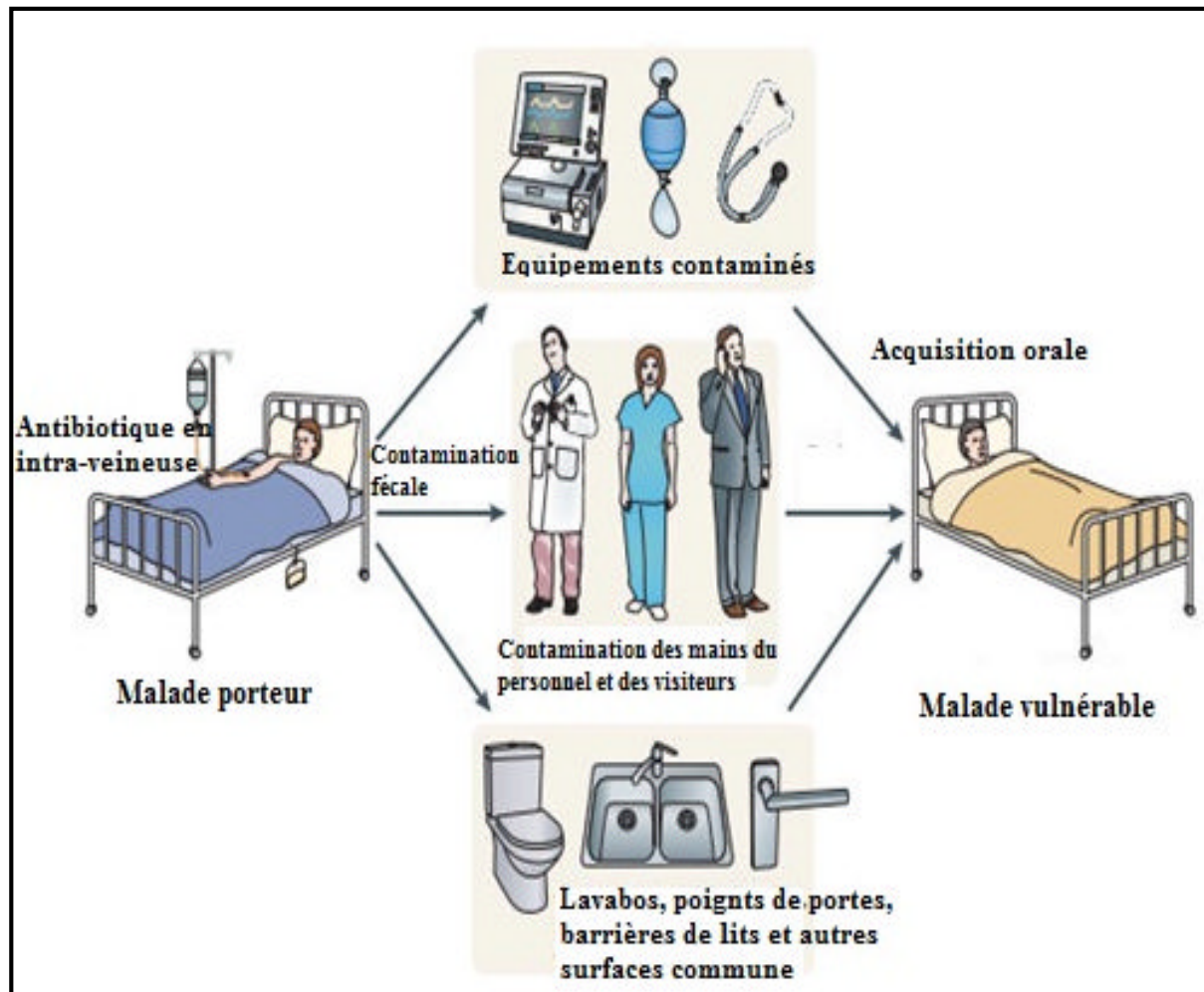


Figure 5: Principales voies de transmission nosocomiales des entérocoques résistants à la vancomycine (Arias et Murray, 2012).

II. Généralités sur les antibiotiques et problématique de la résistance des entérocoques

1-Généralités sur les antibiotiques

Les antibiotiques peuvent être classés en cinq groupes principaux en fonction de leurs sites d'action :

1.1- Antibiotiques qui agissent par inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne

Parmi les antibiotiques inhibiteurs (ou perturbateurs) de la paroi bactérienne, il ya essentiellement trois groupes chimiques à savoir les B-lactamines, les glycopeptides et la fosfomycine (Ouedraogo, 2020).

1.1.1-Glycolipides

Représentent une famille d'antibiotiques bactéricides à spectre d'action étroit dirigé contre les bactéries à Gram positif. Les représentants majeurs en médecine humaine sont la vancomycine et la téicoplanine (**Bourdon, 2011**), leur action repose sur leur forte affinité pour l'extrémité des précurseurs monomériques de la paroi se terminant par un dipeptide D-alanyl -D-alanine à laquelle ils se fixent (**Cattoir et Leclercq, 2010**), ce qui provoque un encombrement stérique (masse moléculaire élevée d'environ 1 500 Da) qui empêche le branchement du précurseur au peptidoglycane en cours de l'élongation et bloque ainsi les étapes finales de formation de la paroi bactérienne (**Bourdon, 2011**).

1.1.2- β -lactamines

Les b-lactamines agissent par inhibition des protéines de liaison à la pénicilline (PLP) qui ont essentiellement une fonction D,D-transpeptidase (intervenant dans la biosynthèse et le remodelage du peptidoglycane) (**Bourdon, 2011**).

1.1.3- Fosfomycine

elle se fixe de manière covalente à une enzyme impliquée dans la formation de l'acide N- acétyl-muramique, l'un des constituants essentiels du peptidoglycane (**Ouedraogo, 2020**).

1.2-Antibiotiques qui agissent par altération de l'intégrité de la membrane cytoplasmique :

Les antibiotiques de la classe des polymyxines (la polymyxine B), des lipopeptides (la daptomycine) et Les antibiotiques peptidiques (la valinomycine et la gramicidine A) se fixent sur la membrane bactérienne et la désorganisent ce qui induit la mort bactérienne (**Ouedraogo, 2020**).

1.3- Antibiotiques qui agissent par inhibition de la synthèse protéique :

Les antibiotiques inhibiteurs de la synthèse protéique sont essentiellement les aminosides, les tetracyclines, les macrolides, les lincosamides, les streptogramines, les phénicolés, l'acide fusidique et les oxazolidinones qui inhibent, à différentes étapes, la synthèse protéique chez les bactéries (**Ouedraogo, 2020**).

1.4- Antibiotiques qui agissent sur inhibition du métabolisme des folates

L'acide folique ou vitamine B9 est nécessaire à la synthèse des bases nucléiques utilisées pour la synthèse ou la réparation de l'ADN. Incapables d'absorber l'acide folique, les bactéries le synthétisent.

Les enzymes impliquées dans la synthèse de cet acide folique constituent des cibles d'antibiotiques, notamment les sulfamides et la triméthoprim, les inhibent ; entraînant ainsi la stase bactérienne(**Ouedraogo, 2020**).

1.5- Antibiotiques qui agissent sur inhibition des acides nucléiques

Les quinolones se fixent sur des domaines spécifiques de la topoisomérase II (ADN gyrase) et de la topoisomérase IV, stabilisent le complexe ADN-Topoisomérases et bloquent ainsi la réplication et la transcription de l'ADN (**Ouedraogo, 2020**).

2- Résistance aux antibiotiques

La résistance bactérienne aux antibiotiques est apparue après leur introduction dans le traitement des maladies infectieuses. Cette résistance est un facteur majeur compliquant le traitement des infections bactériennes et la dissémination des souches multi-résistantes (**Yala et al., 2001**).

Cette propriété est due à la présence intrinsèque de gènes de résistance principalement acquis par l'intermédiaire d'éléments génétiques mobiles (plasmides ou transposons). La plasticité du génome des entérocoques leur permet de s'adapter constamment à leur environnement et de résister à une large variété d'antibiotiques (**Inoue et al., 2006 ; Sánchez et al., 2007**) appartenant à différentes classes comme les bêta-lactames, les aminoglycosides, les lincosamides ou les glycopeptides. La résistance bactérienne aux antibiotiques se caractérise par son caractère naturel ou acquis (**Yala et al., 2001**).

2.1- Résistance naturelle

Les entérocoques sont des bactéries possédant de nombreuses résistances intrinsèques, ces résistances proviennent de leur génome, ils sont beaucoup moins sensibles aux antibiotiques que les autres cocci à Gram positif (**Klein, 2003**).

2.1.1-Résistance aux bêtalactamines

Ceci est dû au fait que les entérocoques expriment des protéines de liaison de la pénicilline (PLP) de bas poids moléculaires modifiée (PLP5) de plus faible affinité pour les β -lactamines. Les entérocoques sont moins sensibles aux Pénicillines G et A que les autres streptocoques (leurs CMI habituelles sont comprises entre 4-8 mg/L, contre 0,1 mg/L pour la plupart des Streptocoques du groupe D). Dans les infections graves à entérocoques, il faudra donc utiliser ces antibiotiques en association avec un antibiotique d'une autre famille (**Kristich, 2014**).

La pipéracilline, l'imipénème, l'association amoxicilline-acide clavulanique n'apportent pas de gain d'activité sur les entérocoques. Les entérocoques sont naturellement résistants aux pénicillines M et aux céphalosporines (**Miller et al., 2014**). L'espèce *E. faecalis* se caractérise en plus par une résistance naturelle aux lincosamides et aux sulfamides (**Quincampoix et Mainardi, 2001**).

2.1.2-Résistance aux glycopeptides

La résistance naturelle est observée chez *Enterococcus gallinarum* et *Enterococcus*

casseliflavus. En effet, ces espèces contiennent au niveau chromosomique un opéron vanC qui confère une résistance de bas niveau à la vancomycine (CMI = 2—32 mg/L) tandis que la téicoplanine reste active (Bourdon, 2011).

Les entérocoques se caractérisent aussi par une résistance naturelle de bas niveau aux aminosides. L'espèce *E. faecalis* se caractérise en plus par une résistance naturelle aux lincosamides et aux sulfamides (Quincampoix et Mainardi, 2001). D'autres résistances naturelles sont résumées dans le tableau suivant :

Tableau II: Mécanisme de résistance intrinsèque aux antibiotiques chez les entérocoques (Kiruthiga et al., 2020)

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

2.2-Résistance acquise

On parle de résistance acquise lorsqu'une ou plusieurs souches d'une espèce bactérienne naturellement sensible à un antibiotique y deviennent résistantes (Reissier, 2016). Cette propriété est due à la présence de gènes de résistance principalement acquis par l'intermédiaire d'éléments génétiques mobiles (plasmides ou transposons). La plasticité du génome des entérocoque leur permet de s'adapter constamment à leur environnement et de résister à une large variété d'antibiotiques (Inoue et al., 2006; Sánchez et al., 2007) appartenant à différentes classes comme les bêta-lactames, les lincosamides ou les glycopeptides.

Les résistances peuvent se transmettre entre bactéries, et ce de différentes manières. La transformation consiste en l'ingestion par une bactérie dite compétente d'un ADN étranger depuis son environnement qui peut, par transfert passif, lui prodiguer de nouveaux caractères génétiques stables et transmissibles. La transduction est un transfert d'ADN bactérien d'une bactérie à l'autre par l'intermédiaire de bactériophages. Enfin, la conjugaison est un transfert actif d'ADN entre deux bactéries sous forme chromosomique ou extra-chromosomique (par exemple, plasmides ou transposons) (Stucki et al., 2014).

