

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE.

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE.

UNIVERSITE SAAD DAHLAB - BLIDA 1 -

UNIVERSITE  
SAAD DAHLAB - BLIDA 1 -



FACULTE DE MEDECINE.

DEPARTEMENT DE PHARMACIE.

## **Portage digestif des entérocoques résistants à la vancomycine**

Mémoire de fin d'études

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie

Session : juin 2016.

Présenté par :

Azi Nacera  
Feraoun Ferial  
Gueddouri Chafia

Devant :

Présidente de jury:

Dr Berouakene Samira, Maitre assistante en Microbiologie;  
laboratoire central de Biologie Médicale-unité Frantz Fanon CHU Blida.

Examinatrices:

- Dr Bouchrih Djahida, Maitre assistante en Microbiologie; service des bactéries anaerobies et du botulisme-Institut Pasteur d'Alger.
- Dr Hamrouch Saoussen, Maitre assistante en Microbiologie ; service des bactéries anaerobies et du botulisme-Institut Pasteur d'Alger.

Promotrice:

Dr Oukid Samira, Maitre assistante en Microbiologie ; laboratoire central de Biologie Médicale-unité Hassiba Ben Bouali CHU Blida.



## Remerciements

Ce mémoire n'aurait pas pu être réalisé sans la contribution de nombreuses personnes que nous tenons à remercier par ces quelques lignes.

Nos remerciements s'adressent d'abord, aux jurys **Dr S. Berouaken, Dr Dj. Boucherih et Dr S. Hamrouche**. Nous vous prions de bien vouloir recevoir le témoignage de notre profond respect.

Un tout grand merci à notre promotrice **Dr S. Oukid**, vous avez nous guidé dans la réalisation de ce travail malgré vos multiples occupations, toujours disponible, ces qualités vous ont valu l'estime de tous les étudiants et forcent l'admiration de tous.

Un grand merci aussi à **Ms Feraoun, Dr I. Chagrane, Md W. Djabi et Md F. Gueddouri**, pour votre aide a réalisé cette mémoire.

Nous avons gardé de bons souvenirs de vos enseignements. Soyez assuré de notre fidèle reconnaissance.

Merci à tous ceux qui d'une manière ou d'une autre ont contribué à la réalisation de ce travail, et que nous ne pouvons citer individuellement.

## Dédicaces

A mon cher père

Tes conseils m'ont suivi et m'ont permis d'atteindre le bout du chemin. Sois fier de moi aujourd'hui et vois à travers ce travail mon amour sincère et ma gratitude profonde.

A ma chère mère

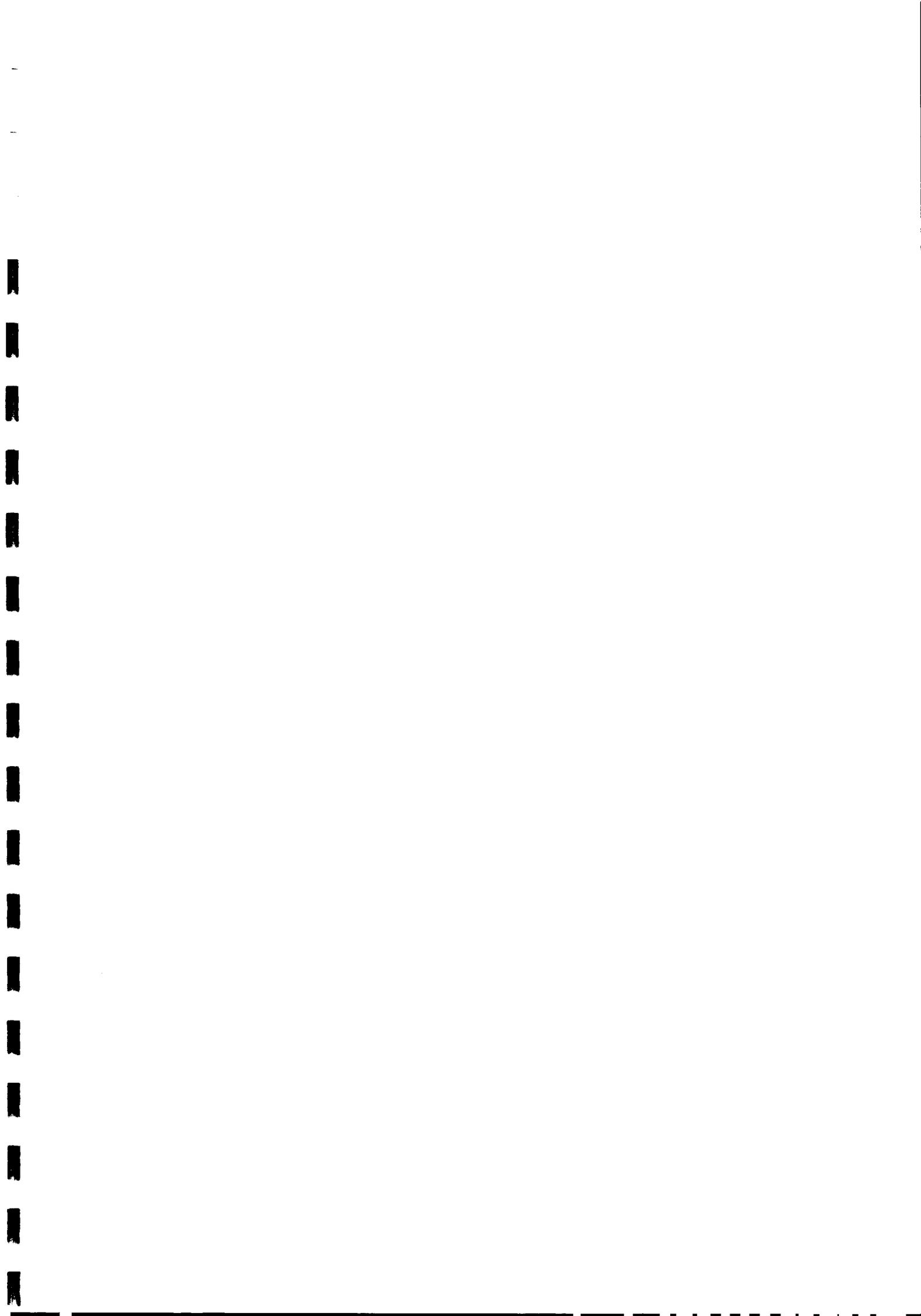
Ma douce et tendre mère. Quoique je fasse, je ne pourrais te rendre ce que tu as fait pour moi. Si je suis arrivée là, c'est bien grâce à toi. Que dieu te donne longue vie et te protège pour moi.

A mes chers frères et sœurs

J'ai beaucoup apprécié l'estime et l'amour fraternel que vous me portez. Que dieu vous préserve.

A toute ma famille.

A tous mes collègues des études, vous avez été pour moi durant ces années passées ensemble plus que des amis, des sœurs toute ma gratitude et ma sympathie pour tes soutien.



## Table des matières

Remerciements .....	I
Dédicaces.....	II
Liste des tableaux : .....	VI
Liste des figures : .....	VII
Abréviations : .....	VIII
Introduction : .....	1
Chapitre 1 : Généralités sur le genre entérocoque.....	2
1. Taxonomie .....	2
2. Caractères bactériologiques : .....	3
3. Le pouvoir pathogène : .....	4
4. Les facteurs de virulence : .....	4
Chapitre 2 : Entérocoque et vancomycine.....	6
1. La sensibilité des entérocoques aux antibiotiques .....	6
1.1. Définitions .....	6
1.1.1. Définition d'un antibiotique.....	6
1.1.2. Définition de la résistance.....	6
1.2. Mécanismes de la résistance d'entérocoque aux antibiotiques.....	7
2. La résistance acquise à la vancomycine.....	7
2.1. Historique.....	7
2.1.1. Généralité sur la vancomycine .....	7
2.1.2. Définition .....	7
2.1.3. Structure chimique .....	8
2.1.4. Mécanisme d'action .....	8
2.1.5. Pharmacocinétique .....	10
3. Mécanisme de résistance.....	10
4. Support génétique de la résistance (naturelle ou acquise) .....	12
5. La résistance aux autres antibiotiques.....	14
5.1. La résistance aux bêta-lactamines.....	14
5.1.1. Les pénicillines .....	14
5.1.2. Les céphalosporines .....	14
5.1.3. Monobactams.....	14
5.2. La résistance aux macrolides, lincosamides, streptogramines:.....	15
5.3. La résistance aux aminosides :.....	15

6. La détection des ERV au laboratoire .....	16
Chapitre 3 : Portage digestif des entérocoques résistants à la vancomycine .....	17
1. Situation épidémiologiques.....	17
1.1. En Algérie .....	17
1.2. Dans le monde .....	17
2. Les facteurs de risque de portage digestif dans un milieu hospitalier .....	18
2.1. Facteurs de risque liés au patient .....	18
2.2. Facteurs de risque liés à l'environnement du patient.....	18
3. La diffusion de l'entérocoque résistant à la vancomycine .....	19
4. Conséquences de l'antibiothérapie sur le portage digestif des ERV .....	19
5. Risques de portage digestif des entérocoques résistant à la vancomycine .....	20
5.1. Risques d'infection à ERV chez les patients colonisés au niveau digestif.....	20
5.2. Risque de transfert du gène de résistance de la vancomycine au <i>staphylococcus aureus</i> .....	20
6. Moyens de lutte contre la diffusion des ERV dans les unités hospitalières.....	21
6.1. Prise en charge des patients porteurs d'ERV.....	21
6.1.1. Les mesures à mettre en place dès le diagnostic d'une colonisation avec un ERV	21
6.1.2. Schéma résumant la prise en charge d'un patient porteur d'ERV (originale)	23
6.1.3. A domicile : .....	24
6.2. Mesures de préventions à suivre .....	24
6.3. La formation et l'information .....	25
6.4. Antibiotique à proscrire chez les porteurs d'ERV .....	25
Partie 2 : Partie pratique .....	28
1. Objectifs.....	28
2. Type de l'étude .....	28
3. Lieu et période de l'étude .....	28
4. Matériel et méthode : .....	28
4.1. Matériels .....	28
4.1.1. Population cible .....	28
4.1.2. Les services inclus dans notre étude .....	29
4.2. Méthode .....	29
4.2.1. Prélèvement .....	29
4.2.2. Fiche de renseignement .....	30

4.2.3. Protocole d'étude .....	30
4.3. Identification d'espèce .....	36
4.4. Etude de la sensibilité .....	36
4.4.1. Antibiogramme standard.....	36
5. Résultats .....	37
5.1. La prévalence des entérocoques résistants à la vancomycine.....	37
5.2. La prévalence des cultures positives.....	37
5.3. La répartition des cultures positives .....	38
5.3.1. Répartition des cultures positives selon l'établissement et les services .....	38
5.3.2. Répartition des cultures positives selon les caractéristiques des patients.....	41
5.3.3. La répartition des espèces isolées .....	47
5.4. L'étude de sensibilité .....	49
Discussion.....	51
Conclusion.....	53
Références bibliographiques .....	53
Résumé .....	669

**Liste des tableaux :**

Tableau 1 : Le pourcentage des cultures positives sur milieu gélose nutritive additionnée de 4 mg de vancomycine, 1 mg de CTX et une goutte de fungisone.....	37
Tableau 2: La répartition des cultures positives selon les établissements .....	38
Tableau 3 : La répartition des cultures positives selon les services.....	39
Tableau 4: La répartition des cultures positives selon l'âge. ....	41
Tableau 5 : La répartition des cultures positives selon le sexe.....	42
Tableau 6 : La répartition des cultures positives selon la durée d'hospitalisation. .....	44
Tableau 7 : La répartition des cultures positives selon la prise d'antibiotique.....	45
Tableau 8 : La répartition des cultures positives selon l'espèce.....	46
Tableau 9 : La répartition des espèces selon service. ....	47
Tableau 10 : La répartition des espèces selon l'âge des patients.....	48
Tableau 11 : Nombre des Entérocoques résistants aux antibiotiques : rythromycine, qlinopristine-daflipristine, gentamycine, chloramphenicol. ....	49

## Tables des figures :

Figure 1 : Structure chimique de la vancomycine (46).....	8
Figure 2 : Mode d'action de la vancomycine (originale). ....	9
Figure 3 : Mécanisme de résistance des entérocoques à la vancomycine (46).....	11
Figure 4 : Résistance chez les entérocoques.....	13
Figure 5 : Répartition schématique du transfert de gene 1546 d' <i>Enterococcus faecalis</i> à <i>S.aureaus</i> (16).....	21
Figure 6 : Les boîtes et les écouvillons utilisés pour le prélèvement (originale). ....	29
Figure 7 : La conservation des prélèvements dans des épindorphes (originale). ....	30
Figure 8 : Tubes d'eau physiologique stérile + La vancomycine 500 mg. (Originale).....	31
Figure 9 : La peser de 800 mg de vancomycine et 100 mg de CTX à l'aide d'une balance a précision (originale).....	32
Figure 10 : Milieux gélose additionnée de 4 mg de vancomycine, 1 mg de CTX et d'une goutte de fungisone (originale).....	33
Figure 11 : Entérocoque sur le milieu GN + Vancomycine 4mg/l + CTX 1mg/l + Une goutte de Fungisone. (Originale).....	34
Figure 12 : Frotti réalisé par coloration de Gram (originale) .....	35
Figure 13 : Test de catalase (originale).....	35
Figure 14 : Le pourcentage des cultures positives sur milieu gélose nutritive additionnée de 4 mg de vancomycine, 1 mg de CTX et une goutte de fungisone.....	37
Figure 15 : La répartition des cultures positives selon l'établissement.....	38
Figure 16 : Le pourcentage des cultures positives selon l'établissement.....	39
Figure 17 : La répartition des cultures positives selon les services.....	40
Figure 18 : Le pourcentage des cultures positives selon les services.....	40
Figure 19 : La répartition des cultures positives selon l'âge.....	41
Figure 20 : Le pourcentage des cultures positives selon l'âge.....	42
Figure 21 : La répartition des cultures positives selon le sexe.....	43
Figure 22 : Le pourcentage des cultures positives selon le sexe.....	43
Figure 23 : La répartition des cultures positives selon la durée d'hospitalisation.....	44
Figure 24 : Le pourcentage des cultures positives selon la durée de séjour.....	44
Figure 25 : La répartition des cultures positives selon la prise d'antibiotique.....	45
Figure 26 : Le pourcentage des cultures positives selon la prise d'antibiotique.....	46
Figure 27 : La répartition des cultures positives selon l'espèce.....	47
Figure 28 : La répartition des espèces selon service.....	48
Figure 29 : La répartition des espèces selon l'âge des patients.....	49
Figure 30 : Nombres des souches d'Entérocoque résistantes aux erythromycine, qlinopristine-daflipristine, gentamycine, chloramphenicol.....	50

**Abréviations :**

**ATB** : Antibiotique.

**BHIB** : Bouillon Cœur Cerveau.

**BMR** : Bactérie Multi Résistante.

**CCLIN** : Comité de Lutte Contre les Infections Nosocomiales.

**CCI** : Centre de Chirurgie Infantile.

**CHU** : Centre Hospitalo –Universitaire.

**CLSI** : Clinical Laboratory Standards Institut.

**CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice.

**CTILNS** : Comité Technique des Infections Nosocomiales et des Infections Liées aux Soins

**C3G** : Céphalosporine de 3eme Génération.

**EPH** : Etablissement public hospitalier.

**ERG** : Entérocoque Résistant aux Glycopeptides.

**ERV** : Entérocoque Résistant à la Vancomycine.

**GN** : Gélose Nutritive

**IPA** : Institut Pasteur d'Alger.

**LPS** : Lipopolysaccharide.

**MF**: Mac Fallon.

**MH**: Muller Hinton.

**MLS** : Macrolides-Lincosamides-Streptogramines.

**PHA** : Produit hydro-alcoolique.

**PLP** : Protéines de Liaison aux Pénicillines.

**Pyr** : 1-Pyrrolidonyl-3-Naphthylamide.

**SA** : Substance d'Agrégation

**SARM** : *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méricilline.

**VRSA** : Van A-type Vancomycin-Résistant *Staphylococcus aureus*.

# Introduction

## Introduction :

Parmi les antibiotiques hospitaliers usuels, les glycopeptides prennent une place majeure dans le traitement des infections à bactéries gram positif résistantes aux pénicillines. La vancomycine en est le chef de file. Cette molécule a été largement prescrite ces 20 dernières années en lien avec l'émergence de souches de *staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) et d'infections à *Clostridium difficile*. Parallèlement, l'avoparcine autre glycopeptide, était largement utilisé dans l'élevage de volailles, la situation qui a favorisée l'apparition des souches résistantes aux glycopeptides. En 1987, le premier cas d'infection par un entérocoque résistant à la vancomycine (ERV) était rapporté en France puis ensuite au Royaume-Uni. Depuis, il a été constaté une augmentation de l'incidence des infections à ERV. En conséquence de ces infections, les ERV contribuent à une augmentation de la mortalité hospitalière (mortalité attribuable entre 17 et 30 % selon les études) et à un allongement non seulement de la durée de séjour mais également des coûts de prise en charge (6).

Autre danger : il persiste un taux élevé de *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM) dans les hôpitaux. La présence concomitante d'ERV et de SARM expose au risque de voir émerger des SARM résistants à la vancomycine par transfert du gène de résistance Van A, conduisant là encore à une impasse thérapeutique mais cette fois avec une bactérie beaucoup plus fréquemment pathogène que l'ERV. Ce phénomène a déjà été observé plusieurs fois aux États-Unis et au Japon (43 ; 45).

Il apparaît donc indispensable de lutter contre la diffusion des ERV le nombre d'antibiotiques restant actifs sur cette bactérie étant limité. Alors pour pouvoir maîtriser sa diffusion et son émergence il est nécessaire de déterminer les réservoirs et savoir les contrôler, les porteurs asymptomatiques une source et grand menace. Bien que généralement, la proportion des patients colonisés qui développent une infection à ERV soit faible, la facilité de dissémination d'ERV et le grand pouvoir à persister dans les milieux hospitaliers est telle qu'en absence de mesures de prévention efficaces, les impacts cliniques peuvent être considérables. Les coûts engendrés par la présence d'ERV dans un milieu de soins sont proportionnels à l'endémicité qu'on y retrouve.

Suite à ce fléau grandissant et qui devient de plus en plus inquiétant, nous avons jugé opportun de faire l'étude de portage digestif des entérocoques résistants à la vancomycine dans les différents établissements à fin de :

1. Principalement :
  - Proposer une technique de dépistage de portage digestif d'ERV ;
  - Déterminer une prévalence de portage digestif d'ERV.
2. Secondairement :
  - Décrire les espèces d'ERV ;
  - Etudier la résistance aux autres antibiotiques ;
  - Etudier les facteurs de risques de portage digestif d'ERV.

# Partie théorique

## Chapitre 1 : Généralités sur le genre entérocoque

### 1. Taxonomie

Le genre *Enterococcus* est reconnu depuis 1899 ; Thiercelin utilisa ce terme afin de décrire l'observation de bactéries en paire ou en courtes chaînes dans les fèces humaines (10). Sa taxonomie et son écologie ont été révisées par Klein en 2003.

Plusieurs tentatives ont été effectuées afin de distinguer les espèces *Enterococcus* de celles des *Streptococcus*. En 1937, Sherman a classé les espèces *Streptococcus* en quatre sous-groupes : les streptocoques fécaux (Entérocoques), les streptocoques du lait, le groupe *viridans* ( $\alpha$ -hémolytiques) et les streptocoques pyogènes ( $\beta$ -hémolytiques) (1).

Le terme « *Streptocoques fécaux* » (Entérocoques) utilisé par Sherman (1937), servait à décrire les streptocoques pouvant croître à 10 °C et 45 °C, en bouillon avec un pH de 9.6 et contenant 6.5% de NaCl, et pouvant survivre à une température de 60°C pendant 30 minutes. Sherman a également noté que les entérocoques incluait les streptocoques du groupe D de lance Field et a suggéré la possibilité de différencier ces derniers par réactions hémolytiques et protéolytiques (10) . Les méthodes traditionnelles telles que le biotypage, le sérotypage et le typage phagique ne permettaient pas de déterminer quelles espèces de streptococcus faisaient parties du genre *Enterococcus*(6). En 1984, grâce à l'utilisation de techniques d'hybridation à ADN et de séquençage de l'ARNr 16 s, il a été établi que les espèces *Streptococcus faecium* et *Streptococcus faecalis* étaient suffisamment distinctes des autres streptocoques afin de désigner un nouveau genre (2).