- **Résistance aux glycopeptides**

Les entérocoques constituent le premier genre bactérien à avoir acquis une résistance transférable de haut niveau aux glycopeptides (VanWalsh CT et al., 1996). Elle résulte de la coopération de plusieurs gènes organisés en opéron *Van* codant pour l'ensemble des enzymes nécessaires à la reprogrammation du peptidoglycane. Le changement porte sur l'extrémité du précurseur et fait disparaître une liaison hydrogène essentielle (fig.6). Ainsi l'affinité de la vancomycine pour les précurseurs terminés par D-Ala-D-Lac devient elle mille fois moins élevée que celle pour les précurseurs sauvages (terminés en D-Ala-D-Ala).

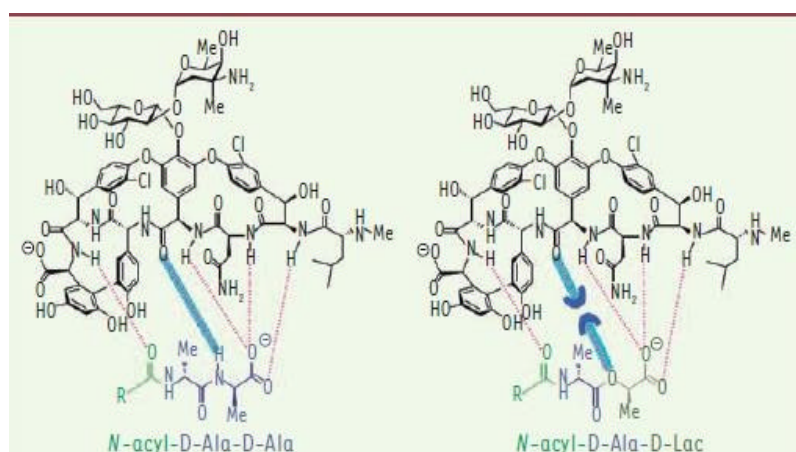


Figure 6: liaison entre la vancomycine et les différentes formes de dipeptide terminal des précurseurs pentapeptidiques (Cattoir et Leclercq, 2010).

Neuf types de résistance aux glycopeptides ont été décrits à ce jour, sur des critères phénotypiques et génotypiques. Huit correspondent à un mécanisme de résistance acquise (VanA, VanB, VanD, VanE, VanG, VanL, VanM et VanN) tandis qu'un seul est une caractéristique intrinsèque d'espèce (VanC chez *E. gallinarum* et *E. casseliflavus*). Les types VanA et VanB sont les phénotypes les plus fréquemment retrouvés chez les entérocoques (surtout *E. faecium*) (**Cattoir et Leclercq, 2010**).

Cependant, la prévalence des entérocoques résistants à la vancomycine est élevée dans certains pays (ex. États-Unis) et la daptomycine apparaît comme un antibiotique de choix pour le traitement des infections sévères à ERV. L'utilisation de fortes doses (> 6 mg/kg) semble nécessaire mais les posologies optimales, notamment pour les souches dont la CMI est proche du seuil de sensibilité (4 mg/L), n'ont pas encore été établies (**Reissier, 2016**).

La capacité des entérocoques, spécialement *E. faecalis* et *E. faecium*, d'acquérir des éléments génétiques mobiles, codant entre autres pour de la résistance aux antibiotiques, a contribué à leur émergence en tant que pathogène important dans les hôpitaux. Les gènes de résistance aux antibiotiques et de virulence se sont accumulés dans les lignées associées aux épidémies d'infections nosocomiales (**Olawale et al., 2011**).

Matériel et Méthodes

1-Présentation de l'étude

Il s'agit d'une étude descriptive de 05 mois s'étalant du 1er Janvier jusqu'au 31 Mai 2023 au niveau du laboratoire de microbiologie du CHU Tizi-Ouzou (Unité Nedir Mohammed).

Des prélèvements provenant de malades hospitalisés dans divers services seront mis en culture : pus, liquides de ponctions, sphère ORL, urines et hémocultures. Des prélèvements externes seront aussi pris en compte.

1.1- Objectifs

Ce travail consiste à étudier la répartition des infections à entérocoques au sein de différents service du CHU de Tizi-Ozou selon l'âge, le sexe et la nature du prélèvement. On mettra donc l'accent sur La caractérisation des souches bactériennes : Réaliser une étude approfondie des souches d'entérocoques isolées à partir d'échantillons cliniques pour déterminer les espèces prédominantes impliquées dans les infections nosocomiales et les profils de résistance aux antibiotiques associés.

1.2-Critères d'inclusion

Toutes les souches bactériennes issues des prélèvements de pus et des liquides de ponction, provenant de patients hospitalisés au CHU Tizi-Ouzou (Unité Nedir Mohammed), ainsi que des patients externes, ont été incluses dans cette étude.

Les souches considérées comme pathogènes en pathologie humaine : *E. faecalis*, *E. faecium* et *Enterococcus* sp.

1.3 - Critères d'exclusion

Souches contaminées, au niveau du prélèvement ou à cause d'une mauvaise conservation ou renseignements insuffisants ainsi que les doublons.

Les souches dont l'antibiogramme présente une conformité <20% avec le contrôle de qualité.

2- Matériel

Le matériel non biologique utilisé dans cette étude est cité en annexe (1) et tableau A.

3-Méthode

3.1-Prélèvement

Pour cette étude, les souches d'*Enterococcus* concernées (*E. faecalis*, *E. faecium* et *Enterococcus* sp) sont issues des prélèvements de pus, des liquides de ponctions, hémocultures et des urines.

Ces prélèvements appartiennent à des malades externes et à ceux hospitalisés au niveau des différents services du CHU Nedir Mohamed de Tizi-Ouzou (pédiatrie, réanimation, chirurgie...etc.)

3.1.1-Fiche de renseignement

Étant donné la diversité des localisations, tout échantillon doit être accompagné de sa localisation précise, sa nature et des renseignements cliniques indispensables pour aider le bactériologiste dans sa démarche diagnostique (**Denis et al., 2011**).

La fiche de renseignement renferme : l'identité du malade, le service et le motif de d'hospitalisation, antécédents, symptômes cliniques, notion de prise d'ATB, son évolution clinique.

La méthode de prélèvement doit également être mentionnée dans le cas où celle-ci est non-usuelle.

3.1.2- Acheminement et précautions lors de la manipulation du prélèvement

Le transport du prélèvement doit être réalisé stérilement et acheminer immédiatement au laboratoire (moins de deux heures à température ambiante) pour empêcher toute prolifération des bactéries commensales et la lyse des bactéries pathogènes fragiles. Les échantillons doivent être acheminés au laboratoire dans un sac hermétique, accompagnés de leur fiche de renseignements cliniques (**Denis et al., 2011**).

Certaines règles sont à suivre :

- Etiqueter le prélèvement.
- Laver minutieusement des mains avant toute manipulation.
- Nettoyer les paillasse à l'aide d'une compresse et une solution désinfectante.
- Etiqueter les boîtes et les tubes avant l'ensemencement.
- Les prélèvements de faible volume faits à la seringue peuvent être facilités par l'ajout d'une faible quantité de milieu d'enrichissement ou de sérum physiologique.
- Pour les prélèvements sur écouvillon, il faut ajouter 0,5 mL d'eau physiologique afin de préserver le germe.

3.2- Méthodes manuelles

3.2.1- Mise en culture et examen macroscopique

L'ensemencement des milieux solides se fait par la technique des quatre quadrants et la lecture se fera au bout de 24 à 48 heures. Une culture dans un bouillon glucosé tamponné (BGT) sera également réalisée.

• Isolement sur milieu BEA (bile-esculine-azide)

Le milieu BEA permet la sélection des entérocoques par leurs capacités d'hydrolyser l'esculine. L'azoture de sodium favorise la culture des entérocoques, tout en inhibant la croissance des bactéries à Gram négatifs et de tous les streptocoques sauf ceux du groupe D, et la bile de bœuf inhibe la croissance des bactéries à Gram positifs. Après 24 heures d'incubation à 37°C, les colonies d'entérocoques sont apparues noir ou grisâtre avec un halo blanc.

- **Gélose au sang frais**

En général, au sang de mouton ou de cheval. Elles sont obtenues en ajoutant à des géloses ordinaires du sang frais dans des proportions de 5 à 10 % en volume. Ce sont des géloses qui permettent la croissance des bactéries exigeantes grâce à la présence de facteurs de croissance contenus dans le sang (Daoudi, 2018).

- **Milieu chromogène**

Le principe est d'utiliser des substrats synthétiques qui sont des analogues structuraux d'une molécule naturellement clivée par une enzyme caractéristique d'une espèce bactérienne ou d'un groupe d'espèces bactériennes ; pour les entérocoques, il s'agit de β -D-glucosidases. Le substrat clivé acquiert des propriétés chromogéniques et précipite en colorant la colonie sans diffuser dans la gélose (Denis, 2011).

Examen macroscopique consiste à l'observation à l'œil nu ou à faible grossissement des boîtes de Pétri et de noter l'aspect des colonies bactérienne, ceci requière certaines conditions :

- La culture doit être pure.
- Les colonies doivent être isolées (pas collées entre elles).
- La culture doit être jeune aux environs de 24 heures).

3.2.2-Examen microscopique

- **Coloration différentielle de Gram**

C'est une double coloration qui nous permet de connaître la forme, l'agencement, la pureté ainsi que la nature biochimique de la paroi des cellules purifiées. Cette coloration permet de classer les bactéries selon leur capacité à fixer le violet de Gentiane. (voir annexe 3)

La couche épaisse de peptidoglycane des bactéries Gram positives leur permet de retenir le complexe lugol-violet de gentiane. Elles ne sont pas décolorées lors du lavage à l'éthanol ;elles sont donc colorées en violet.

Chez Les bactéries Gram négatives, en plus d'avoir une membrane externe, cette couche est plus mince : elles perdent alors le complexe lors du lavage et retiennent la fushine. Elles sont colorées en rose-rouge (Thairu et al., 2014).

3.2.3- Tests biochimiques

a-Galerie classique

C'est un ensemble de tests permettant de révéler les différentes caractéristiques biochimiques des bactéries et ainsi de les identifier.

- **Mise en évidence de la catalase**

C'est une enzyme qui décompose l'eau oxygénée en oxygène gazeux. La méthode consiste à prélever une colonie du germe à étudier sur l'extrémité d'une pipette Pasteur fermée que l'on plonge ensuite dans 1ml d'eau oxygénée. Le dégagement de bulles gazeuses signe la présence de l'enzyme (Carbannelle et *al.*, 1987).

- **Test à l'oxydase : recherche des cytochromes oxydases**

La méthode consiste à prélever, avec une pipette Pasteur ou une anse de platine, une colonie et de l'écraser sur un papier filtre imprégné d'une solution de diméthyl paraphénylène diamine (ou disque d'oxydase humidifié par deux gouttes d'eau distillée).

La présence d'une oxydase se traduit par l'apparition d'une coloration violette (Carbannelle et *al.*, 1987).

b-Galerie biochimique : API® 20 Strep

Cette galerie comporte 20 microtubes contenant les substrats déshydratés pour la mise en évidence d'activités enzymatiques ou de fermentation de sucre. (voir annexe 3)

Les tests enzymatiques sont inoculés avec une suspension dense, réalisée à partir d'une culture pure, qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

Les tests de fermentation sont inoculés avec un milieu enrichi (contenant un indicateur de pH) qui réhydrate les sucres. La fermentation des carbohydrates entraîne une acidification se traduisant par un virage spontané de l'indicateur coloré. (Voir annexe 3).

3.2.4- Tests de sensibilité aux antibiotiques

L'antibiogramme standard est un test in vitro de sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques. L'identification bactérienne devra donc souvent être complétée par l'antibiogramme (standard). En effet, l'antibiogramme vise à trouver l'antibiotique le plus efficace sur les bactéries prélevées en cas d'infection bactérienne, d'exploitées les données pour la surveillance des résistances bactériennes aux antibiotiques (échange de données par le logiciel WHONET, version 28.8.23, fourni par l'OMS) et une indication supplémentaire pour l'identification du germe par la mise en évidence de résistances naturelles (Boussenna, 2020).

- **Antibiogramme manuel (Antibiogramme par diffusion sur milieu gélosé « Mueller Hinton »)**

Il repose sur le principe de la compétition entre la croissance d'une bactérie et la diffusion d'un antibiotique dans un milieu gélosé à partir d'un support préimprégné.

Des disques de papiers préimprégnés d'une concentration connue d'antibiotiques sont déposés à la surface d'une géloseensemencée avec la bactérie à étudier. L'antibiotique diffuse du disque selon un gradient de concentration décroissant. Après 18h d'incubation à 37°C, une zone d'inhibition centrée sur le disque se forme : la concentration d'antibiotique en bordure de la zone d'inhibition correspond à la CMI de l'antibiotique de la souche étudiée. Ce diamètre est mesuré en millimètre (**Denis, 2011**).

En mesurant les diamètres de la zone d'inhibition et en se référant aux recommandations du fascicule de standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale : édition 2020, les souches sont classées en : souches sensibles, souches intermédiaires et souches résistantes :

- **Souches sensibles** : les souches catégorisées (S) sont celles pour lesquelles la probabilité de succès thérapeutique est forte.
- **Souches intermédiaires** : les souches catégorisées (I) sont celles pour lesquelles le succès thérapeutique est imprévisible.
- **Souches résistantes** : les souches catégorisées (R) sont celles pour lesquelles il existe une forte probabilité d'échec thérapeutique pour l'antibiotique considéré quelles que soient la dose et la voie d'administration utilisées (**Demoré et al., 2018**). voir annexe 4

La liste des antibiotiques testés se trouve dans l'annexe 5 tableau B.

3.3- Méthodes automatisée

3.3.1-Dispositif VITEK : système Vitek 2 avec les cartes Vitek 2 GP ®

Le dispositif Vitek 2 est un ensemble d'appareils composés d'un automate, un ordinateur et de cassettes (Figure 8) et qui permettent l'identification et l'établissement du profil de sensibilité aux antibiotiques des bactéries. L'identification d'une souche bactérienne se fait grâce à une « carte Vitek® », il en existe différents types qui permettent d'identifier différents groupes bactériens. (**Matuszewski, 2009**).

Ce sont des cartes en plastique qui contiennent différents tests biochimiques: Des tests enzymatiques, des tests d'acidification. Chaque carte contient un nombre assez important de tests ce qui permet d'avoir un diagnostic précis. Le test d'identification est disponible au bout de quatre à six heures, ce qui permet déjà d'établir un diagnostic fiable et rapide, la lecture est colorimétrique (**Matuszewski, 2009**).



Figure 7: Dispositif VITEK .

3.3.2-Antibiogramme par le dispositif Vitek®

Le dispositif Vitek® permet d'avoir de manière fiable et rapide le profil de sensibilité d'une bactérie aux antibiotiques. Comme pour les tests d'identification, il existe des cartes qui permettent de déterminer les différents niveaux de sensibilité aux antibiotiques de la bactérie identifiée par carte GP et l'étude de la sensibilité aux ATB par le biais de la CMI (carte AST P586 et AST P 631) (**Matuszewski, 2009**).

La lecture de l'antibiogramme se fait grâce à un logiciel installé sur l'ordinateur relié à l'automate. Ce dernier permet de déterminer le profil de sensibilité en mesurant l'inhibition de croissance de la souche bactérienne. Les résultats peuvent être disponibles au bout de quelques heures ou 24 heures au plus tard, cela dépend du nombre d'ATB à tester. Le logiciel se charge de classer les antibiotiques dans les catégories résistant, sensible ou intermédiaire (**Matuszewski, 2009**). Voir annexe 6.

Résultats

Cette étude qui s'est étendue du 01 janvier au 31 mai 2023, au niveau du service de microbiologie du CHU Tizi-Ouzou (Unité Nedir Mohamed) a permis d'isoler, de caractériser et d'identifier 80 souches d'entérocoques et d'évaluer leur niveau de résistance aux antibiotiques. Ce groupe de bactéries a été sélectionné pour son rôle dans les infections opportunistes et nosocomiales.

1-Résultats d'isolement et d'identifications des entérocoques

Dans le but d'identifier les entérocoques, un ensemble de tests ont été effectués sur la base de :

Mise en culture (examen macroscopique) et examen microscopique (coloration de Gram).

Après homogénéisation, les échantillons ont été ensemencés en stries sur milieux gélosés puis incubés à 37°C pendant 24 à 48h en aérobie.

1.1-Aspect des colonies

- **Sur milieu chromogène:** les colonies apparaissent en bleu (**Fig 8**).
- **Sur gélose au sang frais :** fines colonies non hémolytiques
- **Sur milieu BEA :** fines colonies translucides entourées d'un halo noir, suite à l'hydrolyse de l'esculine qui donne de l'esculétine + fer.

1.2-Coloration de Gram

Elle révèle des cocci Gram positifs groupés par paires, en amas ou en courtes chainettes (**fig 9**). Le protocole du test se trouve dans l'annexe 2.

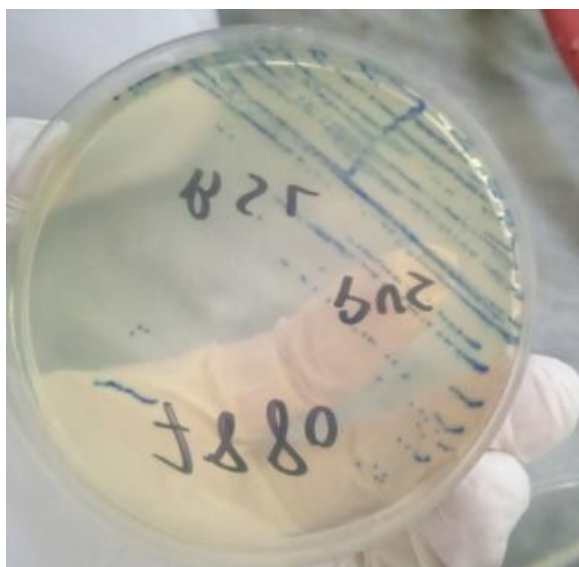


Figure 8 : colonies d'*Enterococcus* isolées à partir d'un pus sur milieu chromogène.

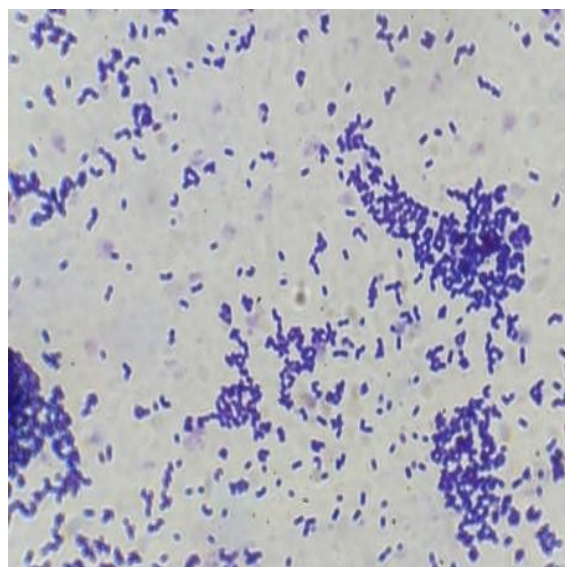


Figure 9 : *Enterococcus faecalis* au grossissement x100 à l'immersion après coloration de Gram.

1.3-Tests biochimiques : catalase et oxydase négatives

Ces données permettent d'assigner les souches isolées au genre *Enterococcus*. Cette identification des espèces a été réalisée par le système Api Strep et le système Vitek2. Cependant, par manque de galeries API et les pannes répétées de l'automate, nous n'avons pu identifier que 40 espèces sur 80 de nos souches.

2-Résultats de l'étude épidémiologique

Les résultats ont été obtenus suite à l'étude de 80 souches d'entéocoques.

2.1-Répartition des souches selon la provenance des prélèvements

D'après la figure 10 illustrant cette répartition, on remarque la prédominance des souches hospitalières. Elles proviennent essentiellement des services de médecine et de chirurgie avec un taux de 21,25 % chacun, suivi du service de pédiatrie 13,75% . Les malades externes (infections communautaires) ne représentent que 8%.

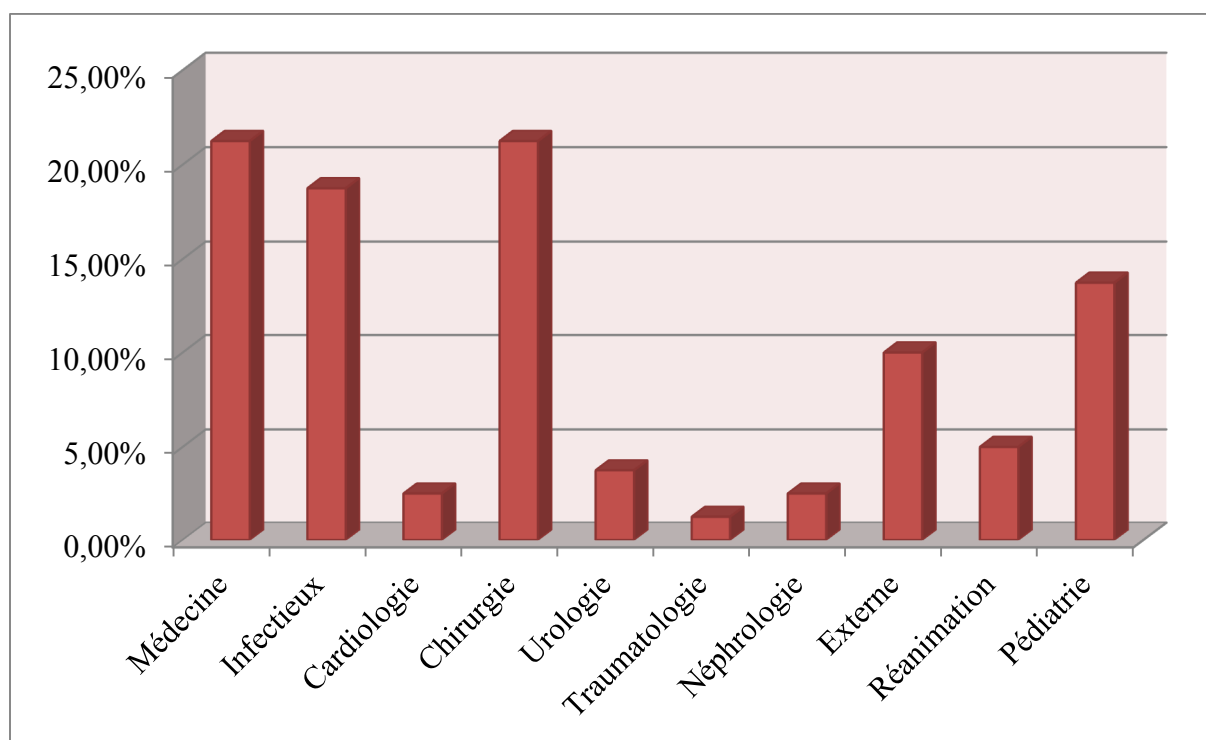


Figure 10: Répartition des souches selon les services.

2.2-Répartition des souches en fonction de l'âge

L'étude de la répartition des souches isolées montre une nette prédominance des infections à entérocoques chez les adultes avec un taux de 83,75% (n=67) contre 16,25% (n=13) chez les enfants (**Fig 11**).