Plusieurs espèces ont été transférées du groupe streptocoque au groupe entérocoque. Le genre *Enterococcus* inclut actuellement plus d'une trentaine d'espèces (29 ; 5) dont les plus isolées sont : *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium*.

La composition de la microflore intestinale peut être modifiées particulièrement suite à un traitement aux antibiotiques de par l'augmentation des bactéries anaérobies facultatives. Parmi les bactéries entériques, les entérocoques sont celles étant retrouvés en plus grand nombre chez un individu traité aux antibiotiques (3).

#### Classification

Règne : *Bacteria*

Division : *Firmicutes*

Classe : *Bacilli*

Ordre : *Lactobacillales*

Famille : *Enterococcaceae*

Genre : *Enterococcus*

## 2. Caractères bactériologiques :

Les entérocoques sont des cocci à gram positif, anaérobies facultatifs. Ils sont très proches morphologiquement des streptocoques. En effet, ils prennent typiquement le même aspect de diplocoques (prélevés sur un milieu liquide) ou de courtes chainettes, leur morphologie ne permet donc pas de les distinguer avec certitude d'autres genres de la famille des *Streptococcaceae*, en particulier les genres *Leuconostocus*, *Pediococcus*, et *Peptostreptococcus*.

Malgré quelques exceptions, les entérocoques sont capables de survivre à des conditions hostiles : culture à 10°C et 40°C, voire même survie à 60°C pendant au moins 30 minutes, mais aussi en présence de 40 % de bile, à pH= 9,6 ou en présence de NaCl à 6,5% (propriété halophile). Ils ne produisent généralement pas de catalase, sont capables d'hydrolyser la l-pyrrolidonyl-3-naphthylamide (Pyr) (3) et l'esculine, cette dernière propriété étant liée à la présence d'une  $\beta$ -glucosidase. La capacité des entérocoques à se multiplier en présence de bile et à hydrolyser l'esculine explique la formation d'un halo noir autour des colonies sur gélose bile-esculine. Cependant, ces propriétés sont également présentes chez les streptocoques du groupe d comme *Streptococcus gallolyticus* et *Streptococcus equinus*. Les entérocoques sont généralement  $\alpha$ - ou nonhémolytiques, mais certaines espèces peuvent être  $\beta$ -hémolytiques selon les conditions de culture (4).

Les entérocoques ont un antigène de paroi les classant dans le groupe D de la classification de lancefield dans 80% des cas, plus rarement un antigène du groupe Q (8). Cette propriété n'est pas spécifique, l'antigène D existe également chez les streptocoques, par exemple *Streptococcus gallolyticus* et *Streptococcus equinus*. En pratique, pour distinguer les streptocoques du groupe D des entérocoques, le test le plus discriminant est la production de pyrrolidonylarylamidase. Cette propriété est en effet partagée par tous les entérocoques, les genres *Aerococcus*, *Gemella*, et quelques streptocoques mais pas par ceux du groupe D (4).

L'identification au rang d'espèce est basée sur des caractères cultureux, biochimiques et antigéniques. Les caractères les plus discriminants sont la production d'acétoïne, l'hydrolyse de l'arginine, la fermentation des polyalcools et polysaccharides (mannitol, sorbitol, l-arabinose, d-raffinose, saccharose, lactose), alors que le caractère protéolytique est généralement moins étudié (4).

### 3. Le pouvoir pathogène :

Le pouvoir pathogène des entérocoques reste controversé. En effet, à côté de situations pathologiques indéniables (pyélonéphrites, endocardites, méningites), l'isolement d'un entérocoque dans un prélèvement pluri-bactérien pose souvent un problème d'interprétation ainsi, (12) ils ont estimé qu'au moins 1/3 des souches isolées au laboratoire correspondaient plus à une colonisation qu'à une infection symptomatique. Les études expérimentales dans plusieurs modèles animaux (infections urinaires par voie rétrograde ou par voie hématogène, infections cutanées, translocation bactérienne intestinale, bactériémie ont démontré la faible pathogénicité des entérocoques par rapport à celles des staphylocoques, des entérobactéries ou des bacilles pyocyaniques (2 ; 15 ; 30).

Les infections communautaires à entérocoques sont essentiellement dues à *Entérocooccus faecalis* (80 à 90% des cas) et à *Entérocooccus faecium* (5 à 10 % des cas). Il s'agit principalement d'infections urinaires basses, de pyélonéphrites, de bactériémies et d'endocardites (10 ; 29 ; 8).

### 4. Les facteurs de virulence :

Bien que la pathogénicité des entérocoques soit discutée dans certaines situations, de nombreux facteurs de virulences ont été décrits (25). Les entérocoques ne sont pas des bactéries très virulentes par rapport aux autres cocci à gramme positif tel que staphylocoques et pneumocoques si l'on considère la définition de la virulence par la quantité de bactéries capable de tuer 50 % des animaux (dose létale 50) (30).

Les facteurs de virulence permettent la colonisation et l'invasion des tissus ainsi que la perméabilisation des cellules épithéliales contournant ainsi les défenses immunitaires de l'hôte (13). La production de substances d'agrégation, la production de cytolysine (bactériocine) et les activités enzymatiques sont les facteurs de virulence les plus étudiés chez les entérocoques.

La substance d'agrégation (SA) est une glycoprotéine codée par le gène plasmidique *agg* régulé par des phéromones. Ces dernières favorisent le lien à des récepteurs de la surface des eucaryotes et facilitent le transfert des plasmides. La présence de sa dans les souches peut conduire à l'accroissement de la capacité de colonisation (14).

La cytolysine ou  $\beta$ -hémolysine est le facteur de virulence le plus étudié. Cette toxine peptidique lyse les cellules en générant des pores dans la membrane cellulaire. La production de cytolysine semble être un facteur de risque important lié aux entérocoques pathogènes, ce mécanisme de lyse étant une stratégie bactérienne pour contourner les réactions immunitaires chez l'hôte (24). Les gènes de cytolysine sont souvent portés par des plasmides et régulés par des phéromones. La fréquence de mortalité causée par une infection par entérocoque  $\beta$  hémolytique est cinq fois supérieure à celle observée par une infection à entérocoques non  $\beta$  hémolytiques (17).

Les autres facteurs sont les enzymes hydrolytiques produites telles que la hyaluronidase, la gélatinase et la sérine protéase (18). La hyaluronidase est une enzyme qui dégrade l'acide hyaluronique, constituant majeur de la matrice extracellulaire des cellules animales (30). La gélatinase produite par le gène *gel* est l'un des facteurs de virulence largement étudié chez

*Enterococcus faecalis* (24) : il s'agit d'une znmétalloprotéase, capable d'hydrolyser la  $\beta$  insuline, la gélatine, le collagène, la caséine, l'hémoglobine et d'autres 27 peptides biologiquement actifs (18,24). 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 (24) notamment en présence d'antibiotiques. En plus de la formation du biofilm, le gène code pour une protéine associée à la paroi bactérienne qui est impliqué dans l'échappement immunitaire.

De par leur capacité à s'échanger du matériel génétique entre genres et espèces différentes, les entérocoques sont susceptibles d'être vecteurs de virulence ou de résistance aux antibiotiques (21 ; 6) .

- Entre entérocoques, le principal mécanisme décrit est un transfert de plasmides en réponse à une sécrétion de phéromones. Le contact nécessaire à la conjugaison entre 2 entérocoques, le « donneur » et le « receveur », se fait par l'intermédiaire d'une protéine appelée substance d'agrégation. Le nom donné aux phéromones provient du plasmide dont elles induisent spécifiquement le transfert, l'exemple le mieux décrit étant celui de la phéromone cad1 induisant le transfert du plasmide pad1 (6 ; 7) ;
- Les échanges de matériel génétique avec des bactéries d'un autre genre sont moins fréquents (21 ;7) . Ils s'effectuent soit par transfert de plasmides peu spécifiques entre bactéries à gram-positif, par exemple le plasmide pam  $\beta$ 1, ce transfert étant parfois favorisé par une phéromone, soit par des transposons que l'on trouve à la fois chez des bactéries à gram-positif et négatif.

## Chapitre 2 : Entérocoque et vancomycine

### 1. La sensibilité des entérocoques aux antibiotiques

#### 1.1. Définitions

##### 1.1.1. Définition d'un antibiotique

C'est toute substance chimique produite par des microorganismes ou par synthèse et qu'a la capacité d'inhiber le développement des bactéries (effet bactériostatique) ou de les détruire (effet bactéricide) et ceci sans provoquer l'intoxication de l'hôte. Les antibiotiques peuvent être classés selon leur origine, leur mode d'action et leur spectre d'activité.

##### 1.1.2. Définition de la résistance

Une souche est dite résistante lorsque la concentration d'antibiotique qu'elle est capable de supporter est plus élevée que la concentration que l'on peut atteindre in vivo. On distingue deux types de résistance bactérienne :

###### a. La résistance naturelle

Est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce, programmé dans le génome bactérien donc fixe, constante et transmissible à la descendance, il constitue un critère d'identification. En revanche, ce type de résistance ne pourra pas être transmis d'une bactérie à l'autre sur un modèle horizontal.

###### b. La résistance acquise

C'est une propriété nouvelle qui apparaît chez quelques souches d'une espèce, elle est due aux modifications de l'équipement génétique : chromosomiques (spontanées, spécifiques, stable et rare) ou extra chromosomiques (acquisition de gènes dont le support est un plasmide ou transposon : fréquentes, contagieuses, moins stables et non spécifiques), se propage souvent de façon importante par transmission de matériel génétique (plasmide, transposon).

Plusieurs mécanismes de résistance sont écrits :

1. Modification de la cible ;
2. Synthèse des enzymes inactivant l'antibiotique ;
3. Diminution de la concentration d'antibiotique atteignant la cible (diminution ou absence de perméabilité ; système d'efflux).

## 1.2. Mécanismes de la résistance d'entérocoque aux antibiotiques

Avec l'utilisation abusive et intensive des antibiotiques, les souches se sont adaptées et ont développé de nouvelles résistances et ceci soit par des mutations spontanées soit par transfert de plasmides ou de transposons provenant d'autres microorganismes.

Dans le cas des entérocoques qui sont naturellement beaucoup moins sensibles aux antibiotiques que d'autre gram positif, il s'agit le plus souvent d'un transfère horizontale du matériel génétique mobile : les plasmides, Leur place comme bactéries commensales du tube digestif favorise les échanges avec les autres commensaux, ce qui leur permet ainsi d'acquérir des gènes de résistance et donc de pouvoir accentuer leur colonisation et de provoquer des infections.

## 2. La résistance acquise à la vancomycine

### 2.1. Historique

Première souche d'*Enterococcus faecium* résistant à la vancomycine a été décrite en France en 1986 (30). Mais c'est aux États-Unis que les ERV ont émergé à la fin des années 1980, devenant un important problème de santé publique. On attribue cette émergence à l'utilisation massive de la vancomycine orale dans le traitement des infections à *clostridium difficile* à partir de 1984 (38). Les ERV sont maintenant devenus actuellement l'un des premiers agents d'infections associées aux Etats-Unis. Ce phénomène était encore marginal il y a peu en Europe. Mais plusieurs épidémies ont été signalées à partir de l'année 2000 au Royaume-Uni, aux Pays-Bas, en Allemagne puis en Europe méditerranéenne.

#### 2.1.1. Généralité sur la vancomycine

#### 2.1.2. Définition

##### a. Définition des glycopeptides

Sont des antibiotiques naturels découverts dans les années 50. Leur action antibiotique provient de l'inhibition de la synthèse du peptidoglycane de la paroi bactérienne. Cette famille inclue deux antibiotiques la vancomycine et la teicoplanine. La vancomycine est issue de la fermentation de *streptomyces* et la teicoplanine de la fermentation de la d'actinoplanes.

Les glycopeptides sont utilisés dans le traitement des infections aux coques à gram positif, essentiellement les staphylocoques, streptocoques et entérocoques, en cas de multirésistance aux antibiotiques ou d'intolérance aux  $\beta$ -lactamines. Ces antibiotiques bénéficient d'une bonne réputation dans le traitement des infections à *staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM) bâtie sur la durée et le faible nombre de résistances qui se sont développées (8).

## b. Définition de la vancomycine

La vancomycine est un glycopeptide découvert en 1956, isolé à partir de *Streptomyces orientalis* et *Nocardia lurida*. Elle est active sur un grand nombre de bactéries à gram positif. Son activité sur *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus pyodermitidis* fait un antibiotique de choix dans le traitement des infections sévères par ces micro-organismes, notamment lorsqu'il s'agit de souches méticillino-résistantes.

### 2.1.3. Structure chimique

La vancomycine ( $C_{66}H_{75}Cl_2N_9O_{24}$ ) est un glycopeptide tricyclique dichloré possédant une chaîne heptapeptidique comportant cinq cycles aromatiques (partie active de la molécule), à laquelle est fixé un disaccharide composé de glucose et de vancosamine.

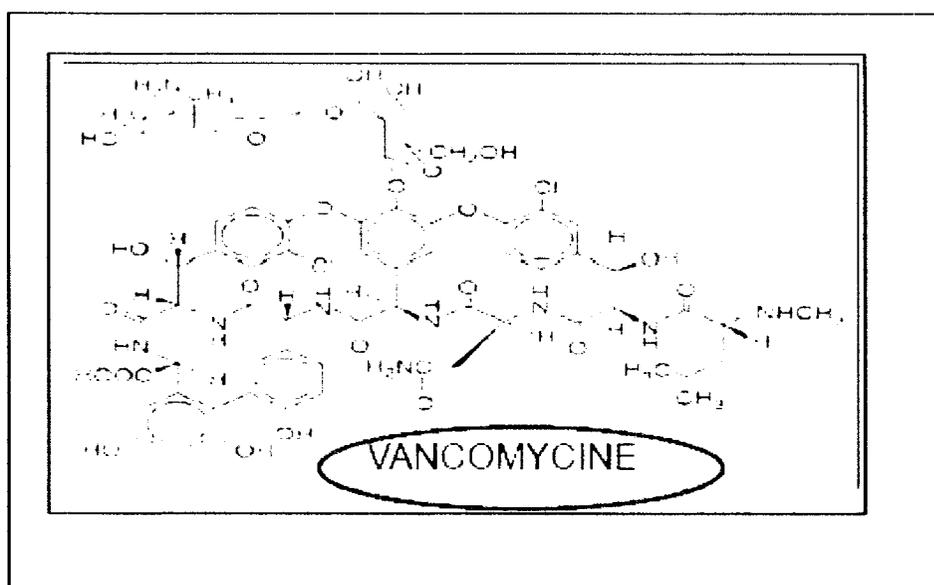


Figure 1 : Structure chimique de la vancomycine (46).

### 2.1.4. Mécanisme d'action

#### 1. Paroi bactérienne

La paroi bactérienne est une structure rigide, de nature polymérique, qui protège et maintient la bactérie vis-à-vis de son environnement. Tous les types de paroi sont constitués d'une substance commune le peptidoglycane (complexe glycopeptidique). Les bactéries à coloration de gram positif possèdent une paroi cellulaire contenant un peptidoglycane épais et des acides teichoïques alors que les bactéries à coloration de gram négatif présentent un peptidoglycane fin localisé dans le périplasme entre la membrane cytoplasmique et une membrane cellulaire externe.

## 2. Mode d'action

La vancomycine a un spectre d'activité étroit se limite aux bactéries à gram positif (essentiellement streptocoques, entérocoques et staphylocoques, y compris les souches multirésistantes), elle est totalement inactive sur les bactéries à gram négatif à cause de sa structure volumineuse qui ne lui permet pas de traverser la membrane externe. L'effet de cet antibiotique est extracytoplasmique, il est bloqué par la membrane cytoplasmique après traverser le peptidoglycane (30).

La vancomycine agit en inhibant la synthèse de la paroi bactérienne cette inhibition est due à son affinité pour l'extrémité D- Alanine- D-Alanine des précurseurs du peptidoglycane. Ceux-ci, après avoir été synthétisés dans le cytoplasme bactérien, sont transportés à travers la membrane cytoplasmique pour finalement être branchés par des enzymes membranaires bactériennes (transglycosylases et transpeptidases) au peptidoglycane en cours d'élongation. La fixation du glycopeptide sur l'extrémité du précurseur empêche, par encombrement stérique, son branchement au peptidoglycane.

Cet antibiotique est lentement bactéricide généralement après 48 heures de contact avec les bactéries (rarement avant 24 heure). Cette bactéricidie lente n'est pas expliquée. Plusieurs hypothèses ont été proposées mais l'attribuent souvent aux inhibiteurs de la synthèse de la paroi eux même (glycopeptides ou bêta-lactamines), quand ils sont en action ils activent la libération d'autolysines qui dégradent la paroi, provoquant un suicide bactérien mais que du fait de leur taille et de l'encombrement stérique qu'ils provoquent, les glycopeptides gênent l'action de ces enzymes (37 ; 8).

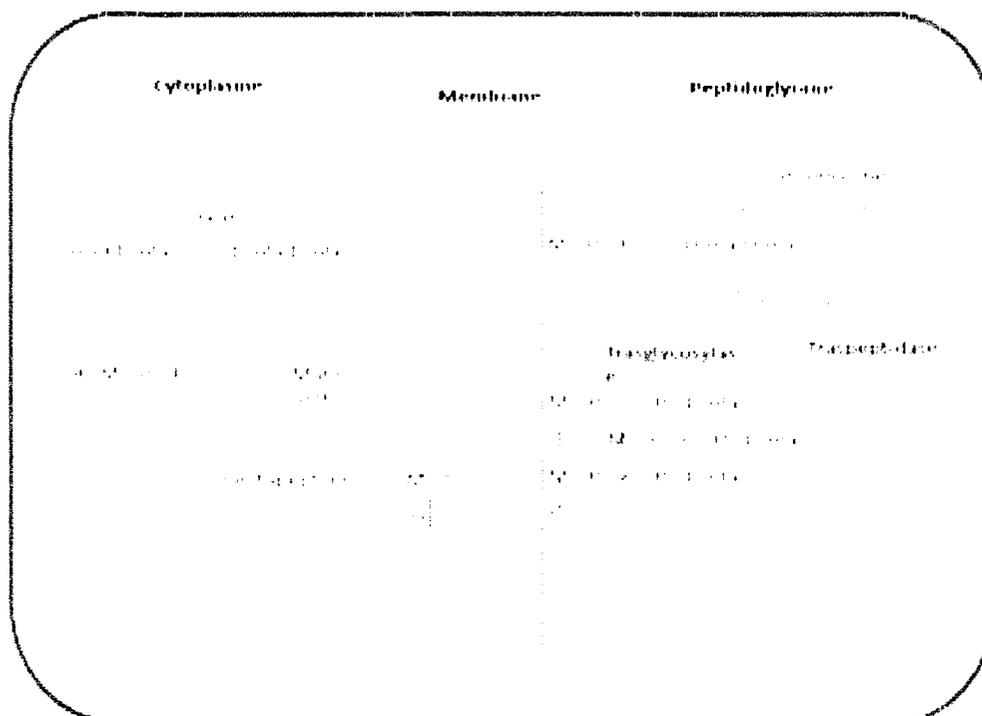


Figure 2 : Mode d'action de la vancomycine (originale).

La figure 2 : Montre le mode d'action de la vancomycine qui agit en inhibant la synthèse de la paroi bactérienne, cette inhibition est due à son affinité pour l'extrémité D- Alanine- D-Alanine des précurseurs du peptidoglycane.

### 2.1.5. Pharmacocinétique

#### 1. La biodisponibilité :

- ✓ La biodisponibilité orale est négligeable : la vancomycine est utilisée par voie per os pour le traitement des colites à *clostridium difficile*.
- ✓ Par voie parentérale : l'administration intraveineuse d'une dose de 1 g permet d'obtenir, deux heures après l'injection, des taux sériques moyens de 25 µg/ml. Et 3 à 12 µg/ml après 11 heures.