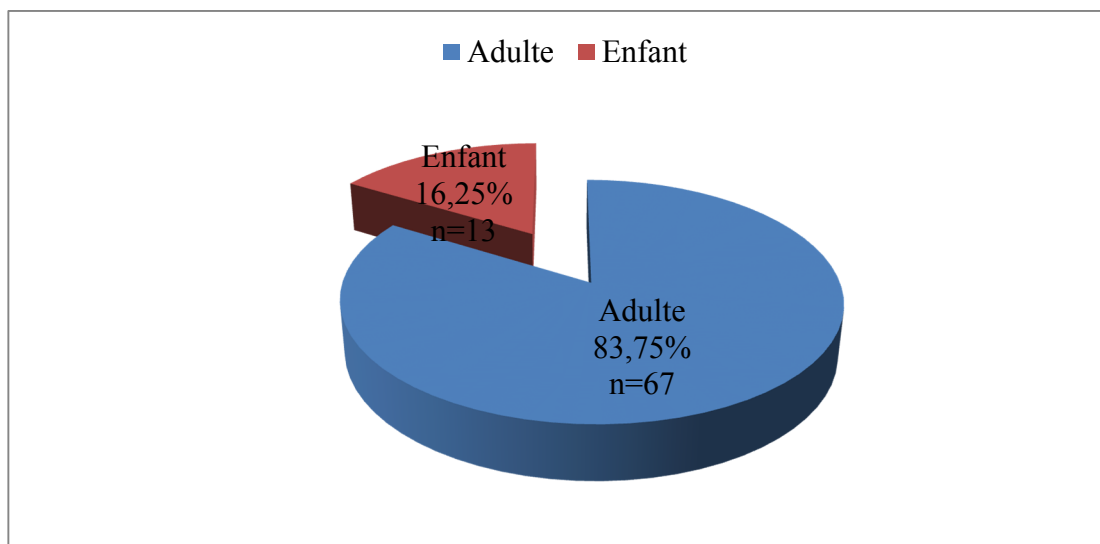


Figure 11: Répartition des cas prélèvements positifs selon la tranche d'âge.

2.3- Répartition des souches selon le sexe

On remarque que sur un nombre de 80, 56,25% (n=45) des souches sont isolées chez les hommes alors que 43,75% (n=35) sont isolées chez les femmes (**fig 12**). Le sexe ratio étant de 1,28.

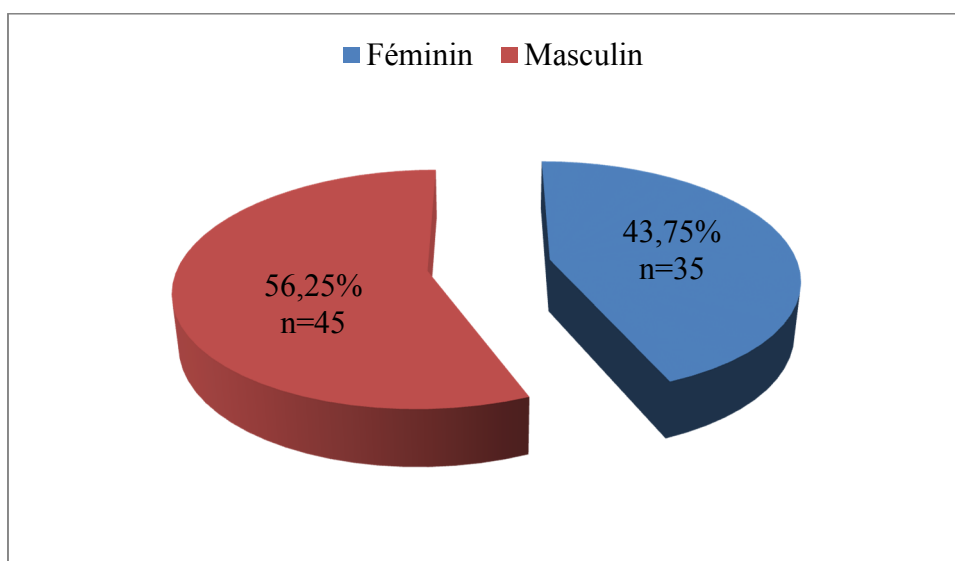


Figure 12: Répartition des prélèvements positifs selon le sexe.

2.3-Répartition des souches selon les prélèvements

D'après la **figure 13**, on constate que la majeure partie des souches ont été isolées à partir des pus (45%, n=36) suivi des Urines (36,25%, n=29) qui représentent les infections urinaires. Les hémocultures représentent 16,22% (n=13).

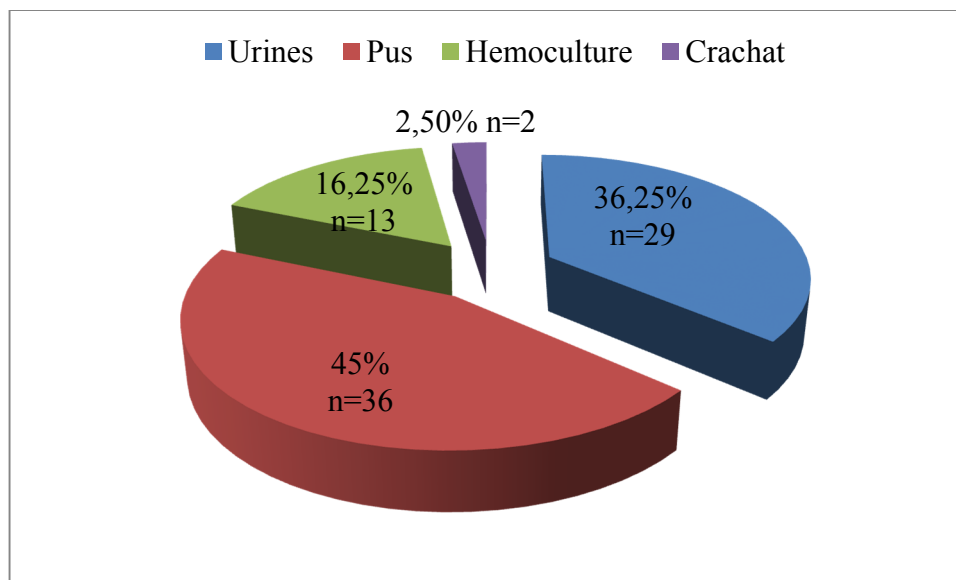


Figure 13: Répartition des souches selon les prélèvements

2.4-Répartition des souches isolées selon les espèces

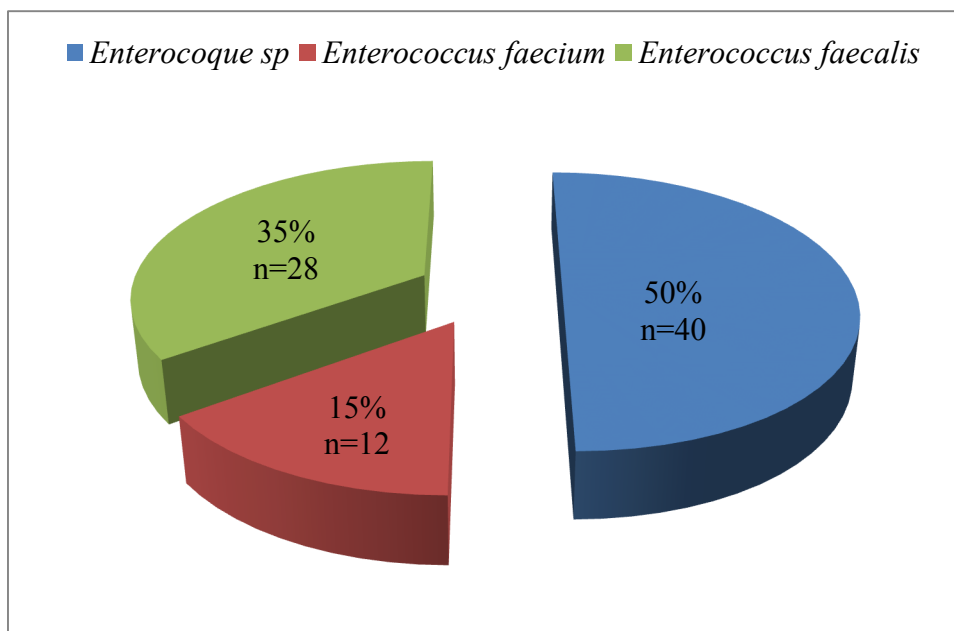


Figure 14: Répartition des souches isolées selon les espèces.

Sur un total de 80, Les souches d'*Enterococcus sp* représentent 50% (n=40) des souches isolées suivies de *E. faecalis* (35%, n=28) et *E. faecium* (15%, n=12) (**fig 14**).

2.5- Répartition des espèces *E. faecalis* et *E. faecium* selon les prélèvements

On remarque que l'espèce *E. faecalis* (n=28) est isolée principalement dans le sang (42,85%, n=12), suivi des prélèvements de pus (32,15%, n=9) (**fig 15**). Pour 12 isolats d'*E. faecium*, les taux les plus élevés sont rencontrés dans les urines et le pus avec un taux de 41,67% (n=5) (**fig 16**). La figure 17 illustre la prédominance de ces deux espèces.

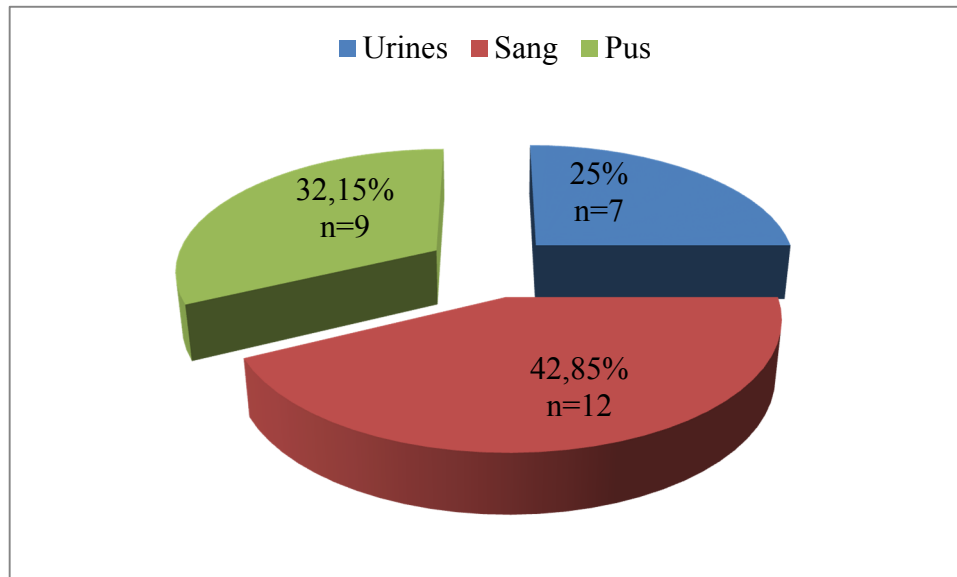


Figure 15: Répartition de l'espèce *E. faecalis* selon les prélèvements.