#### 2. La liaison aux protéines plasmatiques : est de 30 à 60 % aux concentrations thérapeutiques.

#### 3. La demi-vie sérique : très variable d'un sujet à l'autre, est de 4 à 11 heures.

#### 4. La diffusion de la vancomycine :

- ✓ Bonne : dans les reins, le poumon (supérieure aux concentrations sériques), les liquides pleuraux, d'ascite, péricardiques et synoviaux (40-70 % des taux sériques).
- ✓ Faible : dans la bile et l'humeur aqueuse et médiocre dans l'os (1-3 mg/kg). Dans le LCR, la diffusion est variable selon l'état d'inflammation des méninges (2).
- ✓ Elle est meilleure chez l'enfant que chez l'adulte et peut atteindre 20 % des taux sériques (1-5 mg/l). L'activité de la vancomycine est souvent jugée insuffisante du fait de la diffusion médiocre, de la faible pénétration intracellulaire et de la bactéricidie lente (2).

#### 5. Métabolisme :

La vancomycine n'est pas métabolisée dans l'organisme et son excrétion se fait à environ 90 % par le rein sous forme active (dont 75 % en 24 heures).

#### 6. Elimination : rénale.

## 3. Mécanisme de résistance

### a. Naturelle :

Elle ne concerne que 3 espèces, rares chez l'homme, qui présentent une résistance de bas niveau à la vancomycine (CMI 4-16 mg/l), avec une sensibilité préservée à la teicoplanine. Il s'agit du phénotype Van C, qui correspond à l'expression d'une ligase qui synthétise des dipeptides D-Ala-D-Ser, en lieu et place du dipeptide terminal D-Ala-D-Ala, (cible des glycopeptides) au niveau du précurseur du peptidoglycane. Ce phénotype est naturellement exprimé par *Enterococcus*

*gallinarum* (gène van  $c_1$ ), etc. *Enterococcus casseliflavus* (gène van  $c_2$ ) et *Enterococcus flavescens* (gène van  $c_3$ ). (38).

### b. Acquisie :

Elle découle d'une modification de la cible de la vancomycine, au niveau du précurseur du peptidoglycane, dont le dipeptide terminal habituel (D-Alanine- D-Alanine), est remplacé par un autre dipeptide dont l'affinité pour ces antibiotiques est moindre (D-Ala,D-Lac ou D-Ala,D-Ser). Le mécanisme de la résistance à la vancomycine est similaire pour les deux types de résistance Van A et Van B.

Le processus qui conduit à la résistance est remarquablement complexe et implique l'expression coordonnée de plusieurs gènes. L'expression inductible est liée à la synthèse de deux protéines, partenaires dans un système régulateur à deux composants. Les protéines codées par un autre groupe de cinq gènes conduisent à la synthèse de nouveaux précurseurs de la paroi bactérienne d'affinité réduite pour la vancomycine. Un des précurseurs essentiels de la paroi bactérienne est un dérivé pentapeptidique synthétisé dans le cytoplasme bactérien puis exporté à travers la membrane cytoplasmique. Ce précurseur qui constitue un monomère de la paroi est ensuite branché à celle-ci au cours de son élongation. Les souches résistantes à la vancomycine, synthétisent des précurseurs terminés par un dipeptide D-Alanine-D-Lactate au lieu du dipeptide D-Alanine-D-Alanine. La faible affinité de ces précurseurs modifiés pour la vancomycine explique la résistance (38 ; 46).

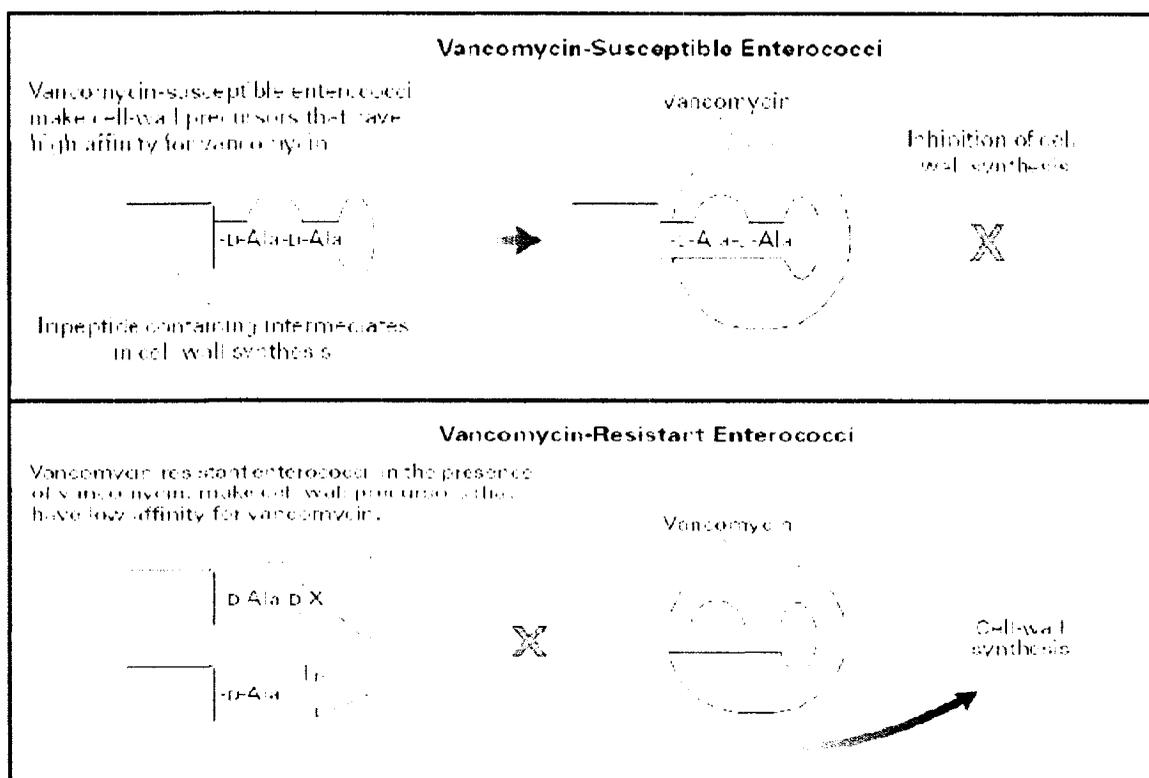


Figure 3 : Mécanisme de résistance des entérocoques à la vancomycine (46).

gène van d partage 69 % d'identité avec van a et van b, et on retrouve probablement la production de D-Ala-D-Lac. Il a été décrit chez de très rares souches d'*Enterococcus faecium* (38).

### 5. Phénotype Van E :

Il est responsable de CMI de 16 mg/l pour la vancomycine et de 0.5 mg/l pour la teicoplanine (souches résistantes à bas niveau à la vancomycine, et sensibles à la teicoplanine). Ce mécanisme est probablement non transférable. Son support génétique n'est pas connu, mais le gène van e partage 55 % d'identité avec van c, suggérant la production de D-AlaD-Ser. Il a été décrit chez de très rares souches d'*Enterococcus faecalis* (38).

### 6. Phénotype Van G :

Il est responsable de CMI de 16 mg/l pour la vancomycine (souches résistantes à bas niveau à la vancomycine, et sensibles à la teicoplanine). Van G partage moins de 50 % d'identité avec les autres mécanismes de résistance connus, suggérant un mécanisme original. Il a été décrit chez de très rares souches *Enterococcus faecalis* (38).

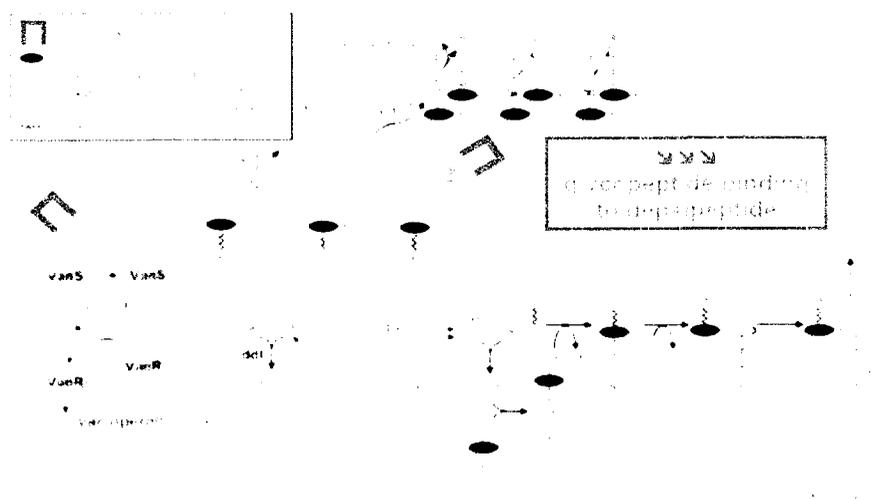


Figure 4 : Résistance chez les entérocoques.

La figure 4 : Représente la voie alternative de synthèse du peptidoglycane.

La figure 3 : Montre le mécanisme de résistance des entérocoques à la vancomycine par la modification de la cible au niveau du précurseur du peptidoglycane, dont le dipeptide terminal habituel (D-Alanine- A-Alanine).

#### 4. Support génétique de la résistance (naturelle ou acquise)

On a décrit pour l'instant 6 phénotypes de résistance à la vancomycine : Van A, B, C, E et G seule la résistance de type Van C est intrinsèque et non transférable, les autres types de résistance Van A, B, D, E et G sont acquis. Les types Van (A, B et G) s'agit d'une résistance inductible et transférable (38 ; 46).

##### 1. Phénotype Van A :

Il est responsable de CMI allant de 64 à 1000 mg/l pour la vancomycine et de 16 à 512 mg/l pour la teicoplanine (souches résistantes à la vancomycine et à la teicoplanine). Ce mécanisme est inductible par exposition à la vancomycine et à la teicoplanine. Les gènes impliqués dans ce phénotype sont souvent portés par un transposon (Tn 1546), capable de s'insérer dans des plasmides. Ainsi, cette résistance est souvent plasmidique et transférable. Elle a été décrite dans les espèces *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus avium*, *Enterococcus durans*, *Enterococcus hirae*, *Enterococcus gallinarum* et *Enterococcus flavescens*. C'est le phénotype de résistance de loin le plus fréquent chez *Enterococcus faecium* et *Enterococcus faecalis* (38).

##### 2. Phénotype Van B :

Il est responsable de CMI allant de 4 à 1000 mg/l pour la vancomycine et de 0.5 à 1 mg/l pour la teicoplanine (souches résistantes à la vancomycine, mais sensibles à la teicoplanine). Ce mécanisme est inductible par exposition à la vancomycine, mais pas à la teicoplanine. Les gènes impliqués dans ce phénotype sont souvent chromosomiques, mais aussi parfois plasmidiques et portés par un transposon (1547). Cette résistance est parfois transférable par conjugaison, mais à basse fréquence. Les espèces concernées sont *Enterococcus faecium* et *Enterococcus faecalis*, le phénotype Van B est moins répandu que le phénotype Van A (10). Le mécanisme de résistance est similaire à celui de Van A. Les gènes Van B et Van A sont structurellement très proches (77 % d'identité des protéines) (38).

##### 3. Phénotype Van C :

Elle est présente chez *Enterococcus gallinarum* (gène van c1), *Enterococcus casseliflavus* (gène van c2) et *Enterococcus flavescens* (gène van c3). Cette résistance naturelle procure à la souche une résistance à la vancomycine (CMI entre 2 et 32 g/ml) et une sensibilité conservée pour la teicoplanine (38).

##### 4. Phénotype Van D :

Il est responsable de CMI de 64 à 256 mg/l pour la vancomycine et de 4 à 64 mg/l pour la teicoplanine (souches résistantes à la vancomycine, et résistantes à bas niveau à la teicoplanine). Ce mécanisme est constitutif et non transférable. Son support génétique n'est pas connu, mais le

gène van d partage 69 % d'identité avec van a et van b, et on retrouve probablement la production de D-Ala-D-Lac. Il a été décrit chez de très rares souches d'*Enterococcus faecium* (38).

### 5. Phénotype Van E :

Il est responsable de CMI de 16 mg/l pour la vancomycine et de 0.5 mg/l pour la teicoplanine (souches résistantes à bas niveau à la vancomycine, et sensibles à la teicoplanine). Ce mécanisme est probablement non transférable. Son support génétique n'est pas connu, mais le gène van e partage 55 % d'identité avec van c, suggérant la production de D-AlaD-Ser. Il a été décrit chez de très rares souches d'*Enterococcus faecalis* (38).

### 6. Phénotype Van G :

Il est responsable de CMI de 16 mg/l pour la vancomycine (souches résistantes à bas niveau à la vancomycine, et sensibles à la teicoplanine). Van G partage moins de 50 % d'identité avec les autres mécanismes de résistance connus, suggérant un mécanisme original. Il a été décrit chez de très rares souches *Enterococcus faecalis* (38).

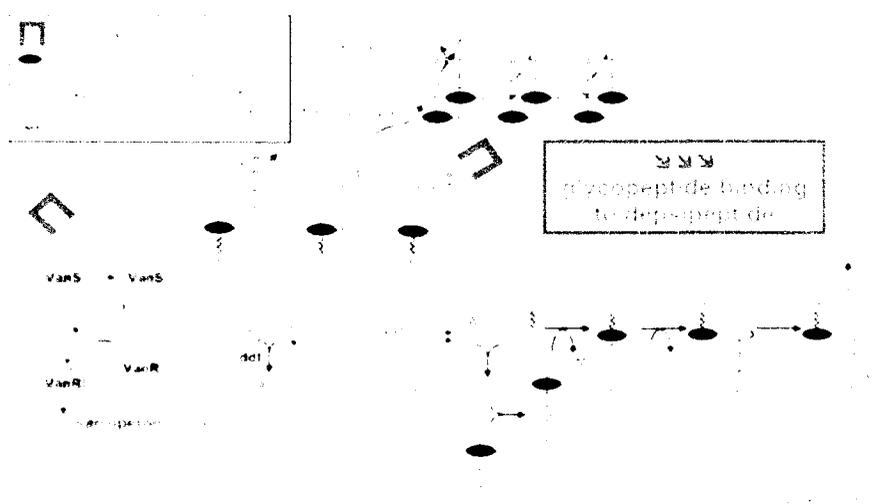


Figure 4 : Résistance chez les entérocoques.

La figure 4 : Représente la voie alternative de synthèse du peptidoglycane.

## 5. La résistance aux autres antibiotiques

### 5.1. La résistance aux bêta-lactamines

#### 5.1.1. Les pénicillines

##### a. Naturelle :

Les entérocoques sont moins sensibles aux pénicillines G et D que les autres streptocoques (leurs CMI habituelles sont comprises entre 1 mg/l et plus de 8 mg/l, contre 0.1 mg/l pour la plupart des streptocoques du groupe D).

Ceci est dû au fait que les entérocoques expriment des PLP de bas poids moléculaires de plus faible affinité pour les bêta-lactamines. Dans les infections graves à entérocoques, il faudra donc utiliser ces antibiotiques en association avec un antibiotique d'une autre famille. (38).

##### b. Acquisée :

La résistance de haut niveau aux pénicillines est peu fréquente chez *Enterococcus faecalis*, mais plus répandue chez *Enterococcus faecium* (jusqu'à 50 % des souches responsables d'infections chez l'homme, dans certaines publications). Elle est due à une hyperproduction de la PLP<sub>5</sub>, de plus faible affinité pour les pénicillines. Cette résistance concerne alors toutes les pénicillines, y compris les carbapénems et les associations avec les inhibiteurs de bêta-lactamases.

Un autre mécanisme d'apparition plus récente, consiste en la production d'une pénicillinase plasmidique, identique à celle codée par le gène *blaz* chez *Staphylococcus aureus*, mais constitutive et non inductible chez l'entérocoque, en l'absence de répresseur de *blaz*.

Cette pénicillinase, peu répandue a surtout été retrouvée en Amérique du nord et en Amérique latine. Elle entraîne une résistance à l'ampicilline et à la pipéracilline, antibiotiques dont l'activité est restaurée par l'association à un inhibiteur de bêta-lactamase (38).

#### 5.1.2. Les céphalosporines

Les entérocoques sont naturellement résistants aux céphalosporines. L'utilisation massive de cette famille antibiotique est probablement un des mécanismes expliquant l'émergence actuelle des entérocoques comme pathogènes hospitaliers, pas de résistance acquise.(38).

#### 5.1.3. Monobactams

Les entérocoques sont naturellement résistants aux monobactams, pas de résistance acquise (38).

## 5.2. La résistance aux macrolides, lincosamides, streptogramines:

### a. Naturelle

Presque tous les entérocoques (sauf *Enterococcus faecium* et *Enterococcus durans*), présentent une résistance naturelle aux lincosamides et au composé a des streptogramines. Ceci implique une résistance à la pristiniamicine et à la quinupristine-dalfopristine chez tous les entérocoques sauf *Enterococcus faecium* et *Enterococcus durans*.(38).

### b. Acquise

La résistance acquise aux macrolides, lincosamides et streptogramines chez l'entérocoque est le plus souvent due à une modification de la cible de ces antibiotiques. En effet, les souches résistantes, produisent une méthylase, responsable d'une diméthylation spécifique d'une adénine au niveau de l'ARN 23s du ribosome bactérien. Ceci entraîne un changement de conformation de cet ARN et une baisse de l'affinité des MLS pour le ribosome.(38).

Cette résistance est sous la dépendance de différents gènes dont le gène *erm b* commun avec *S. Aureus*. Elle concerne les macrolides, les lincosamides et le composé b des streptogramines (elle épargne le composé a). Selon les séries, on retrouve jusqu'à 52 % des souches d'*Enterococcus faecium* résistantes à l'érythromycine en pathologie humaine. La quinupristine-dalfopristine, synergistine d'introduction récente, accuse pourtant des taux de résistances estimés de 1 à 2 % chez l'*Enterococcus faecium*(38).

## 5.3. La résistance aux aminosides :

### a. Naturelle :

Tous les entérocoques sont naturellement résistants à bas niveau aux aminoglycosides. Ceci est dû à un transport peu efficace de ces antibiotiques vers leur cible à travers la membrane bactérienne. Les CMI habituelles des aminosides sont comprises pour les souches de phénotype sauvage, entre 4 et 256 mg/l.

Ce mécanisme de résistance explique bien que l'effet des aminosides soit rétabli lors d'une association synergique avec des antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi bactérienne (pénicillines ou glycopeptides), à la condition que la résistance aux aminosides reste de bas niveau et que la souche d'entérocoque reste sensible aux pénicillines ou aux glycopeptides. De plus, *Enterococcus faecium* produit naturellement une acétyltransférase chromosomique, AAC (5), qui inactive la kanamycine, la tobramicine, la nétilmicine et plus faiblement l'amikacine. La résistance est alors de haut niveau pour ces antibiotiques et aucune synergie n'est possible (38).

## **b. Acquise**

Il s'agit de résistances de haut niveau, associées à des CMI supérieures à 1000 mg/l, abolissant toute synergie avec les bêta-lactamines et les glycopeptides. Le mécanisme le plus fréquent relève de la production d'enzymes inactivant certains aminosides. Le support de ces résistances est plasmidique et constitutif. Ces enzymes sont de 3 types, des phosphotransférases, des nucléotidyl-transférases et des acétyl-transférases. Chaque enzyme est spécifique à un ou plusieurs aminosides, et certaines de ces enzymes peuvent s'associer entre elles, donnant des profils de résistances complexes (38).

La résistance de haut niveau à la gentamicine, qui est pourtant l'un des aminosides les moins touchés par ce type de résistance, peut atteindre 37 % des souches d'entérocoques en pathologie humaine.

Enfin, la résistance aux aminosides peut être due, beaucoup plus rarement, à une altération de la cible ribosomale de ces antibiotiques (mutations chromosomiques), et, exceptionnellement, à une modification du transport de l'antibiotique à travers la paroi bactérienne (38).

## **6. La détection des ERV au laboratoire**

Plusieurs techniques de laboratoire peuvent mettre en évidence la résistance à la vancomycine chez les entérocoques. Voici une liste non exhaustive de différentes méthodes de dépistage disponibles :

- 1) Méthode sur gélose ou « agar screen », utilisant une gélose additionnée de vancomycine ;
- 2) Agars chromogéniques;
- 3) Bouillon de culture sélectif (additionné de vancomycine) ;
- 4) Méthode de dilutions en bouillon ou de dilutions en gélose ;
- 5) Méthode de diffusion en gélose ;
- 6) Dépistage moléculaire d'ERV par amplification génique (TAAN), dont la PCR est un exemple.