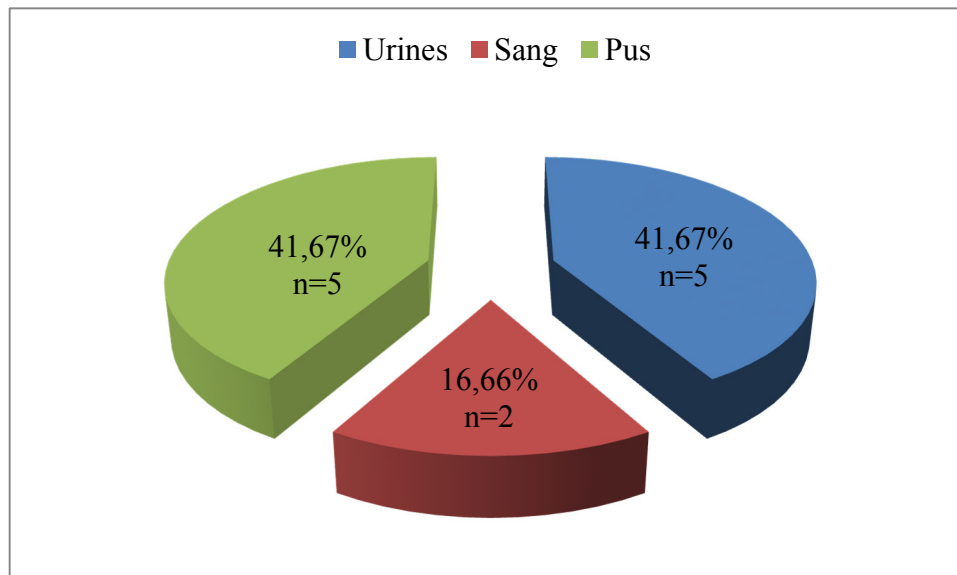


Figure 16: Répartition des espèces *E. faecium* selon les prélèvements.

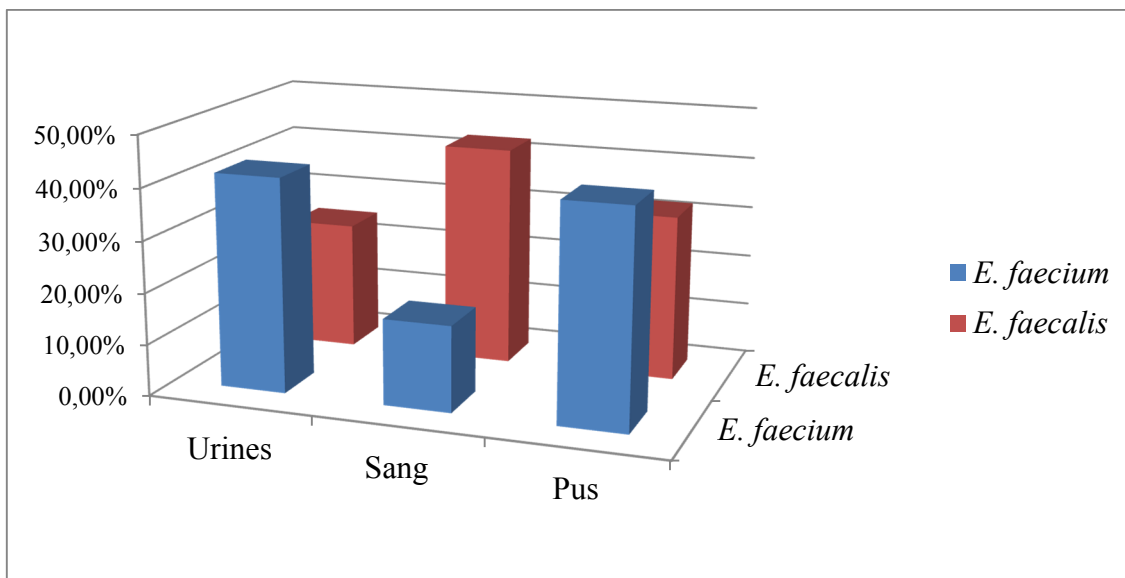


Figure 17: Répartition des espèces *E. faecalis* et *E. faecium* selon les prélèvements.

3-Etude de l'antibiorésistance

L'antibiogramme a été réalisé par la technique de diffusion sur milieu gélosé (**fig 18**) selon les normes préconisées par le fascicule de standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale : édition 2020. Un contrôle de qualité interne de routine a été réalisé au préalable pour chaque antibiogramme en utilisant les souches de référence ATTC (American Type Culture Collection): *Staphylococcus aureus* 25923, *Escherichia coli* 25922 et *Pseudomonas aeruginosa* 27922 .

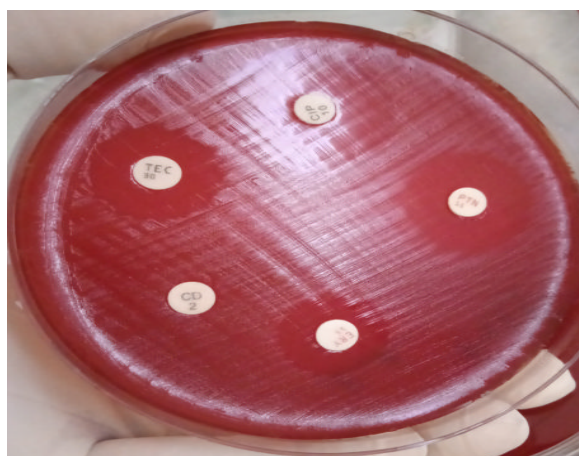


Figure 18: Antibiogramme sur gélose Mueller Hinton additionnée de sang.

Les résultats des antibiogrammes sont traités par le logiciel WHONET (version 28.8.23), au niveau du laboratoire de microbiologie du CHU Nedir Mohamed de Tizi-Ouzou.

Tableau III: Profil de résistance (R+I) des souches isolées du 1^{er} janvier au 31 mai 2023.

famille	Antibiotiques	Charge des disques (µg)	Nombre de souches (R+I)	Nombre de souches testées	Pourcentage (%)
Bétalactamines	OXA	5	16	36	44,44
	AMP	10	11	43	17,64
	IPM	10	10	17	58,82
	PEN	5	16	23	56,52
Glycopeptides	VA	30	14	73	19,17
	TEC	30	19	65	29,23
Quinolones	LVX	5	20	31	67,74
	CIP	5	23	45	52,27
phénicolés	CHL	30	3	17	35,29
Aminosides	GEH	120	5	15	33,33
	STH	120	4	21	19,04
fosfomycine	FOS	200	2	2	100
cyclines	TCY	30	30	49	61,22
Macrolides	ERY	15	56	61	91,80
	CLI	15	53	56	92,85
	PRI	5	33	58	56,89
Nitrofuranes	NIT	300	0	2	0
Trimétoprime-sulfaméthoxazole	SXT	15	17	36	55,55
rifampicine	RIF	5	7	12	58,33

Le tableau III montre que les souches isolées présentent une insensibilité totale à la Fosfomycine. Elles sont également résistantes aux macrolides (Erythromycine 91,80%, Clindamycine 92,85% et Pristinamycine 56,89%) et aux Quinolones (Lévofoxacine 67,74%, et Ciprofloxacine 52,27%). Concernant les Glycopeptides, la résistance est modérée (Vancomycine 19,17% et Teicoplanine 29,23%). La sensibilité vis-à-vis des Bétalactamines est variable, on remarque une nette résistance à l'Imipénème 58,82%, l'Oxacilline 44,44% et la Pénicilline G 56,52%, et une sensibilité à l'Amoxicilline 10,5%.

Tableau IV: Profil de résistance d'*Enterococcus faecalis* du 1^{er} janvier au 31 mai 2023.

Famille	Antibiotiques	Charge des disques (µg)	Nombre (R+I)	Nombre de souches testées	Pourcentage (%)
β-Lactamines	OXA	5	14	18	77,77
	AMP	10	2	15	13,33
	IPM	10	0	5	0
	PEN	5	4	7	57,14
Glycopeptides	VA	30	6	16	37,5
	TEC	30	7	15	46,66
Quinolones	LVX	5	6	11	54,54
	CIP	5	8	14	57,14
	CHL	30	1	1	100
Aminosides	GEH	120	2	6	33,33
	STH	120	1	2	50
Cyclines	TCY	30	14	16	87,5
Macrolides	ERY	15	17	18	94,44
	CLI	15	21	22	95,45
	PRI	15	11	17	64,7
Trimétoprime - sulfaméthoxazole	SXT	15	7	16	43,75
rifampicine	RIF	5	2	4	50

Le tableau IV montre les souches *E. faecalis* isolées sont résistantes à la plupart des antibiotiques testés mais restent totalement sensibles à l'Imipénème. De plus, on note une sensibilité à l'Ampicilline (13,33%). Il est important de noter une résistance modérée aux Glycopéptides (Vancomycine 37,5%, Teicoplanine 46,66%). Cette espèce est résistante à l'Erythromycine (94,44%).

Tableau V: Profil de résistance d'*E.faecalis* selon l'étude interne réalisée au niveau du CHU de Tizi-ouzou pour l'année 2022.

Antibiotiques	Nombre R+I	Total	Pourcentage %
AMP	4	17	23,52
GEH	5	13	38,46
STH	2	16	12,5
ERY	27	28	96,42
NIT	1	15	6,66
TCY	17	20	85
VAN	1	32	3,125
TEC	1	20	5
CIP	2	6	33,33
LVX	14	33	42,42
RIF	25	29	86,20
FOS (200)	0	0	0
QDF	12	14	85,71
CHL	3	5	60

Le tableau V, montre qu'*E.faecalis* est résistant à l'Erythromycine (96,42%), à la Rifampicine (86,20%) et le Chloramphénicol (60%). Cependant, il reste sensible à la vancomycine (3,125%).

Tableau VI : Profil de résistance (R+I) aux antibiotiques d'*Enterococcus faecium*.

Antibiotiques	Charge des disques (µg)	Nombre (R+I)	total	Pourcentage (%)
OXA	5	4	4	100
AMP	10	2	2	100
IPM	10	3	3	100
PEN	5	5	6	83,33
VA	30	2	12	16,66
TEC	30	1	8	12,5
LVX	5	2	4	50
CIP	5	5	10	50
GEH	30	2	3	66,66
STH	120	2	3	66,66
FOS	120	1	1	100
TCY	30	2	11	18,18

ERY	15	5	5	100
CLI	15	5	5	100
PRI	15	2	4	50
SXT	15	5	9	55,55
RIF	5	2	2	100

Le Tableau VI indique que les souches d'*E. faecium* isolés dans cette étude sont résistantes à la plupart des antibiotiques testés : Bétalactamines et Macrolides, à la Rifampicine, les Aminosides haut niveau, Triméthoprine-Sulfaméthoxazole. On remarque également une résistance plus élevée, comparée à *E. faecalis*, aux Glycolipides (Vancomycine 16,66%, Teicoplanine 12,5%).

Tableau VII : Profil de résistance d'*E. faecium* au niveau du CHU de Tizi-ouzou pour l'année 2022.

Antibiotiques	Nombre (R+I)	Total	Pourcentage %
AMP	8	10	80
GEH	0	3	0
STH	2	10	20
ERY	11	13	84,61
NIT	2	5	40
TCY	5	8	62,5
VAN	1	17	5,88
TEC	1	12	8,33
CIP	4	6	66,66
LVX	9	15	60
RIF	10	14	71,42
FOS (200)	0	0	0
QDF	2	6	33,33
CHL	1	3	33,33
TIG (CMI)	0	0	0

Dans cette étude interne, le tableau VII montre que les taux de résistance les plus élevés concernent l'Ampicilline (80%), l'Erythromycine (84,61%) et la Rifampicine (71,42%). Quant aux glycopéptides, les taux sont de (5,88%) pour la Vancomycine et (8,33%) pour la Teicoplanine.

Discussion

Durant notre étude, 80 souches d'entérocoques ont été isolées de prélèvements de malades provenant des différents services du CHU Nedir Mohammed de Tizi-Ouzou. L'isolement, l'identification et l'étude de l'antibiorésistance ont été réalisés au sein du laboratoire de Microbiologie.

I- Etude de la répartition des souches

Les bactéries du genre *Enterococcus* sont responsables chez l'homme d'infections urinaire, abdominales, biliaires, mais aussi d'infection grave telle que les septicémies et les endocardites.

Dans notre étude, le taux le plus élevé d'isolement des souches d'entérocoques, était dans les pus (45%) suivi par les urines (36,25%) ensuite les hémocultures (16,25) et enfin les crachats (2,5%). Ces résultats sont comparables avec une étude faite au niveau de l'hôpital de Constantine avec un taux de (56.10%) pour les pus suivi par (24.39%) pour les urines et (17.07%) pour les hémocultures (**Benyahia et Chouat, 2019**).