## Chapitre 3 : Portage digestif des entérocoques résistants à la vancomycine

### 1. Situation épidémiologiques

La prévalence du portage digestif des entérocoques résistants à la vancomycine est très diversement appréciée, dès l'émergence de premières souches en France 1986, Angleterre 1987 et à partir de 1990 aux Etats-Unis, en fonction des pays, des institutions (pratique de ville ou hôpital), des établissements, des services, des pathologies ou des sites de prélèvements.

#### 1.1. En Algérie

La situation épidémiologique de portage digestif des ERV en Algérie est mal connue à cause d'absence d'études portant sur ce sujet. Mais selon la littérature, des souches d'entérocoques ont été isolées dans contexte d'infection, on parle de :

➤ **Premier cas :**

Il s'agit d'un patient âgé de 24 ans né à Alger et y demeurant, régulièrement suivi par le service de pédiatrie de l'hôpital central de l'armée depuis sa naissance pour uropathie malformative.

L'examen cytot bactériologique d'un échantillon d'urines reçu en novembre 2006 permis d'identifier *klebsiella pneumoniae* et *Enterococcus faecalis* résistent à la vancomycine.

À noter que l'analyse des selles (coproculture) de ce même patient n'a pas retrouvé de bactéries gram positif résistantes à la vancomycine ; comme il n'a pas été isolée dans un contexte d'épidémie hospitalière (12).

- En 2011, un total de 8 souches d'entérocoques résistent à la vancomycine (ERV), dont 5 à l'hôpital et 3 en externe, ont été signalés par certains laboratoires du réseau algérien de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques.

#### 1.2. Dans le monde

Concernant la prévalence de la colonisation digestive à entérocoque résistent a la vancomycine, plusieurs auteurs s'accordent à dire qu'elle est probablement 10 fois plus importante que la prévalence des infections à ERV (25,28).

- 3,5 % des entérocoques sont résistants à la vancomycine, sur 3499 souches européennes issues de services à risque (10). Par exemple, au 31 juillet 2008, 909 cas de colonisations ou d'infections à erg ont été recensés en lorraine ( les infections à erg ne représentant que 5,4 % de l'ensemble des cas).
- La prévalence hospitalière d'entérocoques résistent à la vancomycine est plus élevée aux usa (environ 10 %) qu'en Europe, avec des exceptions notables comme certains établissements anglais et italiens, qui rejoignent voire dépassent les taux américains.

- Enquête Onerba 2006 (JHI 2011) ; patients hospitalisés :
  - ✓ 0,5% des selles adressées pour diagnostic diarrhée clostridium difficile ;
  - ✓ 0,1% admissions réanimation ;
  - ✓ 0% patients d'hématologie.

## **2. Les facteurs de risque de portage digestif dans un milieu hospitalier**

L'acquisition de l'entérocoque résistant à la vancomycine dans le milieu hospitalier est liée d'une part à l'état du patient d'autre part à son environnement.

### **2.1. Facteurs de risque liés au patient**

- Atteinte du système immunitaire ou atteinte multi-systémique (exemples chimiothérapie, patients immunodéprimé, maladies chroniques sévères, atteinte métabolique, etc.) ;
- Patients greffés, insuffisance rénale aigüe ;
- Chirurgies digestives, procédures digestives ou chirurgies abdominales ;
- Utilisation de dispositifs médicaux invasifs (exemples : cathéter vésical, cathéter central, etc.) ;
- Poids de prématurité et de faible natalité ; l'utilisation de la nutrition parentérale chez les nouveaux nés ;
- Personne âgées ;
- La durée de séjour prolongée (plus de 48h) dans un milieu de soins peut favoriser le portage digestif d'ERV chez le patient ;
- L'antibiothérapie : l'utilisation la vancomycine, des céphalosporines surtout à large spectre, et les antibiotiques ayant une activité anti-anaérobique (clindamycine, métronidazole, céfotetan, ticarcilline-acide clavulanique) de même que les quinolones, les carbapenème induit une pression de sélection et favorise le phénomène de colonisation.

### **2.2. Facteurs de risque liés à l'environnement du patient**

Peut croître et survivre dans des conditions hostiles, pendant des périodes de temps variant de 5 jours à environ 4 mois, donc le risque de contamination des patients est possible :

- Le fait de séjourner dans la même chambre qu'un porteur d'ERV ou dans une chambre préalablement occupée par un porteur d'ERV ;
- Il est de plus démontré que l'uniforme et les mains du personnel deviennent fréquemment une source de contamination.

### 3. La diffusion de l'entérocoque résistant à la vancomycine

C'est à partir de la colonisation que l'ERV va disséminer d'un patient à l'autre, voire d'un hôpital à l'autre ou même d'un pays à l'autre. Le passage d'un patient à l'autre est, dans la grande majorité des cas, manuporté (20) mais peut aussi se faire à partir de surfaces contaminées, de l'eau et des aliments. En effet, comme la plupart des cocci Gram positif, l'ERV peut persister très longtemps sur les surfaces inertes (5 jours à 4 mois) (25).

Duckro an et al. Ont pu montrer que, lorsqu'un soignant touchait un élément colonisé par de l'ERV, la probabilité de contaminer une surface indemne de ERV lors du contact était de 10,6 % (28). Cette probabilité, multipliée par le nombre de contacts que peut avoir un soignant dans une chambre et le nombre de soignants intervenant au cours d'une journée, explique le fort pouvoir de dissémination de l'ERV. Ils ont également pu montrer que certaines zones exposaient particulièrement à un risque de transmission lorsqu'elles étaient contaminées, en particulier la zone ante-cubitale et les brassards à tension.

Enfin, la durée du contact avec un élément contaminé apparaissait plus importante que la densité de la colonisation sur l'élément pour la dissémination du germe (20). La durée de colonisation intestinale par l'ERV est longue et imprévisible, la probabilité d'éliminer l'ERV après 100 jours étant de 40 % (10 % après 20 jours).

Parmi les patients les plus à risque de transmettre l'ERV on distingue :

- Individus à risque élevé de contaminer leur environnement (exemples : personnes incontinentes, tableau clinique de diarrhée ; patients avec colostomie lorsque la manipulation du sac de colostomie est inadéquate, etc.) ;
- personnes qui ont une hygiène personnelle déficiente et/ou respectent difficilement les recommandations en ce qui concerne l'hygiène des mains et les mesures d'hygiène en général.

### 4. Conséquences de l'antibiothérapie sur le portage digestif des ERV

Par modification de la flore intestinale, l'antibiothérapie peut altérer la fonction de protection contre la colonisation et également agir directement sur le pouvoir pathogène de certaines bactéries en induisant la production de toxines bactériennes, de facteurs d'adhérence et de virulence. En effet des études ont démontrés que la diminution de bactéries à gram négatif était en lien avec l'augmentation de la colonisation par les ERV. Le LPS des bactéries à gram négatif stimulerait la synthèse de regiiiy par les cellules de paneth. regiiiy étant une lectine avec un pouvoir antimicrobien contre les bactéries à gram positif. La diminution de la proportion des bactéries gram négatifs suità une antibiothérapie exagérée entrainerait une diminution de la production de cette lectine ce qui favorise la croissance des bactéries gram positif comprenant les entérocoques.

## 5. Risques de portage digestif des entérocoques résistant à la vancomycine

### 5.1. Risques d'infection à ERV chez les patients colonisés au niveau digestif

Plusieurs études tendent à démontrer que les patients colonisés par entérocoque résistant à la vancomycine au niveau digestif sont plus à risque de développer une infection systémique à ERV que les autres patients. Par exemple, une bactériémie survient chez 34 % des patients colonisés par l'ERV dans les 35 jours suivant une greffe pour une hémopathie.

### 5.2. Risque de transfert du gène de résistance de la vancomycine au *staphylococcus aureus*

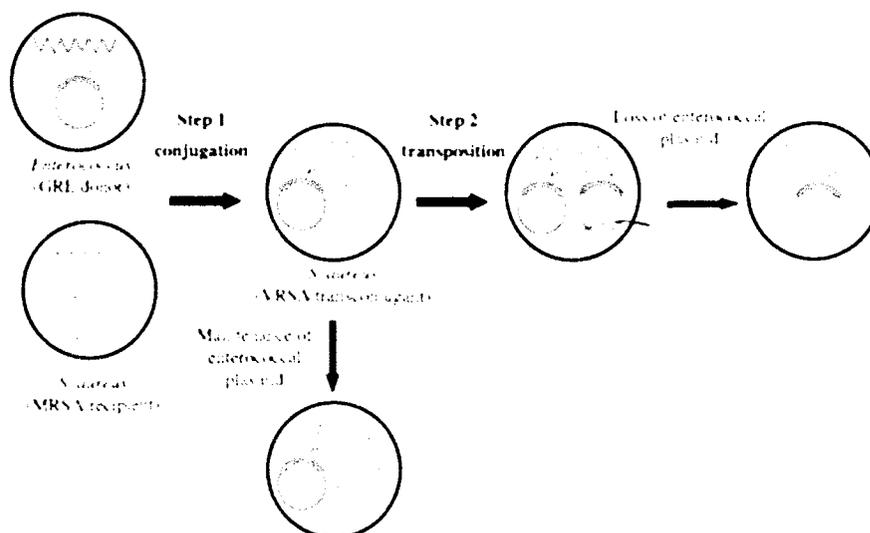
Elle due à l'acquisition d'un gène opéron van a à partir d'entérocoques, menant à l'apparition d'une souche hautement résistante à la vancomycine, le VRSA (VanA-type vancomycin-résistant *staphylococcus aureus*).

Les staphylocoques dorés sont des agents pathogènes communément responsables d'infections communautaires et nosocomiales. Ils sont considérés comme très pathogènes en comparaison des entérocoques.

Dans les années 1980 est apparue la méticillino-résistance, qui s'est étendue de façon très importante dans le monde entier. Cette résistance, qui touche toutes les bêta-lactamines, est due essentiellement à la production d'une PLP de faible affinité pour ces antibiotiques (la PLP<sub>2a</sub>), sous la dépendance du gène Mec a (25). Ces souches de *staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (MRSA), restaient sensibles à la vancomycine, devenue antibiotique de référence dans les infections à ce type de germe.

C'est durant l'été 2002 qu'on a décrit pour la première fois des souches cliniques de *staphylococcus aureus* résistantes à la vancomycine (CMI>32 mg/l), dites VRSA. (1 01,102, 103). Les 2 premières souches ont été isolées de plaies chroniques des membres inférieurs chez deux patients au terrain débilisé, ayant été exposés à de nombreuses antibiothérapies. Ces 2 souches portaient le gène Van A, au sein du transposon sn 1546, connu de longue date chez l'entérocoque vanco-r. A partir de ces 2 cas, on a suspecté un possible transfert de Van A, depuis les entérocoques résistants à la vancomycine vers les staphylocoques dorés.

La comparaison entre les séquences ADN du Tn 1546 de ces 2 premiers cas a prouvé que ces 2 souches n'étaient pas liées entre elles, et qu'elles étaient les résultats de 2 événements génétiques différents : on retrouve en effet une délétion et deux insertions de fragments d'ADN chez le 2ème VRSA qui sont absentes chez le premier (10). D'où l'hypothèse d'un transfert par conjugaison d'un plasmide porteur du Tn 1546 à partir de l'ERV, suivi de l'intégration du transposon dans un plasmide propre au VRSA et de la ségrégation du plasmide "messenger"(16).



**Figure 5 :** Répartition schématique du transfert de gène 1546 d'*Enterococcus faecalis* à *S.aureus* (16).

La figure 5 : Représente le transfert de 1546 d'*Enterococcus sp* à *Staphylococcus aureus*, qui s'effectue après la conjugaison et la transposition du gène tn1546 d'*Enterococcus sp* aux *Staphylococcus aureus*.

## 6. Moyens de lutte contre la diffusion des ERV dans les unités hospitalières

Afin de prendre en charge la colonisation et prévenir le problème de transmission des entérocoques résistants à la vancomycine dans les milieux hospitaliers, le CLIN et CTILNS veillent à la mise en place des mesures d'hygiène efficace à partir de rédiger des fiches techniques opérationnelles.

### 6.1. Prise en charge des patients porteurs d'ERV

#### 6.1.1. Les mesures à mettre en place dès le diagnostic d'une colonisation avec un ERV

##### a. Mesures techniques

- ✓ Isolement géographique des malades porteurs avec signalisation « BMR » sur la porte de la chambre et le dossier ;
- ✓ mettre en place les précautions « contact » pour tous les cas, avec formation du personnel à l'application de ces mesures ;
- ✓ Utilisation du matériel à usage unique pour la prise en charge des cas ou utilisation matériel dédié restant dans la chambre (stéthoscopes, thermomètre, glucomètre...).
- ✓ Le renforcement du bionettoyage de la chambre de chaque cas avec désinfection d'équipements qui sortent de la chambre ;
- ✓ limiter l'utilisation des antibiotiques pour tous les malades présents (cas +contacts) ;

- ✓ Rechercher un portage de SARM chez les porteurs d'ERV. Si cette recherche est positive, utiliser un protocole de décontamination nasale et cutanée du malade ;
- ✓ Lister tous les malades-contacts des cas et qui sont présents dans le service, dans l'établissement mais dans un autre service, ou sortis de l'établissement et organiser un dépistage du portage fécal d'ERV de tous ces contacts par écouvillonnage rectal ;
- ✓ Organiser le dépistage hebdomadaire des contacts aussi longtemps qu'ils restent hospitalisés ;
- ✓ Envoyer les souches au laboratoire de référence des entérocoques.

#### **b. Mesures organisationnelles**

- ✓ Arrêter le transfert des cas dans un autre service ou un autre établissement de santé et favoriser leur retour à domicile ;
- ✓ Limité les examens complémentaires hors du service au strict nécessaire pour ces deux groupes de malades ;
- ✓ Regrouper les contacts (présents dans le service et dans les autres services de l'établissement) dans un secteur unique différent de celui des cas et leur affecter un personnel dédié différent de celui des cas.

#### **c. Mesures administratives**

- ✓ Alerter la direction de l'établissement ;
- ✓ Alerter la commission des médicaments anti-infectieux ;
- ✓ Il est recommandé de réaliser un signalement externe aux autorités sanitaires et au CCLIN de tous cas d'isolement d'entérocoques résistants aux glycopeptides importés par un patient;
- ✓ Informer les malades porteurs et leurs médecins traitants plus personnels ;
- ✓ informer les établissements qui ont reçu des contacts afin qu'ils réalisent un dépistage fécal de ces malades ;
- ✓ il n'existe pas de consensus sur l'efficacité d'une décontamination digestive pour diminuer la durée du portage ou limiter une épidémie.

#### **d. Rôle de laboratoire de bactériologie**

- ✓ Il est recommandé au laboratoire de bactériologie d'alerter l'équipe opérationnelle d'hygiène dès la positivité de la recherche d'entérocoques résistants aux glycopeptides ;
- ✓ Dans ce cas, la détermination de la CMI des glycopeptides devrait être systématique. Il faut rappeler que le dépistage du portage fécal d'ERV n'est pas réalisé en routine par les laboratoires de bactériologie.

### 6.1.2. Schéma résumant la prise en charge d'un patient porteur d'ERV (originale)

#### La prise en charge d'un patient porteur D'ERV

<b>Patient porteur à L'admission</b>	<b>Patient non porteur à l'admission avec antécédent de portage</b>	<b>Patient contact</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Création d'un secteur De cohorting ;</li> <li>- Variation d'un secteur de regrèvement</li> <li>-Précautions contactes.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Prise en charge en secteur conventionnel + précaution contacte ;</li> <li>-Prélèvement à l'admission.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Traçabilité des patients ;</li> <li>-Précautions contactes ;</li> <li>-Dépistage régulier</li> </ul>
<b>Si résultat négatif</b>	<b>Si résultat positif</b>	
<p><b>Patient reste dans le secteur Conventionnel</b></p>	<p><b>Patient transféré au secteur de cohorting a défaut au secteur de regrepement</b></p>	

### 6.1.3. A domicile :

Il faut favoriser les sorties à domicile des patients ERV positif afin de ne pas générer de nouveaux patients contacts. Le statut du patient doit être clairement notifié dans le courrier de sortie au médecin traitant.

Le patient reçoit :

- Des documents d'information sur son statut pour lui et sa famille ;
- des explications sur la conduite à tenir en cas de réhospitalisation (prévenir immédiatement le personnel soignant de son statut ERV positif) ;
- Une éducation sur les mesures d'hygiène à adopter à domicile (lavage des mains, eau de javel dans les sanitaires après utilisation) ;
- Il est recommandé de poursuivre les dépistages mensuels chez les patients ERV positif à domicile, jusqu'à l'obtention de 3 prélèvements mensuels consécutifs négatifs.

### 6.2. Mesures de préventions à suivre

Les règles d'hygiène citées par le CLIN et l'équipe opérationnelle d'hygiène hospitalière doivent se respecter obligatoirement et de manière rigoureuse dans les milieux hospitaliers.

On parle de :

- Lavage des mains ;
- Port de gants ;
- Port de masque, lunettes, sur blouse ;
- Matériel à utilisation unique :
  - ✓ Matériel piquant ou tranchant : ne pas désadapter ou recapuchonner les aiguilles à la main ;
  - ✓ Déposer immédiatement après usage les objets piquants ou tranchants dans des conteneurs adaptés.
- Matériel réutilisable : manipuler avec précautions le matériel souillé. S'assurer que ce matériel a subi une procédure d'entretien appropriée (désinfection ou stérilisation) avant d'être réutilisé ;
- Surfaces souillées : nettoyer puis désinfecter avec un détergent désinfectant les surfaces souillées par du sang, un liquide biologique ou tout autre produit d'origine humaine ;
- Transport de prélèvements biologiques, linge et matériel souillés : les prélèvements biologiques, le linge et les instruments souillés par du sang ou tout autre produit d'origine humaine doivent être évacués du service dans un emballage étanche, fermé ;
- en cas d'accident d'exposition au sang ou liquide biologique ;
- Après piqûre, blessure : lavage et antiseptie de la plaie ;
- Après projection sur muqueuse (conjonctive) : rinçage abondant. Consulter un médecin de l'établissement dans les 4 heures (suivre les consignes de l'établissement) à fin de prévenir le transmettre ;

- Aux professionnels de la santé : contient les précautions (contact) et (standard) à appliquer dans les établissements de santé pour tous les patients porteurs d'ERV.

### 6.3. La formation et l'information

La formation sur l'hygiène hospitalière est indispensable est obligatoire pour les personnels hospitaliers médicaux et paramédicaux ; ils doivent bénéficier aussi d'une formation à la prévention des risques de colonisation et au respect des bonnes pratiques en hygiène.

Une organisation des fiches d'informations destinées :

- ✓ Aux patients et leurs famille : contient quelque informations et précautions simples d'hygiène à respecter afin de prévenir le transmettre ;
- ✓ Aux professionnels de la santé : contient les précautions (contact) et (standard) à appliquer dans les établissements de santé pour tous les patients porteurs d'ERV.

### 6.4. Antibiotique à proscrire chez les porteurs d'ERV

De nombreux antibiotiques favorisent la persistance de portage d'ERV :

- ✓ Glycopeptide ;
- ✓ Céphalosporine de 3eme génération ;
- ✓ Anti-anaérobie (metronidazol +++);
- ✓ Fluoroquinolone ;
- ✓ Imipénème.

#### Préférer :

- ✓ Amoxicilline, ticarcilline, pipéracilline ;
- ✓ +/- inhibiteur ;
- ✓ Traitement le + court possible ; ✓ Surveiller le portage d'ERV.

Si prescription d'une C3G nécessaire : de préférence la céfotaxime à ceftriaxone (+ faible élimination digestive).

- ✓ La décontamination du portage d'ERV est peu efficace et faussement rassurante (fausse négativation) ;
- ✓ Bien peser les indications de toute antibiothérapie chez un patient porteur d'ERV (11).