Les souches d'entérocoque étaient majoritairement isolées chez les hommes avec un taux de 56,25% que les femmes avec un taux de 43,75% avec un sex-ratio de 1,285 ce qui se rapproche de l'étude faite au niveau de l'hôpital d'Amizour avec un taux de 73% pour le sexe masculin et un ratio de 1,5 (**Adouane et Bourdjah, 2016**),

Le nombre maximal de cas d'infection à entérocoques est rencontré chez les adultes comprenant un taux de 83, 75%. Ces résultats se rapprochent de ceux retrouvés dans l'étude faite au CHU de Tlemcen avec un taux de 81% pour les adultes (**Rahmoun, 2021**).

D'après nos résultats, sur un nombre total de 80 souches, 35% (n=28) des infections sont dues à *Enterococcus faecalis*, et 15% (n=12) à *Enterococcus faecium*, plusieurs études ont montré qu'*E. faecalis* est l'espèce la plus prédominante des entérocoques dans les infections cliniques avec un taux de 80-85%, suivi par *E. faecium* avec un taux de 10-15 % (**Besnier, 1994**). D'autres travaux rapportent que *E. faecalis* est l'espèce la plus isolée parmi les entérocoques, notamment l'étude rapportée en Inde (**Wavare et al., 2015**), ainsi que l'étude rapportée en Algérie où le taux des infections à *E. faecalis* étaient de 75,3% (**Bourafa et al., 2016**).

Celik et al., (2014), avaient signalé la présence d'*E. faecalis* dans les urines et dans les plaies opératoires avec une fréquence plus élevée que celle d'*E. faecium*. Notre étude au niveau du CHU de Tizi-Ouzou a montré des résultats différents : en effet l'espèce *E. faecium* est plutôt rencontrée dans les urines et les pus avec les taux respectifs de 41,67% et contre 25% et 32,15% pour *E. faecalis*. Ces résultats sont confortés par une étude faite aux États-Unis entre 2011 et 2014 qui a montré une augmentation des infections à *E. faecium* des voies urinaires associées aux cathéters (**Zhou et al., 2020**).

De plus, des études à l'échelle du génome ont montré que ces isolats ont acquis un certain nombre de traits qui les rendent efficaces dans l'environnement hospitalier ; comme une augmentation des gènes de résistance aux antibiotiques et des gènes de virulence

améliorant colonisation et la formation de biofilm (Zhou et al., 2020).

II- Profil de résistance aux antibiotiques

L'étude de la sensibilité des souches isolées a mis en évidence le caractère de résistance des entérocoques aux antibiotiques. Armés de multiples déterminants de résistance et grâce à l'utilisation généralisée des antibiotiques, ces bactéries, opportunistes, s'étendent au sein du tractus gastro-intestinal des patients pour prendre le dessus et dominer le microbiote intestinal. A partir de ce dernier, les entérocoques multi-résistants disséminent dans le milieu hospitalier (Miller et al., 2014).

1-Les macrolides :

Notre étude a montré une résistance de 92,85% à la clindamycine, ces résultats sont similaires à l'étude de Rice (Rice, 2001) qui rapporte un taux de 95% de résistance à clindamycine. Les résultats obtenus pour l'Erythromycine (94,44% pour *E. faecalis* et 100% pour *E. faecium*) se rapprochent de l'étude statistique interne (non publiée), réalisée au sein du laboratoire de Microbiologie du CHU Nedir Mohammed de Tizi-Ouzou, sur des souches d'*E. faecalis* et d'*E. faecium* rapportant des taux respectifs de 96,42% et 84,61%.

2-Les fluoroquinolones

Les résultats obtenus montrent que ces antibiotiques sont actifs sur *E. faecalis* (ciprofloxacine 57,14% et Lévofloxacine 54,54%) et *E. faecium* (50% respectivement). Ces résultats diffèrent de l'étude faite au niveau du Centre Hospitalo-Universitaire De Tlemcen, où les résultats sont inférieurs pour *E. faecalis* (ciprofloxacine 30%). pour *E. faecium*, l'action de la ciprofloxacine est similaire 44%) (Rahmoun, 2021)

Chez *E. faecium*, Santella et al.,(2019), ont signalé un taux élevé de résistance à la ciprofloxacine (88,6%), ce qui est considérablement plus élevé que nos résultats.

3- Les Bétalactamines

La résistance des entérocoques aux **β -lactamines** est généralement due à deux mécanismes distincts : une surproduction de Penicillin-Binding Protein 5 (PLP5) avec une faible affinité pour les β -lactamines ou une synthèse de β -lactamases, qui apparaît beaucoup plus prononcée chez *E. faecium* que chez *E. faecalis* (O'Driscoll et al, 2015).

Une étude a montré une différence de réaction à l'ampicilline entre *E. faecalis* et *E. faecium*, avec respectivement des taux de résistance de 2% et de 71%, (Celik et al., 2014). Ces résultats se rapprochent de notre étude (13,33% pour *E. faecalis* et 100% pour *E. faecium*) et sont conformes au profil de résistance de l'année 2014-2015 publié par le réseau national de surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques (AARN). Les isolats d'*E. faecium* caractérisés par une résistance à l'ampicilline et sont fréquemment associés à des épidémies hospitalières (Zhou et al., 2020).

4- Les glycopeptides

D'après Hidron *et al.*, 2008, selon une étude faite au niveau des hôpitaux du National Health Care Safety Network (NHSN) au Royaume Uni, le taux de résistance d' *E. faecalis* à la vancomycine est d'environ 5%, ce qui nettement inférieur au résultat de notre étude (37,5%).

De plus, nos résultats sont différents de l'étude effectuée en Inde où la prévalence des souches d'*Enterococcus faecalis* résistantes à la vancomycine était comprise entre 2% et 6% (**Taneja *et al.*, 2004 ; Kapoor *et al.*, 2005**).

L'étude statistique interne (2022) du laboratoire de Microbiologie de Tizi-Ouzou a révélé un taux de résistance de 3,125% pour *E. faecalis* et de 5,88% pour *E. faecium*. Nos résultats ont rapporté un taux de 16,66% pour *E. faecium* et 37,5% pour *E. faecalis*. Ceci nous mène à constater une émergence de la résistance à la vancomycine pour ces deux souches au niveau du CHU de Tizi-Ouzou.

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

Recommendations

La faculté extraordinaire d'adaptabilité, de pathogénicité et de résistance aux antibiotiques des entérocoques, responsables d'infections nosocomiales, pourrait être contrôlée par certaines mesures de prévention :

- Une utilisation prudente des antibiotiques, en particulier la vancomycine.
- Mise en place de mesures de contrôle des infections pour prévenir la transmission de l'ERV, y compris les précautions d'isolement de patients positifs à l'ERV.
- Caractérisation des mécanismes de résistance des souches d'entérocoques par biologie moléculaire.
- Etudes des supports génétiques de la résistance à la vancomycine.
- Conscience et surveillance continues pour détecter la résistance aux nouveaux antibiotiques et désinfectants.
- Programmes de formation pour le personnel hospitalier, y compris l'hygiène des mains pour empêcher une nouvelle transmission.
- Contrôle de l'hygiène hospitalière au niveau des différents services.
- Un dépistage des ERV s'impose au niveau des sites les plus touchés (sang, urines et pus) qui pourraient constituer des portes d'entrées surtout chez les personnes débilitées.
- Et enfin, une poursuite dans la recherche et du développement de nouveaux antimicrobiens cibles serait souhaitable pour le traitement d'infections à entérocoques...etc.

Conclusion

Les infections à entérocoques sont provoquées par un groupe de bactéries Gram positives, de forme sphérique (coque), appelées entérocoque, qui vivent d'ordinaire dans l'intestin des personnes en bonne santé, mais peuvent parfois être à l'origine d'infections qui représentent une partie importante du travail du laboratoire de bactériologie médicale.

Enterococcus faecalis et *Enterococcus faecium* sont les espèces qui entraînent le plus fréquemment des infections chez l'homme.

Le présent travail confirme l'état de multirésistance de ces deux espèces touchant plusieurs familles d'antibiotiques comme les β -lactamines, les aminosides, les fluoroquinolones et les glycopeptides. De ce fait, elles pourraient constituer une menace notamment la propagation des souches résistantes à la vancomycine. Ce phénomène semble être lié à l'utilisation d'antibiotiques spécifiques à chaque service induisant une adaptation grandissante qui ne cessera probablement pas de s'étendre. La communauté médicale peut se trouver dans une impasse thérapeutique, c'est pour cela que l'étude du profil de sensibilité devient primordiale afin de comprendre l'évolution du comportement des bactéries face aux antibiotiques.

Cette résistance constitue un réservoir potentiel de gènes de résistance comme le gène *VanA* qui pourrait facilement accéder à d'autres espèces et limitant ainsi considérablement l'éventail des molécules possédant une activité stable et durable.

Enfin, notre étude nous a permis de faire un état des lieux des infections dans la région de Tizi- Ouzou afin de prévenir l'émergence des entérocoques

*Références
bibliographiques*

A

AARN (2014-2015). Spectre antibactérien des principales familles d'antibiotiques en milieu hospitalier basé sur les pourcentages de résistance des bactéries aux antibiotiques au niveau des hôpitaux membres du réseau AARN. Direction de la prévention - Réseau Algérien de la Surveillance de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques. Ministère de la Santé de la Population et de la Réforme Hospitalière.

Adouane, M., Bourdjah, A. 2016. Isolement et caractérisation des souches d'entérocoques multirésistants en clinique au niveau de l'Hôpital d'Amizour, Mémoire de Master en science biologique, Option en microbiologie en secteur biomédical et vétérinaire, université de Bejaia, 21pp.

Aggoune, N., Chabani, A., Tiouit, D., Naim, M. 2008. Premier cas d'*Enterococcus faecalis* résistant à la vancomycine en Algérie. *Médecine et maladies infectieuses*, **38**(10), 557–558.

Aguilar-Galvez, A., Dubois-Dauphin, R., Destain, J., Campos, D., Thonart, P. 2012. Les entérocoques : avantages et inconvénients en biotechnologie (synthèse bibliographique). *Biotechnol Agron Soc Environ*, **16**(1), 10.

Arias, C.A., Murray, B.E. 2012. The rise of the *Enterococcus*: Beyond vancomycin resistance. *Nature Reviews Microbiology*, **10**, 266–278.

B

Benno, Y., Suzuki, K., Narisawa, K., Bruce, W.R., Mitsuoka, T. 1986. Comparison of the fecal microflora in rural Japanese and urban Canadians. *Microbiology and Immunology*, **30**(6), 521-532.

Besnier, J.M., Guerout, T., Mion, P., Choutet, P., Leport, C. 1994. Aspects actuels des endocarditis à entérocoques. *Medecine et Maladies Infectieuses*, **24**(1), 90-177.

Bouraafa, N., Aba, 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. *Journal Global Antimicrobial Resistance*, **6**, 78-83.

Bourdon, N. 2011. Épidémiologie de la résistance aux antibiotiques chez les entérocoques en France. *Journal des Anti-infectieux*, **13**(1), 2-11.

Boussena, S. 2020. Manuel de travaux pratique de bactériologie. Université des frères Mentouri 1, Institut des Sciences Vétérinaires, Département de Productions Animales - Constantine, pp20.