# Partie pratique

## **Partie 2 : Partie pratique**

### **1. Objectifs**

L'analyse de la littérature permettait de conclure que le dépistage des porteurs asymptomatiques des entérocoques résistants à la vancomycines est une étape primordiale dans le programme de lutte contre l'émergence et la dissémination de ces souches dans les milieux hospitaliers et même dans la communauté. L'objectif de notre étude était donc :

1. Proposer une technique de dépistage de portage digestif d'ERV ;
2. Déterminer une prévalence de portage digestif d'ERV ;
3. Décrire les espèces d'ERV ;
4. Etudier la résistance aux autres antibiotiques ;
5. Etudier les facteurs de risques de portage digestif d'ERV.

### **2. Type de l'étude**

Il s'agit d'une enquête transversale de prévalence de portage digestif d'entérocoque résistant à la vancomycine.

### **3. Lieu et période de l'étude**

- ✓ **Lieu de l'étude** : l'étude a été réalisée au niveau de laboratoire de microbiologie à l'unité Hassiba Ben Bouali de CHU Blida.
- ✓ **Période de l'étude** : notre étude a été étalée sur une période de trois mois, allant de Janvier au Mars 2016.

### **4. Matériel et méthode :**

#### **4.1. Matériels**

##### **4.1.1. Population cible**

##### **a. Critères d'inclusion**

1. Séjour plus de 48 heures au niveau de service ;
2. Tout âge confondu ;
3. Etat de patient : notion d'immunodépression, maladies chroniques, (cancer, insuffisance rénale, chirurgie orthopédique) ;
4. Prise d'antibiotiques (Vancomycine, C3G, aminoside).

## b. Critères d'exclusion

1. Séjour moins de 48 heures ;
2. Patients externes.

### 4.1.2. Les services inclus dans notre étude

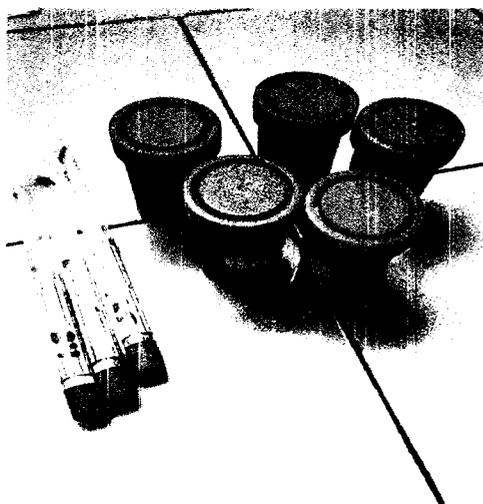
1. Service de pédiatrie (grand secteur, oncologie infantile, néonatalogie) de l'unité Hassiba Ben Bouali du CHU Blida ;
2. Centre de chirurgie infantile de l'unité Hassiba Ben Bouali du CHU Blida ;
3. Service d'hématologie de l'unité Frantz Fanon du CHU Blida ;
4. Service de chirurgie orthopédique d'EPH Khemis Miliana ;
5. Service de chirurgie générale d'EPH Khemis Miliana ;
6. Service de médecine homme d'EPH Khemis Miliana ;
7. Service d'hémodialyse d'EPH Khemis Miliana ;
8. Service de pédiatrie d'EPH Khemis Miliana ;
9. Service de néonatalogie d'EPH Khemis Miliana.

## 4.2. Méthode

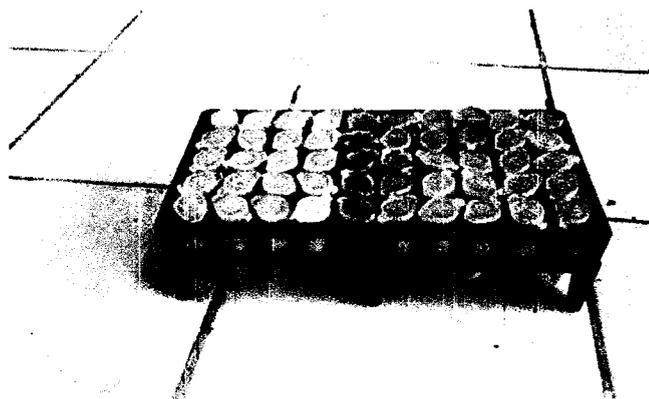
### 4.2.1. Prélèvement

#### 4.2.1.1. Technique

Le portage des entérocoques résistants à la vancomycine a été recherché : dans les selles recueillies dans des boîtes propres étiquetées, écouvillonnage rectal (voir figures 6 et 7).



**Figure 6 :** Les boîtes et les écouvillons utilisés pour le prélèvement (originale).



**Figure 7 :** La conservation des prélèvements dans des épindorphanes (originale).

**Le prélèvement est réalisé par :**

- ✓ Le malade lui-même ;
- ✓ Legarde malade s'il s'agit d'un malade alité ;
- ✓ Par la maman pour les nouveaux nés, les nourrissons et les enfants.

**4.2.1.2. Transport et conservation**

Acheminement immédiat au laboratoire (< 2h) ou conservé au maximum 12 à 24 h à +4°C à fin d'éviter la dessiccation et la prolifération des bactéries et levures commensales.

**4.2.2. Fiche de renseignement**

Chaque prélèvement a été accompagné par une fiche individuelle de renseignement de chaque patient :

- 1- Information sur le service : date de recueil, nom de service, numéro d'ordre ;
- 2- Information sur le malade : nom, prénom, âge, sexe, pathologie, durée d'hospitalisation traitement, thérapie hors de pays, antibiothérapie.

**4.2.3. Protocole d'étude**

Les prélèvements recueillis sont enrichit sur le milieu BHIB. Après 24h d'incubation on les a ensemencés sur le milieu d'isolement préparé à notre niveau ; les cultures positives sont purifiées après avoir identifiées, une étude de sensibilité aux antibiotiques est mise en places.

Les renseignements et les résultats obtenus ont été enregistrés sur Microsoft Excel.

#### 4.2.3.1. Enrichissement des prélèvements

La recherche des ERV incluait une étape d'enrichissement.

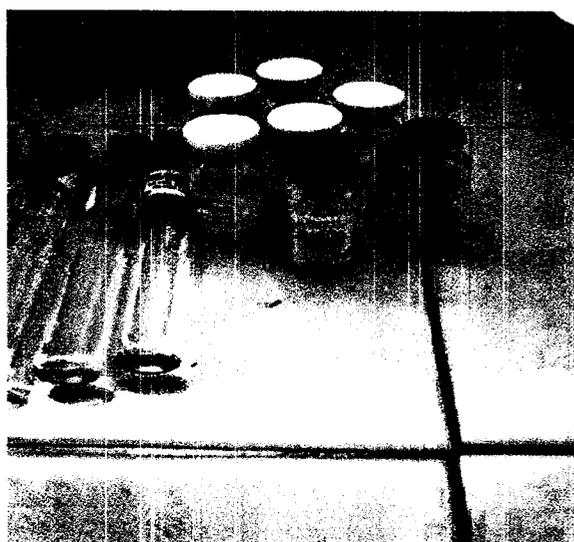
Une noisette de selle ou l'écouvillonnage rectale été mise en enrichissement dans un bouillon BHIB, en incubation pendant 18 à 24h à 35°C.

#### 4.2.3.2. Mise en culture

##### a. Préparation de milieux :

Milieu d'isolement : il s'agit d'une gélose de base additionnée de : (CLSI 2013)

- Vancomycine 4mg/l, inhibe les entérocoques sensibles à la vancomycine ;
- CTX 1mg/l, inhibe les entérobactéries ;
- Une goutte de Fungizone, antifongiques.



**Figure 8 :** Tubes d'eau physiologique stérile + La vancomycine 500 mg. (Originale).

##### 1. Première étape :

Peser des antibiotiques poudres (voir les figures 8 et 9). Chaque milieu contient 20 ml : 18 ml de gélose de base et 2 ml de suspension de vancomycine et CTX. Afin d'obtenir des milieux contenant 4 mg/l de van et 1 mg /l de CTX on a basé sur la relation :

$$C_f v_f = C_i v_i$$

$C_f$	Concentration finale : pour Van = 4 mg/l et CTX : 1mg /l
$V_f$	Volume finale du milieu = 20 ml
$C_i$	Concentration initiale d'antibiotique
$V_i$	Volume initiale de la suspension d'antibiotique = 1ml de Van ou 1ml de CTX

✓Calcul :

Van :  $c_i = \frac{20 \times 4}{1} \rightarrow c_i = 80mg$ , donc on doit peser 80mg de Van.

CTX :  $c_i = \frac{20 \times 4}{1} \rightarrow c_i = 40mg$ , donc on doit peser 40mg de CTX.

Sachant qu'on a préparé des suspensions de 10 ml de chaque antibiotique (présent sous forme de poudre), on a pesé 800 mg de van et 100 ml de CTX.

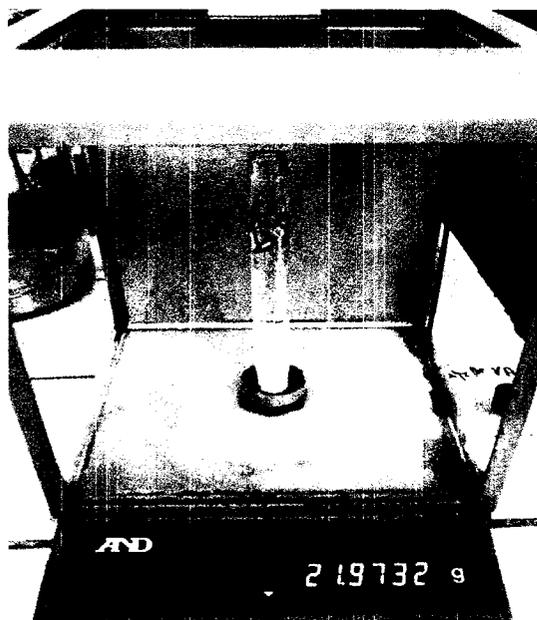


Figure 9 : La peser de 800 mg de vancomycine et 100 mg de CTX à l'aide d'une balance a précision (originale).

## 2. Deuxième étape :

Préparation de la gélose. À une température ambiante la gélose est à l'état solide, elle est transformée à l'état liquide à l'aide d'un bain marie.

## 3. Troisième étape : (Voir la figure 10)

- ✓ A l'aide d'une seringue prélève 1 ml de chaque suspension de Van et de CTX, et les ajoutés dans la boîte de pétrie ;
- ✓ Ajouter 18ml de la gélose qui ne doit pas être très chaude à fin d'éviter la destruction des antibiotiques et une goutte de Fungizone ;
- ✓ Assurer l'homogénéisation du mélange, avec des mouvements lents et circulaires,
- ✓ Conserver les dans le réfrigérateur après le dessèchement des boîtes de pétries, pour les utiliser ultérieurement.



**Figure 10 :** Milieux gélose additionnée de 4 mg de vancomycine, 1 mg de CTX et d'une goutte de fungisone (originale).

**Remarque :** les étapes de préparation ont été effectués auprès d'un bec benzène afin d'éviter toute contamination.

## b. Mise en culture

Après une réalisation d'une culture d'une souche témoin *Enterococcus faecalis* sensible à la vancomycine sur notre milieu (Gélose nutritive + vancomycine 4mg/l + CTX 1mg/l + Une goutte de Fungisone), la culture été négative celui qui valide notre technique.

### 1. Isolement :

A partir du bouillon d'enrichissement BHIB, on aensemencé notre milieu d'isolement. L'incubation est faite à 35 °C pendant 24 à 48 heures.

### 2. La lecture :

Après 24 heures d'incubation à 35 °C : fines colonies (voir la figure 11).



**Figure 11** : Entérocoque sur le milieu GN + Vancomycine 4mg/l + CTX 1mg/l + Une goutte de Fungisone. (Originale)

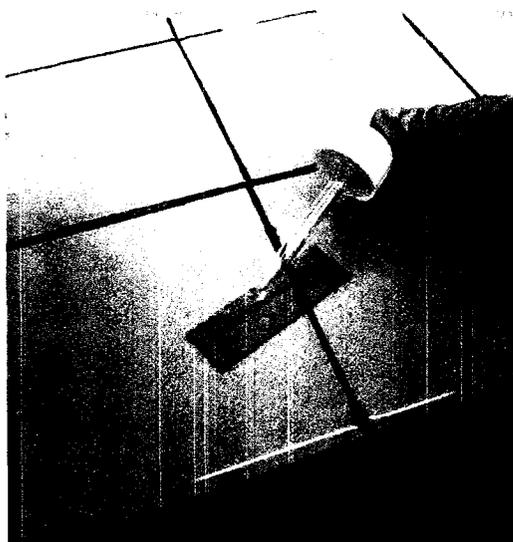
### 3. Purification :

Les colonies suspectes sont utilisées pour la recherche d'une catalase et la réalisation d'une coloration de Gram (voir les figures 12 et 13). Cette dernière nous renseigne sur la morphologie, le mode de groupement.

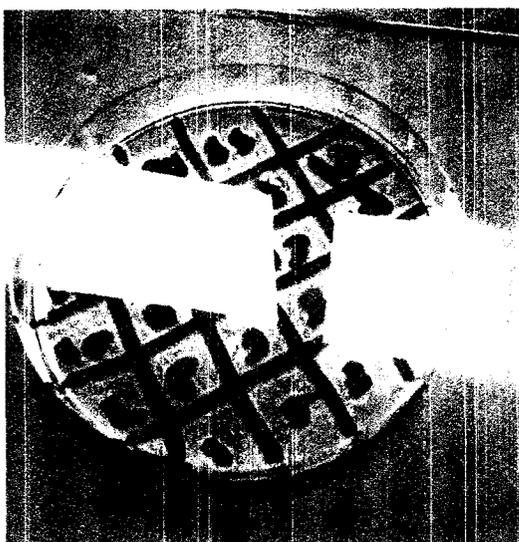
Les colonies catalases négatives et qui apparaissent cocci gram positif en chaînettes sont :

- ✓ Repiquées sur une gélose de base ;
- ✓ Ensemencées sur une gélose tellurite.

Incubation à 35°C pendant 24 heures.



**Figure 12 :** Frotti réalisé par coloration de Gram (originale)



**Figure 13 :** Test de catalase (originale).

**Lecture :**

Culture positive : présence de fines colonies noirâtres : *Enterococcus faecalis* ;

Culture négative : *Enterococcus sp.*

### 4.3. Identification d'espèce

1. **Milieu gélose tellurite** : un milieu sélectif pour *l'enterococcus faecalis*, la seule espèce qui résiste au tellurite.
2. **Galerie api strep** : on n'a pas pu la réaliser à cause de manque de ce type de galerie au laboratoire.

### 4.4. Etude de la sensibilité

#### 4.4.1. Antibiogramme standard

##### 4.4.1.1. Principe

L'étude de sensibilité a été réalisée par la méthode de diffusion des disques en milieu gélosé, conformément aux recommandations de CLSI 2013, pour les antibiotiques suivants : vancomycine, teicoplanine, chloramphénicol, gentamicine, érythromycine, quinupristine - dalfopristine.

#### a. Ensemencement des milieux MH :

A l'aide d'une suspension de 0,5 MF on a ensemencé les milieux MH, puis on a appliqué les disques d'antibiotiques à l'aide d'une pince bactériologique stérile. (**Annexe 5**)

L'incubation est faite à 35 °c pendant 24 heures à l'étuve.

#### b. Lecture des antibiogrammes :

- ✓ Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.
- ✓ Comparer les résultats obtenus aux valeurs critiques figurant dans la table de lecture (annexe 6).

## 5. Résultats

Notre étude s'est déroulée de janvier à mars 2016 à porter sur un total de 163 prélèvements (n=163), répartie sur 03 établissements, l'aide d'une technique maison une GN additionnée a 4mg de vancomycine et 1mg de CTX , on a obtenu les résultat suivantes enregistré et calculées à l'aide de Microsoft Excel :

### 5.1. La prévalence des entérocoques résistants à la vancomycine

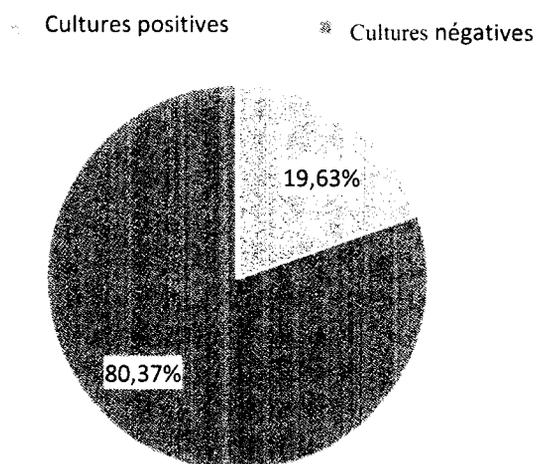
La prévalence de portage digestif des entérocoques résistants à la vancomycine est de 0%. Les résultats ont été confirmés par l'étude moléculaire à l'institut pasteur d'Algeroù aucun gène de résistances van A et van B n'a été détecté.

### 5.2. La prévalence des cultures positives

	Culture positives	Cultures négatives		N° Total de prélèvement
Nombre des prélèvements	32	131		163
Prévalence	19,63	80,37		

**Tableau 1 :** Le pourcentage des cultures positives sur milieu gélose nutritive additionnée de 4 mg de vancomycine, 1 mg de CTX et une goutte de fungisone.

**Prévalence** = Nombre total des cultures positives ou négatives sur le nombre total des prélèvements.



**Figure 14 :** Le pourcentage des cultures positives sur milieu gélose nutritive additionnée de 4 mg de vancomycine, 1 mg de CTX et une goutte de fungisone.

### 5.3. La répartition des cultures positives

#### 5.3.1. Répartition des cultures positives selon l'établissement et les services

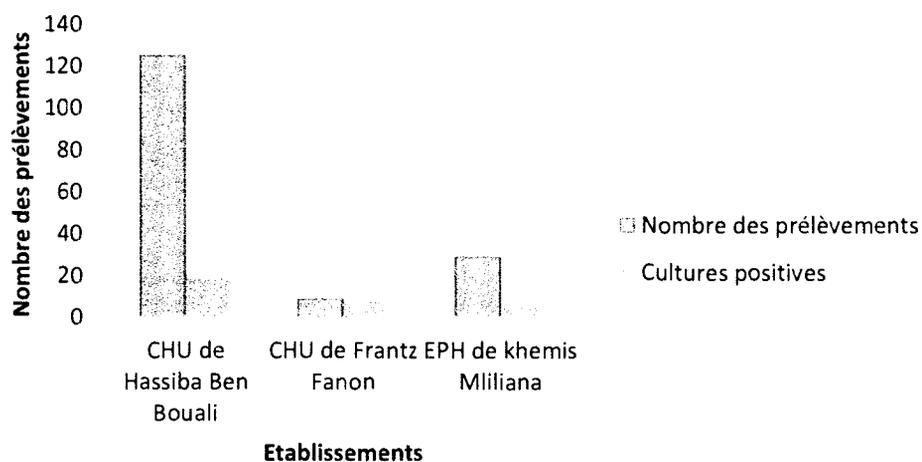
##### 5.3.1.1. Répartition selon l'établissement

Etablissements	CHU de Hassiba Ben Bouali	CHU de Franz Fanon	EPH de Khemis Mliliana	Total
Nombre des prélèvements	125	9	29	163
Cultures positives	19	8	5	32
Prévalence 1 (%)	15,20	88,89	17,24	19,63

**Tableau 2:** La répartition des cultures positives selon les établissements

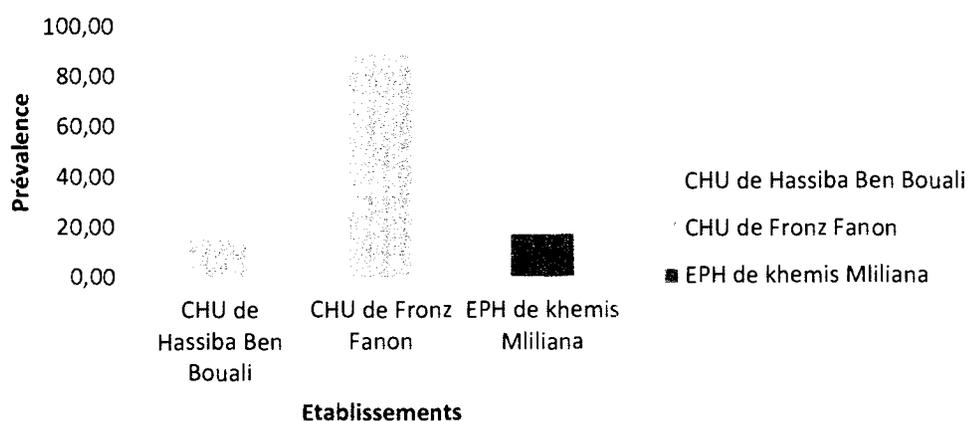
**Prévalence 1** = Nombre total des cultures positives au niveau d'un établissement sur le nombre total des prélèvements recueillis de cet établissement.