C

- Carbonnelle, B., Denis, F., Marmonier, A., Pinon, G., Vargues, R. 1987.** Bactériologie médicale, techniques usuelles. SIMEP S.A. Paris, France. *Médecine et Maladies Infectieuses*, **1**, 15- 22.
- Carvalho, M., Steigerwalt, A., Morey, R., Shewmaker, P., Teixeira, L., Facklam, R. 2004.** Characterization of Three New Enterococcal Species, *Enterococcus sp.* nov. CDC PNS-E1, *Enterococcus sp.* nov. CDC PNS-E2, and *Enterococcus sp.* nov. CDC PNS-E3, Isolated from Human Clinical Specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, **42**(3), 1192-1198.
- Cattoir, V., Leclercq, R. 2010.** Les entérocoques résistants aux glycopeptides. *Medecine/Sciences*, **26**, 936-942.
- Celik, S., Cakirlar, F.K., Torun, M.M. 2014.** Presence of vancomycin aminoglycosides, and erythromycin resistance genes in *Enterococci* isolated from clinical samples in Turkey. *Clinical Laboratory*, **60**(11), 1801–1806.
- Cesar, A., Murray, E. 2013.** The rise of the *Enterococcus*: beyond vancomycin resistance. *Nature Reviews Microbiology*, **10**(4), 266–278.
- Chow, J., Thal, L., Perri, M., Vazquez, J., Donabedian, S., Clewell, D. 1993.** Plasmid-associated hemolysin and aggregation substance production contribute to virulence in experimental enterococcal endocarditis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **37**(11), 2474-2477.

D

- Daoudi, Y., Daoudi, S. 2018.** Effet des milieux de culture sur la zone d'inhibition des antibiogrammes des souches : *Escherichia coli* HO25, *Pseudomonas aeruginosa* HO80 et *Staphylococcus aureus* HO90, Life and Earth Sciences, Mémoire de Master, 11.
- Deibel, R., Lake, D., Niven, C. 1963.** Physiology of the enterococci as related to their taxonomy. *Journal of Bacteriology*, **86**, 1275–1282.
- Del Papa, M., Hancock, L., Thomas, V., Perego, M. 2007.** Full Activation of *Enterococcus faecalis* Gelatinase by a C-Terminal Proteolytic Cleavage. *Journal of Bacteriology*, **189**(24), 8835-8843.
- Demoré, B., Grare, M., Duval, R. 2018.** Généralités sur les antibiotiques par voie systémique et principes d'utilisation. Pharmacie clinique et thérapeutique. Elsevier Masson, **1**(5), 762.
- Denis, F., Ploy, M., Martin, C., Bengen, E., Qentin, R. 2011.** Bactériologie médicale, techniques usuelles. Elsevier Masson, **2**, 27, 181, 587.

Devriese, L.A., Baele, M., Butaye, P. 2006. The genus *Enterococcus*: Taxonomy, In: Prokaryotes, **3**(4), 74-75.

E

Eaton, T., Gasson, M. 2001. Molecular Screening of *Enterococcus* Virulence Determinants and Potential for Genetic Exchange between Food and Medical Isolates. *Applied and Environmental Microbiology*, **67**(4), 1628-1635.

F

Fisher, K., Phillips, C. 2009. The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. Microbiology. *National Library of Medicine*, **155**(6), 1749-1757.

Flahaut, S., Boutibonnes, P., Auffray, Y. 1997. “Enterococci in human environment”. *Canadian Journal of Microbiology*, **43**, 699–708.

Franz, C., Holzapfel, W., Stiles, M. 1999. Enterococci at the crossroads of food safety. *Journal. Food. Microbiology*, **47**(1-2), 1-24.

Francois, N., Mainardi, J. 1998. *Enterococcus faecalis* : Aspects bactériologique, épidémiologique et thérapeutique. *Feuilles Biology*, **39**(220), 21-26.

G

Galvez, A.A., Dubois-Dauphin, R., Destain, J., Campos, D., Thonart, P. 2012. Les entérocoques : avantages et inconvénients en biotechnologie. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*, **16**(1), 67-76.

Gillespie, S. 2006. Principles and Practice of Clinical Bacteriology, John Wiley and Sons. *National Library of Medicine*, **2**, 617.

Gilmore, M.S., Lebreton, F., Van Schaik, W. 2013. Genomic transition of enterococci from gut commensals to leading causes of multidrug-resistant hospital infection in the antibiotic era. *Current Opinion in Microbiology*, **16**(1), 6-10.

Gordon, S., Swenson, J., Hill, B., Pigott, N., Facklam, R., Cooksey, R., Thornsberry, C., Jarvis, W., Tenover, F. 1992. Antimicrobial susceptibility patterns of common and unusual species of enterococci causing infections in the United States. Enterococcal Study Group. *Journal of Clinical Microbiology*, **30**, 2373–2378.

Giridhara Upadhyaya, P., Ravikumar, K., Umapathy, BL. 2009. Review of virulence factors of *enterococcus*: an emerging nosocomial pathogen. *Indian Journal of Medical Microbiology*, **27**(4), 301-305.

H

Hayes, J., English, L., Carter, P., Proescholdt, T., Lee, K., Wagner, D., White, D.

2003. Prevalence and antimicrobial resistance of *Enterococcus* species isolated from retail meats, *Applied and Environmental Microbiology*, **69**, 7153–7160.

Horaud, T., Bouguenec, C. 1989. *Streptococcaceae* : Genre *Enterococcus*, Dans : Bactériologie Médicale, Le MINOR L., VERON M., Paris, Flammarion. *Epidemiology and infection*, **2**, 825-828.

Huycke, M., Spiegel, C., Gilmore, M. 1991. Bacteremia caused by hemolytic, high-level gentamicin-resistant *Enterococcus faecalis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **35**(8), 1626-1634.

J

Jarlier, V. 2019. La transmission croisée dans la résistance aux antibiotiques : son contrôle dans les hôpitaux français. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*, **203**, 170-178.

Jett, B., Huycke, M.M., Gilmore, M. 1994. Virulence of enterococci. *Clinical Microbiology*, **7**, 462-478.

Jones, R., Marshall, S., Pfaller, M., Wilke, W., Hollis, R., Erwin, M., Edmond, M., Wenzel, R. 1997. Nosocomial enterococcal blood stream infections in the SCOPE program: Antimicrobial resistance, species occurrence, molecular testing results, and laboratory testing accuracy. SCOPE hospital study group. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, **29**, 95–102.

Jolivet, S., Fines-Guyon, M., Nebbad, B., Merle, J., Pluart, D., Brun-Buisson, C., Decousser, J., Cattoir, V. 2016. First nosocomial outbreak of vanA-type vancomycin resistant *Enterococcus raffinosus* in France. *The Journal of Hospital Infection*, **94**, 346–350.

K

Kapoor, L., Randhaw, V.S., Deb, M. 2005. Antimicrobial resistance of enterococcal blood isolates at a pediatric care hospital in India. *Japanese Journal of Infectious*, **58**(2), 101-103.

Kayaoglu, G., Orstavik, D. 2004. Virulence Factors of *Enterococcus faecalis*: Relationship to Endodontic Disease. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, **15**(5), 308- 320.

Kayser, F. 2003. Safety aspects of enterococci from the medical point of view. *International Journal of Food Microbiology*, **88**(2-3), 255-262.

Kiruthiga, A., Padmavathy, K. 2020. Mechanisms of intrinsic antibiotic resistance in enterococci. *Drug Invention Today*, **13**(6), 896-902.

Klein, G. 2003. Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastrointestinal tract. *International Journal of Food Microbiology*, **88**, 123-31.

Köhler, W. 2007. The present state of species within the genera *Streptococcus* and *Enterococcus*. *International Journal of Medical Microbiology*, **3**, 133-150-297.

Kristich, C., B.RICE, L., ARIAS, C. 2020. Enterococcal Infection Treatment and Antibiotic Resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **56**(4), 2022–2027.

Kuhn, I., Iversen, A., Finn, M., Greko, C., Burman, L.G., Blanch, A.R., Vilanova, X., Manero, A., Taylor, H., Caplin, J., Domínguez, L., Herrero, I.A., Moreno, M.A., Möllby, R. 2005. Occurrence and relatedness of vancomycin-resistant enterococci in animals, humans, and the environment in different European regions. *Environmental Microbiology*, **71**(9), 5383-5390.

M

Magill, S., Edwards, J., Bamberg, W., Beldavs, Z., Dumyati, G., Kainer, M., Lynfield, R. 2014. Multistate point-prevalence survey of health care–associated infections. *The New England Journal of Medicine*, **370**, 1198–1208.

Miller, W., Munita, J., Arias, C. 2014. Mechanisms of antibiotic resistance in enterococci. Expert Review of Anti-infective Therapy. *National Library of Medicine*, **12**(10), 1221-1236.

Matuszewski, C. 2009. Evaluation de la carte Vitek® 2 ANC pour l'identification des bactéries anaérobies et des corynébactéries d'intérêt médical. Thèse de Doctorat. Université Henri Poincaré -Nancy I-France, 111.

Mohanty, S., Behera, B. 2022. Antibioqram Pattern and Virulence Trait Characterization of *Enterococcus* Species Clinical Isolates in Eastern India: A Recent Analysis. *Journal of Laboratory Physicians*. The Indian Association of Laboratory Physicians, **14**, 3.

Mohamed, J., Huang, D. 2007. Biofilm formation by enterococci. *Journal of Medical Microbiology*, **56**(12), 1581–1588.

Mundt, J., Coggin, J., Johnson, L. 1962. Growth of *Streptococcus faecalis* var. liquefaciens on plants. *Applied Microbiology*, **10**, 552–555.

Murray, B. 1990. The Life and Times of the *Enterococcus*. *Clinical Microbiology Reviews*, **3**(1), 46-65.

N

Noble, C.J. 1978. Carriage of group D streptococci in the human bowel. *Journal of Clinical Pathology*, **31**, 1182-1186.

O

O'Driscoll, T., Crank, C. W. 2015. Vancomycin-resistant enterococcal infections: epidemiology, clinical manifestations, and optimal management. *Infection and Drug Resistance*, **8**, 217, 230.

Ohno, A., ishii, Y., Yamaguchi, K. 2007. Regulation mechanism of glycopeptide resistance expression. *National Library of Medicine*, **55**(5), 06-12.

Olawale, K., Fadiora, S., Taiwo, S. 2020. Prevalence of hospital acquired enterococci infections in two primary-care hospitals in Osogbo, Southwestern Nigeria. *African Journal of Infectious Diseases*, **5**(2), 40-46

Ouedraogo, W.P. 2020. Détection de la résistance à la vancomycine par mise en évidence d'une activité D-Ala-D-Ala dipeptidase. *Médecine humaine et pathologie*, **1**, 15-17.

P

Pinkston, K., Singh, K., Gao, P., Wilganowski, N., Robinson, H., Ghosh, S. 2014. Targeting Pili in Enterococcal Pathogenesis, *Infection and Immunity*, **82**(4), 1540-7.

Q

Quincampoix, J., Mainardi, J. 2001. Mécanismes de résistance des cocci à Gram positif. *Reanimation*, **10**(3), 267-275.

R

Rahmoun, M. 2021. Caractérisation De Souches d'*Enterococcus Sp.* Et Etude De Leur Antibiorésistance. Isolées Du Centre Hospitalo Universitaire De Tlemcen, these en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en sciences Option microbiologie, Université Abou Bekr Belkaïd, tlemcen, pp47.

Rice, L. 2012. Antimicrobial resistance in Gram-positive bacteria. *American Journal of Infection Control*, **34**, 11-19.

Rice, L., Bellais, S., Carias, L., Hutton-Thomas, R., Bonomo, R., Caspers, P., Gutmann, L. 2004. Impact of specific Penicillin-Binding Protein 5 mutations on expression of beta-lactam resistance in *Enterococcus faecium*. *Antimicrob Agents Chemother*, **48**, 3028–3032.

Reissier, S. 2016. Daptomycine et infections sévères à entérocoques. *Journal des Anti-infectieux*, **18**(4), 177-181.