#### La répartition des cultures positives selon l'établissement



**Figure 15 :** La répartition des cultures positives selon l'établissement.

## le pourcentage des cultures positives selon l'établissement



**Figure 16 :** Le pourcentage des cultures positives selon l'établissement.

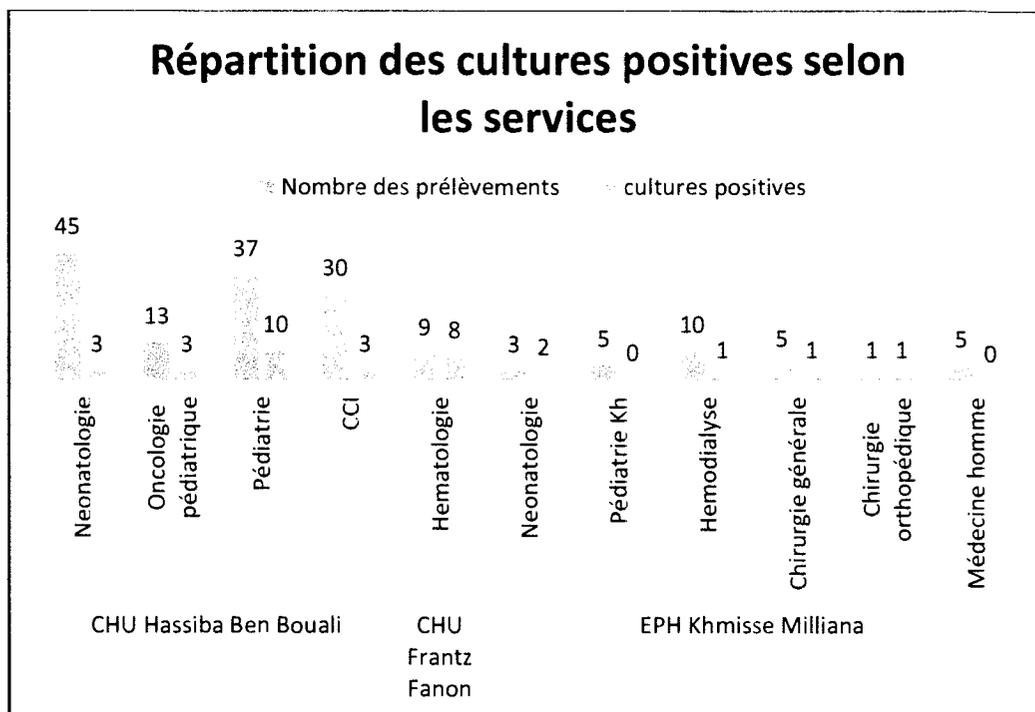
Les résultats présentés dans le tableau 2 montrent que tous les prélèvements provenant de l'unité Frantz Fanon sont positifs à part un seul prélèvement, soit 88.89 %.

### 5.3.1.2. Répartition des cultures positives selon les services

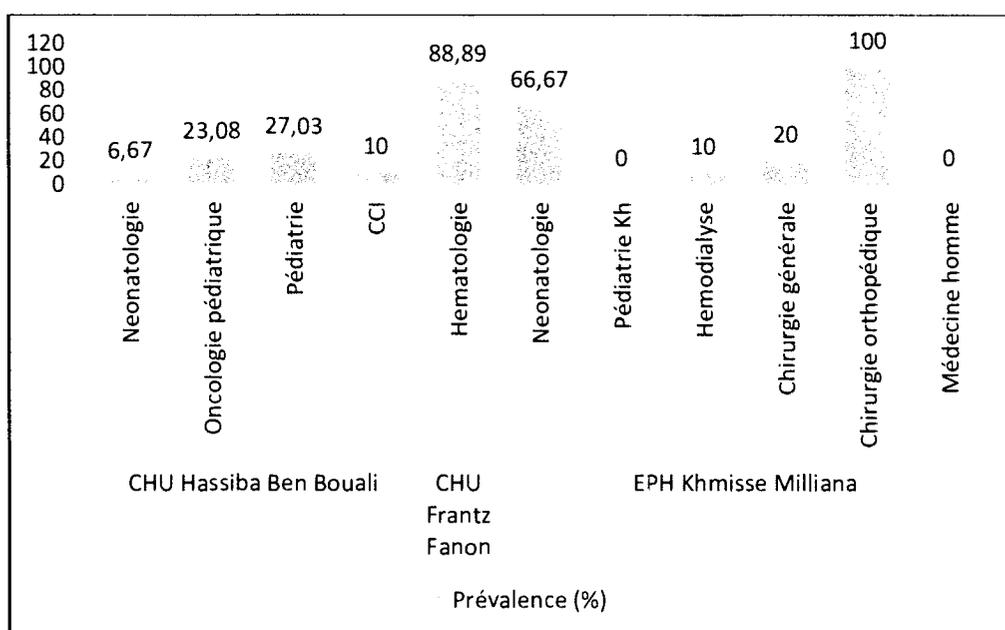
Etablissements	Services	Nombre de prélèvements	Cultures positives	Prévalence (%)
CHU Hassiba Ben Bouali	Néonatalogie	45	3	6,67
	Oncologie pédiatrique	13	3	23,08
	Pédiatrie	37	10	27,03
	CCI	30	3	10
CHU Frantz Fanon	Hématologie	9	8	88,89
EPH khemis Milliana	Néonatalogie	3	2	66,67
	Pédiatrie kh	5	0	0
	Hémodialyse	10	1	10
	Chirurgie générale	5	1	20
	Chirurgie orthopédique	1	1	100
	Médecine homme	5	0	0
N° Total de prélèvement		163	32	19,63

**Tableau 3 :** La répartition des cultures positives selon les services.

**Prévalence 2** = Nombre total des cultures positives au niveau d'un service sur le nombre totale des prélèvements recueillis à ce service.



**Figure 17 :** La répartition des cultures positives selon les services.



**Figure 18 :** Le pourcentage des cultures positives selon les services.

Les résultats présentés dans le tableau 3 montrent que la plus parts des souches isolées de l'unité Hassiba Ben Bouali proviennent du service pédiatrie soit 10 sur un total de 19 souches isolées.

Presque tous les prélèvements collectés de service hématologie ont été positifs.

Aucun prélèvement des services pédiatrie et médecine homme de la région de Khemis Miliana n'a été positifs tandis que nous avons isolé 2 souches sur 3 prélèvements reçus du service de néonatalogie de la même région.

$X^2 = 14,86$  supérieur au Khi-deux de la table 0 ,0039 donc le risque se diffère significativement entre les différents services, les 2 services hématologie et oncologie sont les plus à risque.

### 5.3.2. Répartition des cultures positives selon les caractéristiques des patients

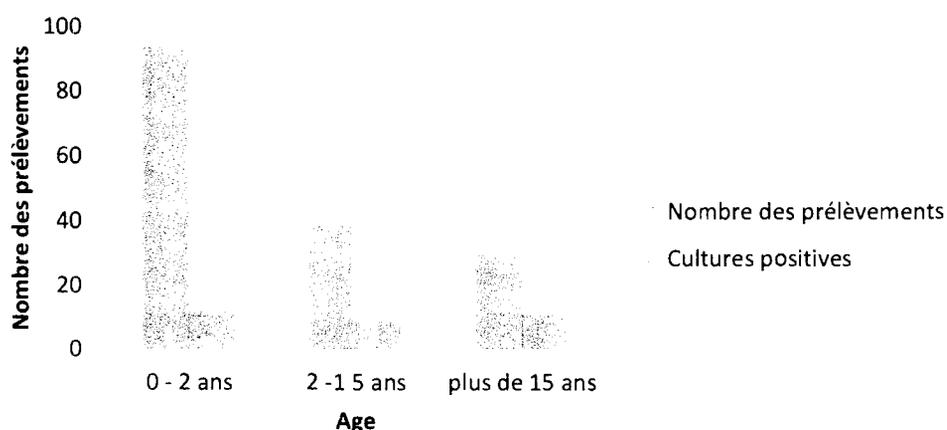
#### 5.3.2.1. Répartition selon l'âge

Age	0 - 2 ans	2 -15 ans		Plus de 15 ans
Nombre des prélèvements	94	39		30
Culture positives	12	9		11
Prévalence 3 (%)	12,76	23		36,66

**Tableau 4:** La répartition des patients et la prévalence des cultures positives selon l'âge.

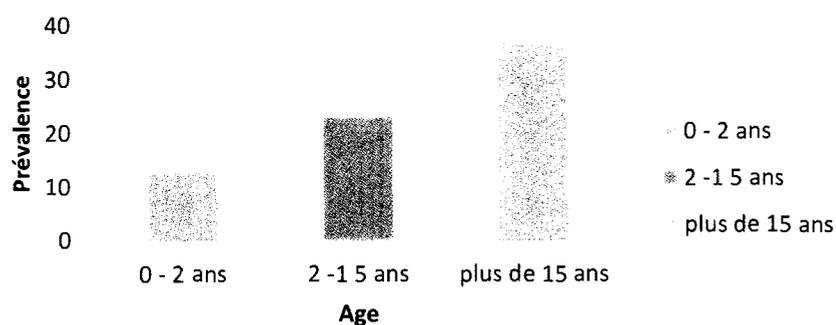
**Prévalence 3** = Nombre des cultures positives d'une catégorie d'âge sur le nombre total des patients de cette catégorie.

### La répartition des cultures positives selon l'âge



**Figure 19 :** La répartition des cultures positives selon l'âge.

## Le pourcentage des cultures positives selon l'age



**Figure 20** : Le pourcentage des cultures positives selon l'âge

Les résultats présentés dans le tableau 4 montrent que la prévalence des cultures positives est nettement supérieure chez les malades âgés plus de 15 ans et moins enregistré chez les nourrissons et les enfants

$X^2 = 24,56 > X^2$  de la table = 0,1 avec  $\alpha = 0,05$  donc le risque de portage digestif des entérocoques se diffère significativement entre les catégories d'âge et les malades âgés plus de 15 ans sont les plus à risque.

### 5.3.2.2. Répartition des cultures positives selon le sexe

Sexe	Homme	Femme
Nombre des prélèvements	94	69
Cultures positives	20	12
Prévalence 4 (%)	21,28	17,39

**Tableau 5** : La répartition des cultures positives selon le sexe.

**Prévalence 4** = Nombre des cultures positives sur le nombre des prélèvements chez l'homme et chez la femme.

## La répartition des cultures positives selon le sexe

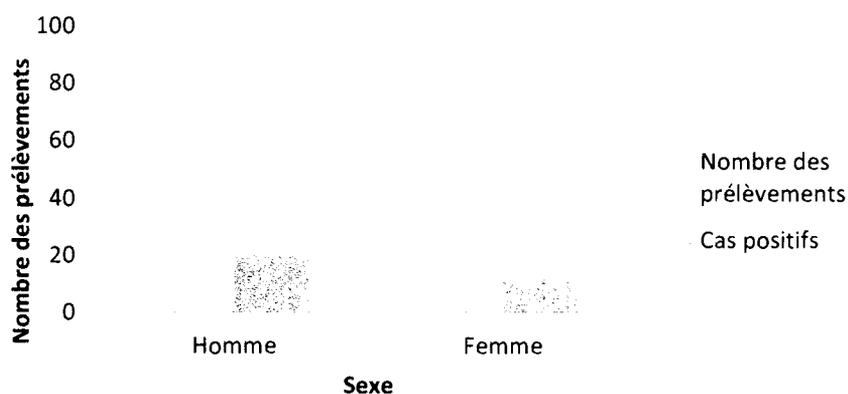


Figure 21 : La répartition des cultures positives selon le sexe.

## Le pourcentage des cultures positives selon le sexe

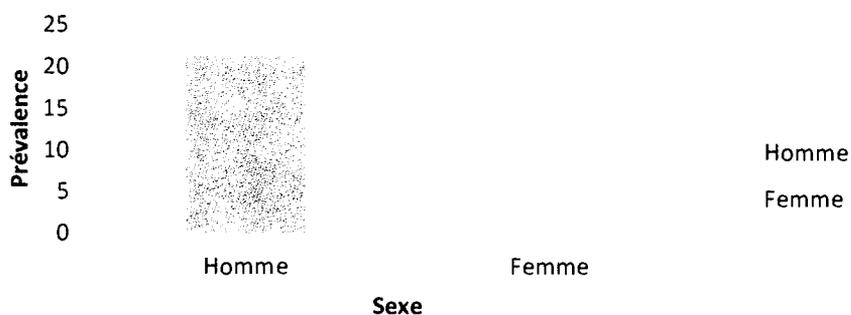


Figure 22 : Le pourcentage des cultures positives selon le sexe.

Les résultats présentés dans le tableau 4 montrent que le pourcentage des cas positifs chez les hommes est supérieur à celle chez les femmes.

$X^2 = 0,38 > X^2$  Table à 5% = 0,1 donc le risque de portage digestif des entérocoques se diffère significativement entre les deux sexes et les hommes sont les plus à risque.

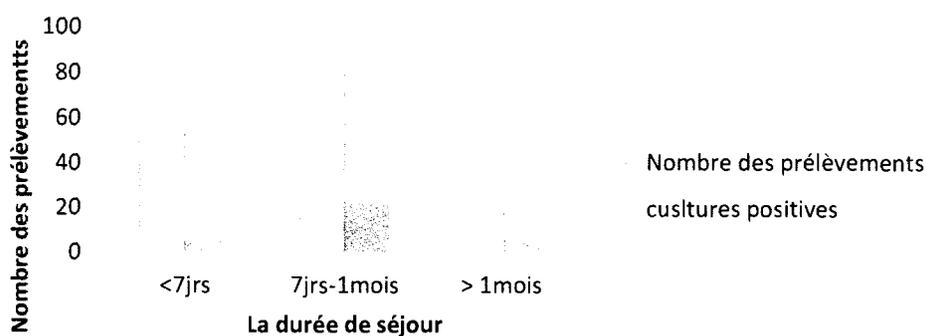
### 5.3.2.3. Répartition des cultures positives selon la durée d'hospitalisation

Séjour	<7jrs	7jrs-1mois	> 1mois
Nombre des prélèvements	59	80	24
Cultures positives	5	22	5
Prévalence 5 (%)	8,47	27,50	20,83

**Tableau 6** : La répartition des patients et la prévalence des cultures positives selon la durée d'hospitalisation.

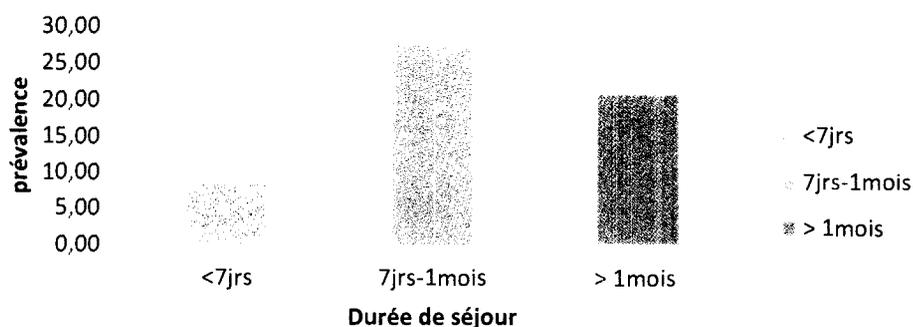
**Prévalence 5** = Nombre des cultures positives qui ont la même durée de séjour sur le nombre total des patients qui ont cette même durée.

### La répartition des cultures positives selon la durée de séjour



**Figure 23** : La répartition des cultures positives selon la durée d'hospitalisation.

### Pourcentage des cultures positives selon la durée de séjour



**Figure 24** : Le pourcentage des cultures positives selon la durée de séjour.

Les résultats présentés dans le tableau 5 montrent que 27 sur 32 souches détectées ont été isolées des malades qui ont séjourné à l'hôpital plus qu'une semaine.

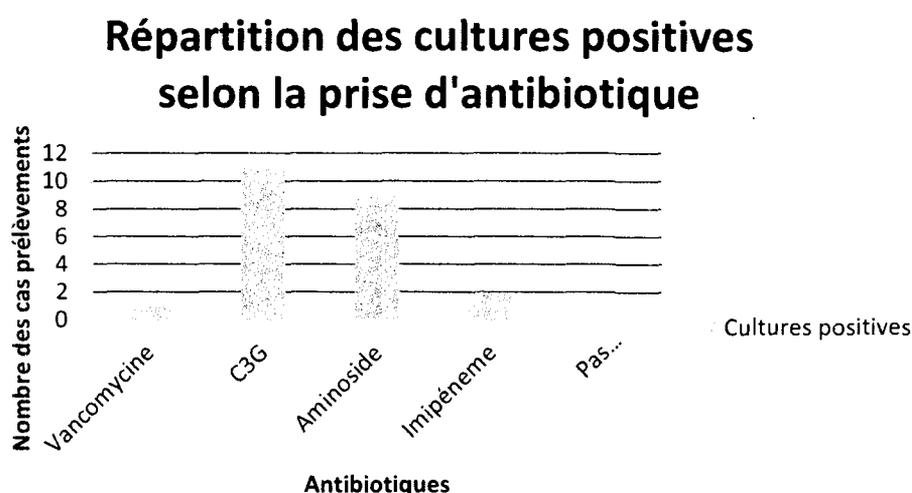
$X^2 = 7,29 > X^2$  Table à 5% = 0,0039 donc le risque de portage digestif des entérocoques se diffère significativement selon la durée de séjour et les patients qui ont plus de risque sont ceux qui ont séjournés à l'hôpital plus de 7 jours.

#### 5.3.2.4. Répartition cultures positives selon la prise d'antibiotique

Antibiotiques	Vancomycine	C3G	Aminoside	Imipéneme	Pas d'antibiothérapie
Nombre des prélèvements	3	59	28	7	66
Cultures positives	1	11	9	2	0
Prévalence 6 (%)	33,33	18,64	32,14	28,57	0

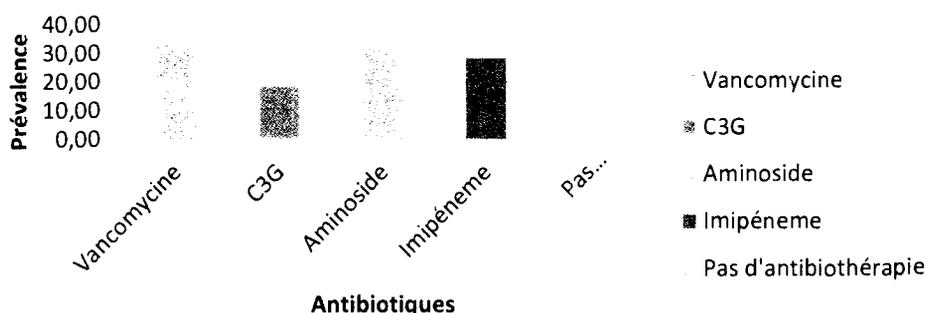
**Tableau 7 :** La répartition des patients présumés porteurs d'ERV selon la prise d'antibiotique.

Prévalence = Nombre des cas positifs qui ont été mis sous l'un de ces antibiotiques : Vancomycine, aminoside, C3G ou imipénème) sur le nombre total des patients qui ont été mis sous ces antibiotiques.



**Figure 25 :** La répartition des cultures positives selon la prise d'antibiotique.

## Pourcentage des cultures positives selon l'antibiothérapie



**Figure 26 :** Le pourcentage des cultures positives selon la prise d'antibiotique.

Les résultats présentés dans le tableau 6 montrent que le pourcentage de portage des entérocoques isolés est proche chez les malades sous vancomycine et aminoside suivit par celle d'imipénème et céphalosporines de troisième génération.

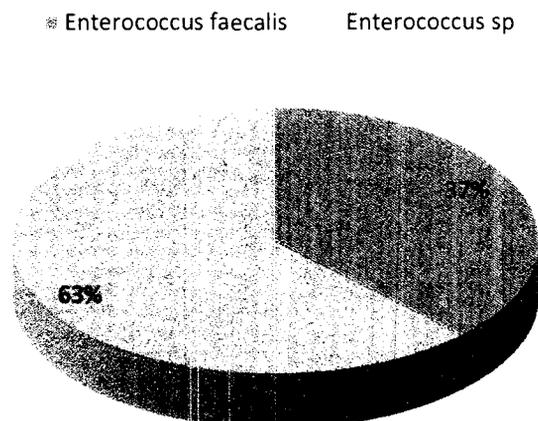
$X^2 = 2,53 > X^2$  Table à 5% = 0,0039 donc le risque de portage digestif des entérocoque et supérieur chez les patients qui ont pris la vancomycine, C3G, aminoside ou imipénème par rapport aux patients qui ne sont pas soumis aux ces antibiotique.

### 5.3.2.5. La répartition des cultures positives selon l'espèce d'Entérocoque

Espèce	<i>Enterococcusfaecalis</i>	<i>Enterococcuspp</i>
Cultures positives	12	20
Prévalence 7 (%)	37,5	62,5

**Tableau 8 :** La répartition des cultures positives selon l'espèce.

Prévalence 7 = Nombre d'espèces sur le nombre total des cultures positives.



**Figure 27 :** La répartition des cultures positives selon l'espèce.

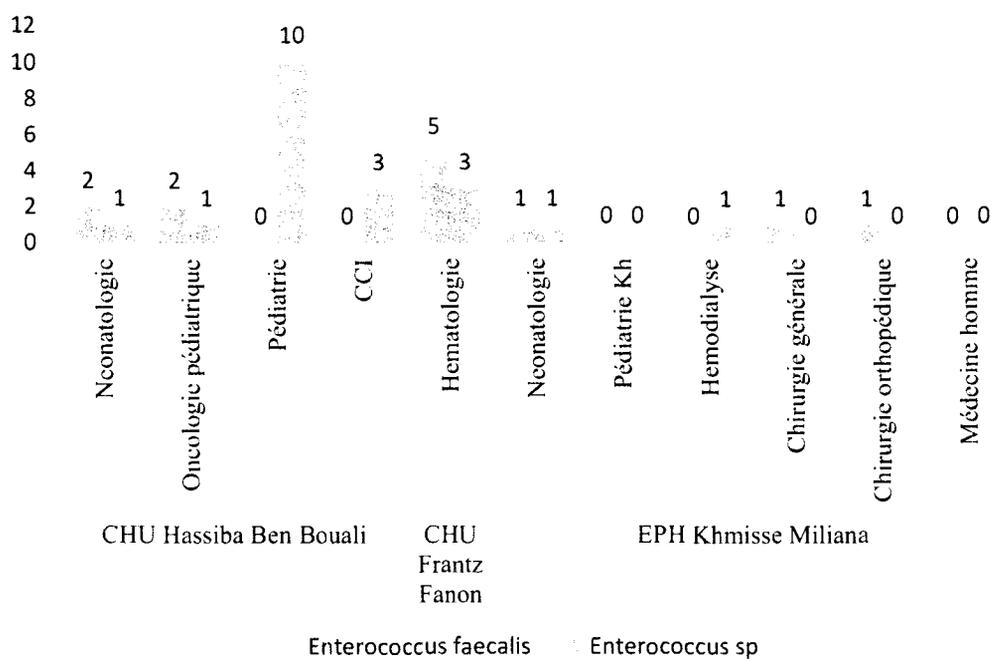
Les résultats présentés dans le tableau 8 montrent que le nombre des patients porteurs d'*Enterococcus faecalis* supérieur que l'*Enterococcus sp*.

### 5.3.3. La répartition des espèces isolées

#### 5.3.3.1. La répartition des espèces selon le service

Etablissements	Services	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus sp</i>
CHU Hassiba Ben Bouali	Néonatalogie	2	1
	Oncologie pédiatrique	2	1
	Pédiatrie	0	10
	CCI	0	3
CHU Frantz Fanon	Hématologie	5	3
EPH khmis Miliana	Néonatalogie	1	1
	Pédiatrie	0	0
	Hémodialyse	0	1
	Chirurgie générale	1	0
	Chirurgie orthopédique	1	0
	Médecine homme	0	0
Total		12	20

**Tableau 9 :** La répartition des espèces selon service.



**Figure 28 :** La répartition des espèces selon service.

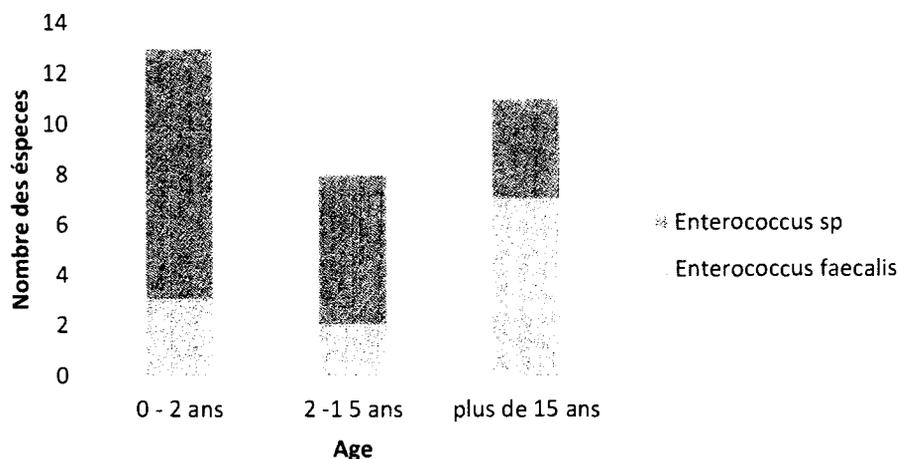
Les résultats présentés dans le tableau 9 montrent que l'*Enterococcus faecalis* est l'espèce la plus isolée au niveau du service d'hématologie à l'unité Frantz Fanon de CHU Blida.

### 5.3.3.2. La répartition des espèces isolées selon l'âge des patients

Age	0 - 2 ans	2 - 15 ans	Plus de 15 ans
<i>Enterococcus faecalis</i>	3	2	7
<i>Enterococcus sp</i>	10	6	4

**Tableau 10 :** La répartition des espèces selon l'âge des patients.

## La répartition des espèces selon l'age



**Figure 29** : La répartition des espèces selon l'âge des patients.

Les résultats présentés dans le tableau 10 montrent que *l'Enterococcus faecalis* est plus isolé chez les patients âgés plus de 15 ans.

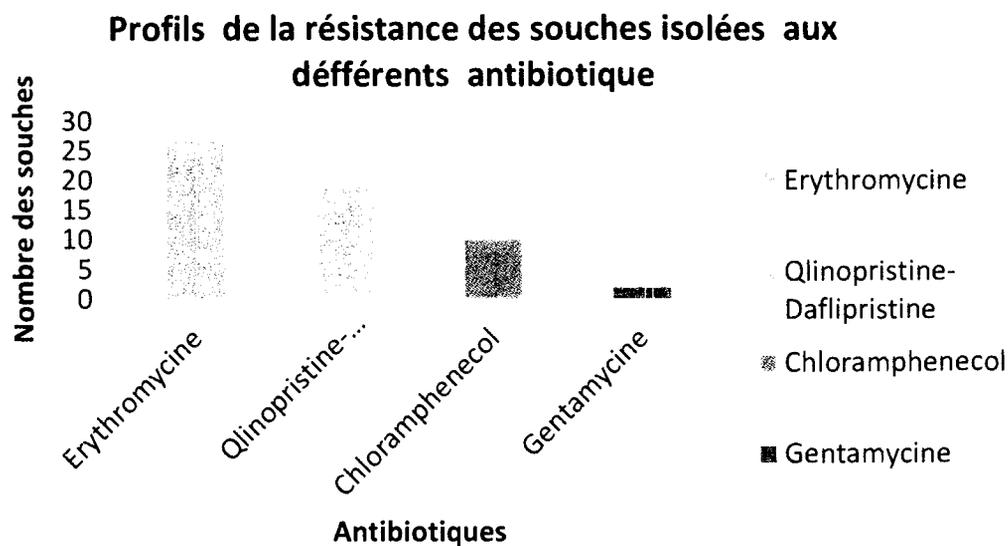
### 5.4. L'étude de sensibilité

Sur les trente-deux souches des entérocoques isolés, nous avons procédé à l'étude de sensibilité aux différents antibiotiques par l'antibiogramme standard.

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

Antibiotiques	Nombre des souches d'Entérocoque
Erythromycine	27
Qlinopristine-Daflipristine	19
Chloramphenicol	10
Gentamycine	2

**Tableau 11** : Nombre des Entérocoques résistants aux antibiotiques : rythromycine, qlinopristine-daflipristine, gentamycine, chloramphenicol.



**Figure 30 :** Nombres des souches d'Entérocoque résistantes aux erythromycine, qlinopristine-daflipristine, gentamycine, chloramphenecol.

Les résultats présentés dans le tableau 11 montrent que la plupart des souches d'entérocoque résistent à l'erythromycine soit 27 / 32 souches isolées et la détection de deux souches d'entérocoque qui présentent une résistance de haut niveau à la gentamycine.

# Discussion

## Discussion

L'étude que nous avons réalisée durant la période de Janvier 2016 au Mars 2016 portée sur un total de 163 prélèvements.

Le choix de la population cible a été orientée par les données de la littérature, où ils sont considérés comme patients à risque de portage digestifs des entérocoques résistants à la vancomycine ceux qui sont immunodéprimés, ont séjourné plus de 48h et sous antibiothérapie favorisant l'émergence de la résistance à la vancomycine telle que vancomycine, aminoside et céphalosporine de troisième génération.

Les prélèvements (recueil des selles et écouvillonnage rectale) ont été réalisés dans les conditions strictes d'asepsie et acheminés le plus rapidement possible au laboratoire.

Nous avons effectué pour cette étude la technique maison qui utilise le milieu sélectif gélose de base contenant 4 mg /l de vancomycine, 1mg/l de cefotaxim CTX, une goutte de fungisone. Le choix des concentrations des antibiotiques à utiliser a été fait suite à l'étude des CMI de résistance (9).

L'examen bactériologique a permis d'isoler 32 souches d'entérocoques présumées résistantes à la vancomycine soit un pourcentage de 19%.

La prévalence est de 0%.

Cette prévalence de portage fécal est faible, si on sait que les entérocoques sont des commensaux du tube digestif de l'homme, ceci est expliqué par la teneur en vancomycine utilisée qui est à l'origine de l'inhibition des souches d'entérocoques naturellement sensibles à la vancomycine à l'exception de quelques espèces. En effet la culture d'une souche témoin d'entérocoque sensible à la vancomycine a été négative.

La plus part des souches d'entérocoques isolées provient de service d'hématologie de Frantz Fanon 8 souches sur 32 et il s'agit des *Entrococcus faecalis*, ceci peut être expliqué par l'état immunitaire faible des malades et la prise par la majorité des antibiotiques à titre préventifs ou curatifs telle que la vancomycine, C3G et les aminosides.

La prévalence des cas positifs est significativement plus élevée pour l'ensemble des malades qui ont séjourné plus qu'une semaine à l'hôpital. Car le fait de dire un long séjour à l'hôpital veut dire que la quantité et la durée de prise d'antibiotique seront augmentées ; ainsi que le contact avec les bactéries résistantes sera plus probable ; ce qui peut aboutir à la sélection des entérocoques connus par leurs résistance naturel à la plus part des antibiotiques et par la résistance dans les milieux hostile telle que l'hôpital.

La comparaison entre notre étude et une étude faite en parallèle sur le portage digestif des entérobactéries résistantes à l'imipénème nous permet de déduire que les adultes sont plus susceptibles de développer un état de portage des ERV que les enfants et les nourrissons, cette situation est inversée pour le portage d'imipénème.

Après les calculs des paramètres épidémiologiques telle que le chi deux nous avons confirmés que la prise d'antibiotique, l'état immunitaire, la durée de séjour et l'âge sont des facteurs de risque de portage des ERV.

Les résultats de la sensibilité des souches aux différents antibiotiques obtenus à partir d'un antibiogramme standard montrent l'absence de résistance à la vancomycine, ce résultat a été confirmé par l'étude moléculaire réalisée au niveau de l'institut Pasteur où aucun gène de résistance n'a été détecté (ni van A ni van B), donc sur l'ensemble des prélèvements aucune souche d'ERV n'a été isolée. Ceci peut être expliqué d'une part par le fait que les malades inclus ont été presque tous sous aminoside et/ou C3G et ces deux familles d'antibiotiques n'induit pas la résistance mais plutôt provoquent la sélection des entérocoques, alors que c'est l'utilisation de la vancomycine qui induit l'apparition de la résistance et donc l'émergence des ERV. D'autre part au nombre faible de prélèvements dû à la durée court de mémoire et au manque de matériels et réactifs nécessaire pour l'isolement des ERV. De ce fait nous croirons dans le futur l'isolement des souches ERV si l'utilisation de la vancomycine n'est pas rationalisée (portage).

La recherche des entérocoques résistants à la vancomycine dans les selles ou par écouvillonnage rectale n'avait pas encore fait l'objet d'étude dans notre pays. Cependant certains laboratoires du réseau algérien de surveillance de la résistance des bactéries aux ATB ont signalé en 2011 la détection de 8 souches d'entérocoques résistants à la vancomycine, dont 5 à l'hôpital et 3 en externe. Même si La situation épidémiologique des ERV en Algérie reste des cas sporadiques, leurs détection et par la suit leurs destruction doit être l'objectif des établissements concernés et notre travail représente l'une de ces tentatives et un exemplaire qui sera pris par considération par nos collègues au futur (38).

En France, la situation est complètement différente. Selon une enquête fait par l'institut de veille sanitaire juin 2007 dans les établissements de santé de la région Lorraine sur le portage digestif des entérocoques résistants à la vancomycine (ERV) la prévalence trouvée est nettement supérieure à celle de l'enquête Onerba-CNR-InVS de juin 2006 (0,3 %). Ces résultats sont en faveur d'une diffusion des ERG dans la région (24).

Selon la même source la prévalence hospitalière d'entérocoques résistant à la vancomycine est plus élevée aux USA (environ 10 %) qu'en Europe ou la situation est devenue endémique.

Nous avons noté chez certaines souches une résistance de haut niveau aux aminosides et macrolide. Ce qui est proche des résultats obtenus en France ou l'on a rapporté que cette résistance de haut niveau aux aminosides en particulier la gentamicine n'est pas plus fréquente chez les souches résistantes à la vancomycine que chez les souches sensibles contrairement à ce qui est observé aux Etats-Unis ou au Royaume-Uni (24).

# Conclusion

## Conclusion

L'émergence des bactéries résistantes aux antibiotiques constitue aujourd'hui l'une des plus graves menaces pesant sur la santé mondiale.

Notre étude a comme principales buts de proposer une technique de dépistage de portage digestif d'ERV et de déterminer une prévalence de portage digestif d'ERV, secondairement : décrire les espèces d'ERV, étudier la résistance aux autres antibiotiques et étudier les facteurs de risques de portage digestif d'ERV.

La technique de dépistage s'agit d'une gélose additionnée à 4mg/l de vancomycine et 1mg/l de CTX.

Au terme de notre étude portant sur 163 prélèvements, la prévalence de portage digestif d'entérocoque résistant à la vancomycine est de 0. Nous recommandons d'augmenter la CMI à 6mg/l.

Le profil de la résistance aux autres antibiotiques été variable d'une souche à une autre. La plus part des souches d'entérocoque isolées sur notre milieu ont été résistantes à l'érythromycine.

L'absence de portage digestif des entérocoques résistants à la vancomycine dans cette région ne représente pas tout l'état de portage en Algérie, l'étude doit être renouvelé constamment en l'élargissant à un nombre d'établissement supérieur, nous devons éviter ce fléau par l'utilisation raisonnée des antibiotiques et surtout de la vancomycine aussi il aussi respecter les règles d'hygiène.

# Références bibliographies

## Références bibliographies

1. ARIAS.CA, MURRAY.BE: the rise of the enterococcus: beyond vancomycin resistance, 2012.
2. ALOUFJ.E :L'entérocoque a-t-il des facteurs de virulence, 1994.
3. BARZA.M, CUCHURAL.G: the penetration of antibiotics into the prostate in chronic bacterial prostatitis. European journal of clinical microbiology.1984.
4. BOUVET.A : identification des entérocoques en microbiologie clinique. Médecine et maladies infectieuses .1994.
5. CAIT, MAZZOLI.S, MEACCI.F, BODDI.V, MONDAINI.N, MALOSSINI.G, and BARTOLETTI.R: epidemiological features and resistance pattern in uropathogens isolated from chronic bacterial prostatitis. Journal of microbiology 2011.
6. CLEWELL.DB: movable genetic elements and antibiotic resistance in enterococci. European journal of clinicalmicrobiology and infectiousdiseases 1990.
7. CLEWELL.DB: properties of enterococcus faecalis plasmid pad1, a member of a widely disseminated family of pheromone-responding, conjugative, virulence elements encoding cytolysin. Plasmid. 2007.
8. C. DAUREL, R. LECLERCQ, Service de Microbiologie, CHRU Côte de Nacre, Franc : Faut-il abandonner la vancomycine.
9. Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie recommandations de 2014.
10. CLARK.NC, WEIGEL.LM, PATEL.JB, TENOVER.FC: Comparison of tn1546-like elements in vancomycin-resistant *staphylococcus aureus* from michigan and pennsylvania. 2005.
11. Direction des risques biologiques et de la santé au travail : Mesures de prévention et contrôle de l'entérocoque résistant à la vancomycine dans les milieux de soins aigus du Québec Comité sur les infections nosocomiales du Québec .2012.
12. DALI.A : Infection nosocomiales à bactéries multirésistantes en réanimation adulte à l'EHU.2015.
13. DRAME.B.G : Phénotypes de résistance de souches bactérienne isolées au CHU A Le DANTEC. Thèse Pharmacie. Dakar, 1999.
14. DUTKA.M, COURVALINP : Résistance aux glycopeptides et aux aminosides chez les entérocoques.1995.
15. ETIB.D, HUYCKEM.M, and GILMOREM.S: Virulence of enterococci .Clin.Microbiol.1990.
16. FLANNAGAN.SE, CHOW.JW, DONABEDIAN.SM, BROWN.WJ, PERRI.MB, ZERVOS.MJ, OZAWA.Y, CLEWELL.DB: Plasmid content of a vancomycin resistant enterococcus faecalis isolate from a patient also colonized by staphylococcus aureus with a van a phenotype.2003.
17. FACKLA.MR, WASHINGTONI.J.A: streptococcus and related catalase-negative gram-positive cocci.1991.
18. FACKLAM.R, D.HOLLIS.R, and COLLINS.M: identification of gram-positive coccal and coccobacillaryvancomycin resistant bacteria. 1989.