S

Sava, G., Heikens, E., Huebner, J. 2010. Pathogenesis and immunity in enterococcal infections. *Clinical Microbiology and Infection*, **16**(6), 533–540.

Schleifer, K.H., Kilpper-Bälz, R. 1984. Transfer of *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* to the genus *Enterococcus* nom. rev. as *Enterococcus faecalis* comb. nov. and *Enterococcus faecium* comb. Nov. *International. Journal. System. Bacteriol*, **34**, 31-34.

Schloissnig, S., Arumugam, M., Sunagawa, S., Mitreva, M., Tap, J., Zhu, A., Waller, A. 2013. Genomic variation landscape of the human gut microbiome. *National Library of Medicine*, **493**(7430), 45–50.

Sghir, A., Gramet, G., Suau, A., Rochet, V., Pochart, P., Dore, J. 2000. Quantification of bacterial groups within human fecal flora by oligonucleotide probe hybridization. *Applied and Environmental Microbiology*, **66**(5), 2263-2266.

Stucki, K., Harbarth, S., Nendaz, M. 2014. Infections à entérocoques : du plus simple au plus complexe. *Articles Thématiques : Médecine Interne Générale*, **10**, 1918-23.

T

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. *Journal Medicine Resistane*, **119**, 72-74.

Thairu, Y., Nasir, I.A., Yahaya, U. 2014. Laboratory perspective of Gram staining and its significance in investigations of infectious diseases. *Sub-Saharan African Journal of Medicine*, **1**(4), 168-174.

V

Vancanneyt, M., Haesebrouck, F., Graef, E., Lefebvre, K., Baele, M., Devriese, L. 2004. Description of *Enterococcus canis* sp. nov. from dogs and reclassification of *Enterococcus porcinus* Teixeira, as a junior synonym of *Enterococcus villorum* Vancanneyt. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **54**(4), 1423-1423.

Van Tyne, D., Gilmore, M., Friend Turned, F. 2014. Evolution of Enterococcal Virulence and Antibiotic Resistance. *National Library of Medicine*, **68**(1), 337-356.

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. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **7**(5), 337-339.

Wierzchowska, W., Zadernowska, A., Trokenheim, L. 2017. Virulence factors of *Enterococcus spp.* presented in food. *Food Science and Technology*, **75**, 670-676.

Y

Yousfi, S. 2020. Enquête sur les entérocoques (*E. faecalis* et *E. faecium*) et l'étude de leur résistance aux antibiotiques dans la région de Tizi-Ouzou. Thèse de Doctorat. Spécialité Epidémiologie Appliquée à la Santé Animale. Institut des Sciences Vétérinaires. Université Saad Dahleb de Blida. PP8.

Annexes

Annexe 1 : Matériel utilisé au laboratoire de microbiologie.**Tableau A** : Matériels utilisé au laboratoire de microbiologie.

Matériels utilisés	Verreries	Milieux de culture	Réactifs	Appareillages
Bec Bunsen	Tubes à essai	Gélose au sang frais	Bouillon BGT	Etuve (37°C)
Poire	Pipettes pasteur	Milieu chromogène	Bouillon BHIB	Microscope optique
Ance platine	Anses à boucle	milieu BEA (bile-esculine-azide)	Eau physiologique et eau oxygéné	Chambre froide (3°C)
Pince et écouvillons stériles	Lames et lamelles	Milieu Mueller-Hinton	Disques d'oxydase	Vitek
			GALERIE API® 20 Strep	
Disques d'antibiotique			Huile à immersion	
Campesses			Violet de Gentiane et alcool	
Eau de javel			Lugol et Fuschine	

Annexe 2 : Protocole Coloration de Gram

1. Réaliser un frotti
2. Coloration par le violet de gentiane pendant une minute puis rincer à l'eau
3. Mordançage au lugol pendant une minute
4. Décoloration (rapide) à l'alcool : sur la lame inclinée pendant 15 secondes
5. Recoloration à la fuchsine, pendant 1 minute puis rincer à l'eau
6. Laisser la lame sécher
7. Observez la lame au microscope avec une goutte d'huile à immersion objectif 100 (grossissement $\times 1000$).

Annexe 3 : API® 20 Strep (BIOMETRIEUX)

1. Prendre une seule colonie isolée (à partir d'une culture pure) et préparer une suspension bactérienne dans 5ml d'eau distillée stérile.
2. Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide. Puis déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation
3. À l'aide d'une pipette pasteur remplir ces compartiments avec la suspension bactérienne
4. Ajouter de l'huile de vaseline dans les puits où le test se fait anaérobiose
5. Incuber le plateau à 37°C pendant 18 à 24 heures (Figure 2).
6. 6. Après incubation ajouter les réactifs nécessaires (à la TDA, IND et VP) afin d'effectuer la lecture .

Annexe 4 : Protocole pour l'antibiogramme manuel.

Un inoculum standardisé de bactéries (0,5 Mac Ferland) est étalé par écouvillonnage à la surface d'une boîte de gélose Mueller Hinton. Des disques de papier filtre imprégnés d'agents antimicrobiens sont déposés sur le milieuensemencé en différents endroits. La boîte Pétri sera ensuite incubée pendant 24 heures à 37°C. La lecture consiste à mesurer les diamètres d'inhibition de la culture autour de chaque disque manuellement, et de les comparer aux diamètres critiques donnés par Société Française de Microbiologie. Par la suite on classera les bactéries dans l'une des catégories résistant (R), sensible (S) ou intermédiaire (I) (AARN, 2020).

Annexe 5 : Antibiotiques à testés

Tableau B : Antibiotiques à testés

Antibiotique	Abréviation	Charge
Ampicilline	AM	10µg
Pénicilline	P	10µg
Céfotaxime	CTX	30µg
Oxacilline	OXA	5µg
Amoxicilline	AMX	25 µg
Gentamicine	GM	120 µg
Streptomycine	STR	300 µg
Erythromycine	E	15 µg
Pristinamycine	PT	15 µg
Furanes	F	300 µg
Tetracycline	TE	30 µg
Vancomycine	VA	30 µg
Teicoplanine	TEI	30 µg
Ciprofloxacin	CIP	5 µg
Lévofloxacin	LEV	5 µg
Rifampicine	RIF	5 µg
Fosfomycine	FOS	200 µg
Chloramphénicol	C	30 µg
Imipénème	IMP	10 µg

Annexe 6 : Protocole d'utilisation pour le dispositif Vitek 2.

- Matériel du dispositif
 - Automate Vitek 2
 - Ordinateur
 - Cassette Vitek
 - Carte Vitek
 - Tube
 - Micropipette
- Protocole
 1. Prendre des tubes secs pour Vitek, les introduire dans les puits de la cassette (pour un germe, deux tubes secs seront utilisés dont l'un servira à l'identification et l'autre à l'antibiogramme)
 2. Mettre dans chaque tube, 3ml de la solution saline du Vitek 2 à l'aide de la micropipette
 3. A partir de la culture pure sur gélose (culture jeune 24 h), à l'aide d'une anse, prélever quelques colonies et les introduire dans le tube sec contenant la solution saline, puis vortex. Avec un densitomètre, mesurer la concentration bactérienne à 0,5 McFarland
 4. Poser le tube contenant la suspension bactérienne en première position et faire suivre celui prévu pour l'antibiogramme
 5. Préparer la bonne carte Vitek (le germe à identifier peut-être Gram positif ou Gram négatif chaque type bactérien a une référence) et la mettre dans le tube d'identification, la languette dans le tube et la carte au niveau de l'espace prévu pour la cassette
 6. Pareil pour la carte de l'antibiogramme
 7. Mettre la cassette dans l'automate (dans le premier emplacement) pour que la suspension se transfère au niveau de la carte (à travers la languette), cette étape prend une dizaine de minutes
 8. Enregistrer les patients sur le logiciel
 9. L'automate vous préviendra de mettre la cassette dans le deuxième emplacement pour l'identification et l'antibiogramme. Ce test peut prendre de quelques heures à 24 heures, et les résultats seront enregistrés sur le logiciel.

Résumé

La diffusion de bactéries multi résistantes est un enjeu majeur de santé publique en Algérie et dans le monde entier. Bien que les entérocoques sont des bactéries opportunistes et faisant partie de la flore intestinale de l'homme, ces derniers peuvent profiter de certains facteurs et devenir pathogènes causant différentes infections difficiles à éradiquer. Cette étude statistique descriptive de 05 mois s'étalant du 1er Janvier jusqu'au 31 Mai 2023 consiste à étudier la répartition des infections à entérocoques et leur résistance aux antibiotiques au sein de différents service du CHU de Tizi-Ouzou. 80 souches obtenues indiquent que (45%) d'entérocoques ont été isolés à partir des pus suivi de (36,25%) d'origine urinaire, (16,25%) dans les hémocultures et (2,50%) dans les crachats. En outre les isolats montrent une nette prédominance des infections a entérocoques chez les adultes avec (83,75%) contre (16,25%) chez les enfants et (56.25%) chez les hommes alors que (43,75%) chez les femmes. Les souches *E. faecalis* représentent (35%) des souches isolées suivies de *E. faecium* (15%). Les souches *E. faecalis* isolées sont résistantes à la plupart des antibiotiques testés mais restent totalement sensibles à l'Imipénème et à la Doxycycline, on note une résistance modérée vis-à-vis de l'Amoxicilline (30%) et de l'Ampicilline (13,33%) Il est important de noter une résistance élevée à la Vancomycine avec (37,5%) et Teicoplanine avec (46,66%). par ailleurs les souches d'*E. faecium* isolés dans cette étude sont résistantes à la plupart des antibiotiques testés : Bétalactamines et Macrolides, à la Rifampicine, les Aminosides, Triméthoprim-Sulfaméthoxazole, on remarque également une résistance appréciable à la Vancomycine avec (16,66%), Teicoplanine (12,5%). Enfin, cette étude nous a permis de faire un état des lieux primaire dans la région de Tizi-Ouzou afin de prévenir l'émergence des entérocoques résistants à la vancomycine.

Mot clés : Entérocoques, antibiotiques, résistance bactérienne, sensibilité bactérienne

Abstract

The spread of multi-resistant bacteria is a major public health issue in Algeria and around the world. Although enterococci are opportunistic bacteria and part of the intestinal flora of humans, they can take advantage of certain factors and become pathogens causing various infections that are difficult to eradicate. This descriptive statistical study of 05 months spanning from January 1 to May 31, 2023 consists of studying the distribution of enterococcal infections and their resistance to antibiotics within different departments of the Tizi-Ouzou University Hospital. 80 strains obtained indicate that (45%) of enterococci were isolated from pus followed by (36.25%) of urinary origin, (16.25%) in blood cultures and (2.50%) in spitting. In addition, the isolates show a clear predominance of enterococcal infections in adults with (83.75%) against (16.25%) in children and (56.25%) in men while (43.75%) in women. *E. faecalis* strains represent (35%) isolated strains followed by *E. faecium* (15%). The isolated *E. faecalis* strains are resistant to most of the antibiotics tested but remain totally sensitive to Imipenem and Doxycycline, there is moderate resistance to Amoxicillin (30%) and Ampicillin. (13.33%) It is important to note a high resistance to Vancomycin with (37.5%) and Teicoplanin with (46.66%). Furthermore, the strains of *E. faecium* isolated in this study are resistant to most of the antibiotics tested: Beta-lactams and Macrolides, to Rifampicin, Aminosides, Trimethoprim-Sulfamethoxazole, there is also an appreciable resistance to Vancomycin with (16.66%), Teicoplanin (12, 5%). Finally, this study allowed us to make a primary inventory in the Tizi-Ouzou region in order to prevent the emergence of enterococci resistant to vancomycin.

Keywords: Enterococci, antibiotics, bacterial resistance, bacterial sensitivity