19. GILBERT.DN, MOELLERING.RC, ELIOPOULOS.GM, CHAMBERS.HF, SAAG.MS: the Sanford guide to antimicrobial therapy .2012.
20. GOETZ.AM, RIHS.JD, WAGENER.MM, MUDER.MM: Infection and colonization with vancomycin-resistant enterococcus faecium in an acute care veteran's affairs medical center.998.
21. HERSHBERGER.E, DONABEDIAN, KONSTANTINOOU.K, ZERVOS.MJ; resistance in gram-positive bacteria: mechanism of resistance and epidemiology.in clinical infectious diseases. 2004.
22. HLJ.R, HOPKINS.M, ZHANG.S, LESKED.A, HOLMES.J.M, and COCKERILLF.R: A new Enterococcus species isolated from neonatal rats with diarrhea. 1998.
23. HUYCKE .M.M, SAHM. D.F and GILMORE.M.S: Multiple-drug resistant enterococci: the nature of the problem and an agenda for the future.70/20. JETT.BD, HUYCKE.MM, GILMORE.MS: virulence of enterococci. Clinical microbiology reviews 1994.
24. Institut de veille sanitaire : Prévalence du portage digestif des entérocoques résistants aux glycopeptides (ERG) dans les établissements de santé de la région Lorraine .2007.
25. JEHL.F, CHOMARAT.M, WEBER.M, GERARD.A : de l'antibiogramme à la prescription.2000.
26. KANG.J, SICKBERT-BENNETT.EE, BROWN.VM, WEBER.DJ, RUTALA.WA: relative frequency of health care-associated pathogens by infection site at a university hospital from 1980 to 2008. American journal of infection control 2011.
27. KOEIJERS.JJ, KESSELS.AG, NYS.S, BARTELD.S.A, DONKER.G, and STOBBERINGH.EE, VERBON.A: evaluation of the nitrite and leukocyte esterase activity tests for the diagnosis of acute symptomatic urinary tract infection in men. Clinicalinfectiousdiseases 200.
28. K.RAMER .A, SCHWEBKE.I, KAMPF.G: how long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces.2006.
29. LEWISC.M, ANDZERVOSM.J. Clinical manifestations of enterococcal infection.1990.
30. LECLERCQ.R, DERLOT.E, DUVAL.J, COURVALIN.P: plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in enterococcus faecium.1988.
31. LAURE.CHAUFREY : colonisation et infection urinaire entérocoque chez l'homme. 2012.
32. MARAKIS, MANTADAKIS.E, MICHAILEDIS.L, and SAMONIS.G: changing antibiotic susceptibilities of community-acquired uropathogens in Greece, 2005-2010.
33. MAGRI.V, MARRAS.E, PERLETTI.G: chronic bacterial prostatitis: enterococcal disease. Clinicalinfectiousdiseases 2010.
34. MURRAYB.E.The life and times of the enterococcus. Clin.Microbiol.1990.
35. MURRAY.BE: the life and times of the enterococcus. Clinicalmicrobiology reviews.1990.
36. MONTRAVER.SP, CARBON .C : Les modèles expérimentaux permettent-ils de caractériser le rôle pathogène des entérocoques ,1994.
37. MARGUERITE.F, NANCY .B, ROLAND .L : Epidémie à entérocoque résistant aux glycopeptides en France.2007.
38. Médecine et maladies infectieuses, 2008.

39. MANTION.B : Entérocoques résistants à la vancomycine ERV de grande épidémie vers une gestion en routine.2015.
40. NABER.KG, BUSCH.W, FOCHT.J: ciprofloxacin in the treatment of chronic bacterial prostatitis: a prospective, non-comparative multicentre clinical trial with long term follow-up. The germ and prostatitis study group. International journal of antimicrobial agents 2000.
41. RICE.LB: Emergency of vancomycin-resistant enterococci. 2001.
42. SCHMITJ.L, LECLERCQ.R, SCHEIMBERGD.A, ANDLANDAUERD : Approche épidémiologique et clinique des entérocoques, résultats d'une enquête.Med.Mal.Infect.1994.
43. SLAUGHTER.S, HAYDEN.MK, NATHAN.C, ET AL : A comparison of the effect of universal glove and gown use with glove use alone in the acquisition of vancomycin-resistant enterococci in a medical intensive care unit.1996.
44. TEIXEIRAL .M, CARVALHO.S, MERQUIORL.C, STEIGERWALT.A.G, TEIXEIRAM .M, BRENNER.J, FACKLAMR.R. Recent approaches on the taxonomy of the enterococci and Soren related microorganisms.1996.
45. VELASCO M, MATEOS JJ, MARTINEZ.JA, MORENO-MARTINEZ.A, HORCAJADA.JP, BARRANCO.M, LOMENA.F, MENSA.J: accurate topographical diagnosis of urinary tract infection in male patients with indium-labelled leukocyte scintigraphy. European journal of internalmedicine 2004.
46. VERONIQUE ERARD, HFR, entérocoque résistant à la vancomycine, entérocoque résistant aux glycopeptides. Février 2016.
47. VINCENT.G : efficacité d'une décolonisation digestive par streptomycine per os chez les patients porteurs d'entérocoques résistants à la vancomycine au niveau digestif. 2006.
48. WOODFOR.DN, MORRISON.D, JOHNSON.A.P, BRIANT .V, GEORGER.C, COOKSONB: Application of DNA probes for r RNA and Van A genes to investigation of nosocomial cluster of vancomycin-resistant enterococci. 1993.
49. XELROD.P, TABLOT .G: Risques factor for acquisition of gentamicin-resistantenterococci. 1989.

# Annexes

**Tables des annexes :**

Annexe I : Mécanisme de résistance d'entérocoque à la vancomycine .....	58
Annexe II : Fiche individuelle de renseignements .....	60
Annexe III : la coloration de Gram.....	61
Annexe IV : l'antibiogramme :.....	62
Annexe V : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour <i>Enterococcus spp</i> .....	63
Annexe VI : Répartition des patients présumés porteurs d'ERV .....	64
Annexe VIII : Les calculs de Chi-deux .....	666

## Annexe I : Mécanisme de résistance d'entérocoque à la vancomycine

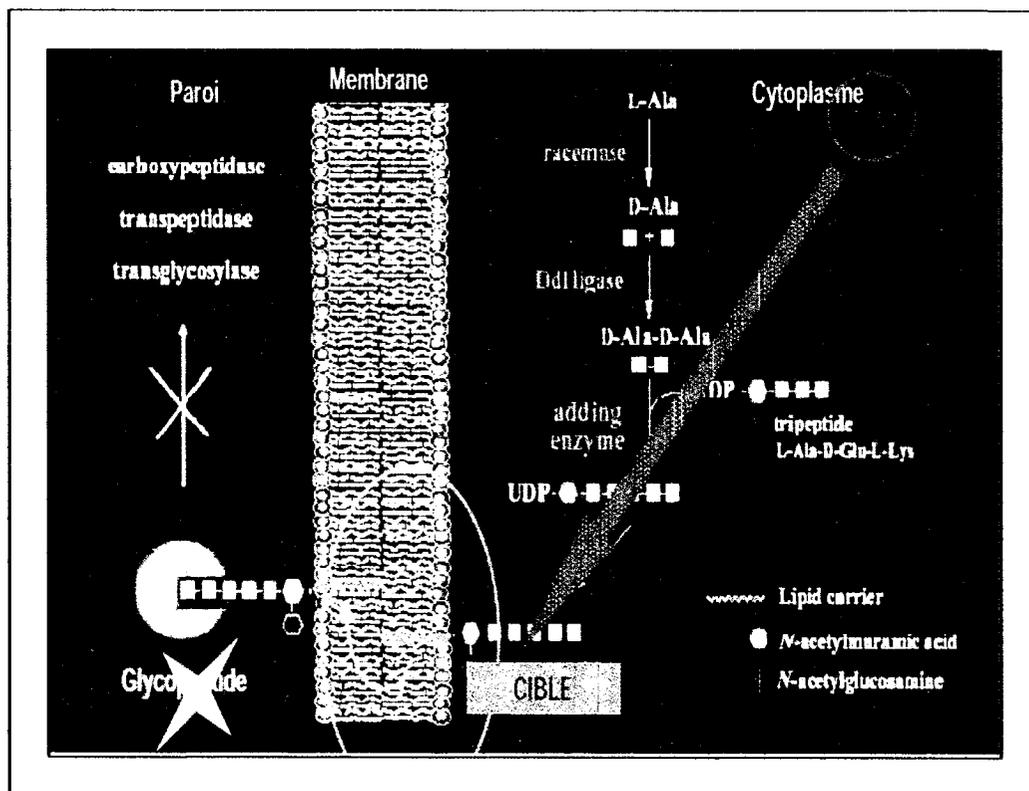


Figure 33 : Le mécanisme de résistance d'entérocoque à la vancomycine.

## Annexe II : Fiche individuelle de renseignements

### Laboratoire microbiologique de l'hôpital hassibabenbouali

#### a Information sur le service :

- Date et l'heur de recueil ...../...../..... A .....h.....
- Nom du service .....
- Numéro d'ordre :.....

#### b Information sur le malade

- Nom :.....
- Prénom :.....
- Age :.....

- Sexe :

Homme

Femme

- Pathologie .....
- Symptôme.....
- Durée d'hospitalisation .....
- Traitement .....
- Thérapie hors du pays  Oui - Nom du pays .....
- Non

- antibiothérapie:  Oui  Vancomycine
- Aminoside
- Imipenème
- Cotrimoxazole
- C3G
- Autre

- Durée de traitement .....
- Fréquence .....
- Dernière prise d'antibiotique
- Porte d'entrée

Non

Cachet de médecin

### **Annexe III : la coloration de Gram**

#### **A- Préparation de frottis :**

- 1) Déposer une goutte d'eau physiologique stérile en milieu d'une lame ;
- 2) A partir d'une culture pure de 24 heure sur le milieu d'isolement prélevé à l'aide d'une pipette Pasteur quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques et les déposer sur la lame;
- 3) Bien homogénéiser les colonies avec l'eau pour obtenir une suspension bactérienne ;
- 4) On laisse le frotti séché à l'air libre à proximité d'un bec benzène ;

#### **B- Coloration de Gram :**

- 1) Recouvrir le frottis fixé d'une solution de violet de gentiane et laisser agir une minute ;
- 2) Rejeter le colorant en l'entraînant avec une solution de Lugol et laisser agir 30 Second;
- 3) Laver à l'eau courante ;
- 4) Décolorer par l'alcool à 90 °C ;
- 5) Laver abondamment à l'eau ;
- 6) Recouvrir de Fuchine diluée et laisser agir 30 second à 1 minute ;
- 7) Laver, sécher et examiner à l'objectif à immersion.

## Annexe IV : l'antibiogramme :

### A- Préparation de l'inoculum :

- 1) A partir d'une culture pure de 18 à 24 heures des souches d'entérocoques, racler à l'aide d'une hanse de platine quelques colonies bien isolées et identiques ;
- 2) Décharger l'anse dans 05 ml d'eau physiologique stérile à 0,9 % et bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 MF.

### B- Ensemencement :

- 1) Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum,
- 2) L'essorer en le pressant fermement contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum.
- 3) Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, en stries séries.
- 4) Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même, finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- 5) Application des disques d'antibiotiques à l'aide d'une pince bactériologique stérile.
- 6) L'incubation est faite à 35 °c pendant 24 heures à l'étuve.

### C- Lecture des antibiogrammes :

Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.

Comparer les résultats obtenus aux valeurs critiques figurant dans la table de lecture.

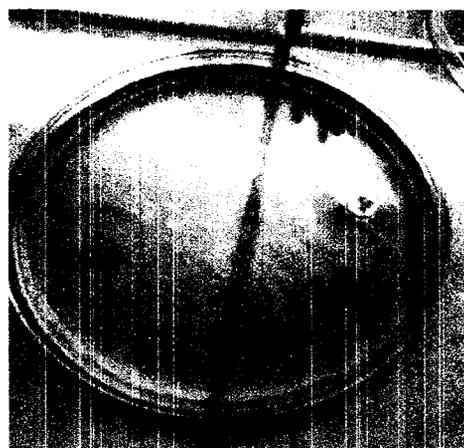


Figure 34 : Antibiogramme.

## Annexe V : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Enterococcus spp*

Table de lecture 5 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Enterococcus spp*.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ampicilline	10µg	≤16	—	≥17	≥16	—	≤8	Interprétation valable pour amoxicilline
Tétracycline	30µg	≤14	15-18	≥19	≥16	8	≤4	Interprétation valable pour doxycycline
Vancomycine	30µg	≤14	15-16	≥17	≥32	8-16	≤4	Rechercher la sensibilité diminuée aux glycopeptides (voir « Tests complémentaires »). Confirmer par la CMI de vancomycine et de teicoplanine en cas de réponse R ou I ou de screening test positif.
Teicoplanine	30µg	≤10	11-13	≥14	≥32	16	≤8	
Gentamicine Haut niveau	120µg	≤6	7-9	≥10	> 500	—	≤500	CMI en milieu solide (BHI agar)
Streptomycine Haut niveau	300µg	≤6	7-9	≥10	> 1000 > 2000	—	≤500 ≤1000	CMI en milieu liquide (BHI bouillon) CMI en milieu solide (BHA)
Levofloxacine	5µg	≤13	14-16	≥17	≥8	—	≤2	
Erythromycine	15µg	≤13	14-22	≥23	≥8	1-4	≤0,5	
Furanes	300µg	≤14	15-16	≥17	≥128	64	≤32	Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines.
Ritampicine	5µg	≤16	17-19	≥20	≥4	2	≤1	
Fosfomycine	200µg	≤12	13-15	≥16	≥256	128	≤64	Recommandé pour les souches d' <i>E. faecalis</i> isolées du tractus urinaire.
Quinupristine-Dallopristine	15µg	≤15	16-18	≥19	≥4	2	≤1	Spécie limité à <i>E. faecium</i> vancomycine résistant.
Chloramphénicol	30µg	≤12	13-17	≥18	≥32	16	≤8	Interprétation non valable pour les souches urinaires. Interprétation valable pour tétracyclines.

\*Tableau extrait de Document M100 - S21, Vol. 31, n°1, 2011, Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, twenty-first international supplement.

### Annexe VI : Répartition des patients présumés porteurs d'ERV

Numéro d'ordre	Espèce	Service	Age	Sexe	Prise d'antibiotique	Durée de séjour
55	<i>E.faecalis</i>	Chirurgie orthopédie	24 ans	H	Aminoside et C3G	07 jours
56	<i>E.faecalis</i>	Chirurgie femme	47 ans	F	Aminoside et C3G	08 jours
59	<i>Enterococcus .sp</i>	Hémodialyse khemis	59 ans	H	C3G	Plus de 01 mois
90	<i>E.faecalis</i>	Néonatalogie		H	C3G	03 jours
98	<i>Enterococcus. Sp</i>	Néonatalogie	17 jours	H	Pas d'antibiothérapie	17jours
103	<i>Enterococcus. Sp</i>	Néonatalogie khemis	45 jours	H	Aminoside et C3G	07 jours
110	<i>E.faecalis</i>	Néonatalogie khemis	10 jours	H	Pas d'antibiothérapie	10 jours
149	<i>E.faecalis</i>	Oncologie	06 ans	F	Aminoside, C3G et imipenème	05 mois
150	<i>E.faecalis</i>	Oncologie	08 ans	F	Pas d'antibiothérapie	06 mois
164	<i>Enterococcus. Sp</i>	Hématologie	68 ans	H	C3G	19 jours
166	<i>E.faecalis</i>	Hématologie	57 ans	F	C3G	14 jours
167	<i>E.faecalis</i>	Hématologie	49 ans	H	C3G	03 jours
168	<i>E.faecalis</i>	Hématologie	47 ans	F	Pas d'antibiothérapie	24 h
169	<i>E.faecalis</i>	Hématologie	31 ans	F	C3G	28 jours
170	<i>Enterococcus. Sp</i>	Hématologie	54 ans	F	Aminoside et c3g	12 jours
171	<i>Enterococcus. Sp</i>	Hématologie	47 jours	F	Vancomycine, aminoside et c3g	22 jours
172	<i>E.faecalis</i>	Hématologie	69 ans	H	Pas d'antibiothérapie	07 jours
173	<i>E.faecalis</i>	Néonatalogie	08 jours	F	Aminoside	07 jours

174	<i>Enterococcus. Sp</i>	CCI	02 ans	H	C3G	07 jours
175	<i>Enterococcus. Sp</i>	CCI	06 mois	H	Aminoside et C3G	07 jours
176	<i>EnterococcusSp</i>	CCI	06 mois	H	C3G	11 jours
179	<i>Enterococcus. Sp</i>	Oncologie	06 ans	H	C3G	01 mois
180	<i>Enterococcus. Sp</i>	Pédiatrie	04 ans	F	C3G	18 jours
184	<i>Enterococcus. Sp</i>	Pédiatrie	02 ans	H	C3G	07 jours
185	<i>Enterococcus. Sp</i>	Pédiatrie	05 ans	H	Pas d'antibiothérapie	Plus d'un 1 mois
186	<i>Enterococcus. Sp</i>	Pédiatrie	13 mois	H	Aminoside et C3G	48h
187	<i>Enterococcus. Sp</i>	Pédiatrie	05 ans	H	Pas d'antibiothérapie	07 jours
188	<i>Enterococcus. Sp</i>	Pédiatrie	03 mois	H	Pas d'antibiothérapie	05 jours
189	<i>Enterococcus. Sp</i>	Pédiatrie	12 mois	H	Imipenème	22 jours
190	<i>Enterococcus. Sp</i>	Pédiatrie	08 ans	F	Pas d'antibiothérapie	03 jours
191	<i>Enterococcus. Sp</i>	Pédiatrie	07 ans	H	Pas d'antibiothérapie	07 jours
193	<i>Enterococcus. Sp</i>	Pédiatrie	02 ans	F	Aminoside	07 jours

**Tableau 12 :** Répartition des patients présumés porteurs d'ERV.

## Annexe VIII : Les calculs de Chi-deux

La loi de khi-deux :

$$X^2 = \sum \frac{(O_i - C_i)^2}{C_i}$$

On a :

$O_i$ : Effectif réel ;

$C_i$  : Effectif calculé ;

$C_i = (\text{Total de ligne} \times \text{Total de colonne}) / \text{Total général}$  ; avec  $C_i \geq 5$ .

Risque d'erreur :  $\alpha = 0,05$  ;

Degré de liberté :  $ddl = (\text{Nombre de lignes} - 1) \times (\text{Nombre de colonnes} - 1)$ .

La répartition selon les services :

	<b>Services (Hématologie + Oncologie pédiatrique)</b>	<b>Les autres services inclus dans notre étude</b>	<b>Total</b>
<b>Cultures positives</b>	11	21	32
<b>Cultures négatives</b>	11	120	131
<b>Total</b>	22	141	163

$ddl = 1$  ;  $\alpha = 0,05$  ;  $X^2$  de la table = 0,0039.

$X^2 = 14,86$

La répartition selon l'âge :

	Moins de 15 ans	Plus de 15 ans	Total
<b>Cultures positives</b>	21	11	32
<b>Cultures négatives</b>	112	19	131
<b>Total</b>	133	30	163

$ddl = 1$  ;  $\alpha = 0,05$  ;  $X^2$  de la table = 0,0039.

$$X^2 = 24,56$$

La répartition selon la durée de séjour :

	Mois de 7 jours	Plus de 7 jours	Total
<b>Cultures positives</b>	5	27	32
<b>Cultures négatives</b>	54	77	131
<b>Total</b>	59	104	163

$ddl = 1$  ;  $\alpha = 0,05$  ;  $X^2$  de la table = 0,0039.

$$X^2 = 7,29$$

La répartition selon le sexe :

Sexe	Homme	Femme	Total
<b>Cultures négatives</b>	74	57	131
<b>Cultures positives</b>	20	12	32
<b>Total</b>	94	69	163

ddl = 1 ;  $\alpha = 0,05$  ;  $X^2$  de la table = 0,0039.

$X^2 = 0,38$

La répartition selon la prise d'antibiotique :

	<b>Antibiothérapie (Vancomycine, C3G, Aminosides, Imipéneme)</b>	<b>Pas d'antibiothérapie</b>	<b>Total</b>
<b>Cultures positives</b>	23	9	32
<b>Cultures négatives</b>	74	57	131
<b>Total</b>	97	66	163

ddl = 1 ;  $\alpha = 0,05$  ;  $X^2$  de la table = 0,0039.

$X^2 = 2,53$

# Résumé

## Résumé

Afin de proposer une technique de dépistage de portage digestif d'ERV, déterminer une prévalence de portage digestif d'ERV, décrire les espèces d'ERV, étudier la résistance et étudier les facteurs de risques de portage digestif d'ERV nous avons réalisé une étude prospective qui s'est déroulée de janvier au mars 2016. Notre travail a été réalisé sur 163 prélèvements prévenants de patients à risque de portage digestif d'ERV, répartis sur 9 services de 3 établissements.

La recherche des ERV a été effectuée sur des milieux de gélose nutritive additionnée de 4 mg de vancomycine et 1mg de cefotaxime selon les recommandations de CLSI.

Le pourcentage de portage digestif d'entérocoque résistant à la vancomycine est de 0%.

L'absence de portage digestif des entérocoques résistants à la vancomycine dans cette région ne représente pas tout l'état de portage en Algérie, l'étude doit être renouvelé constamment et élargie à un nombre plus important de patient.

**Mots clé :** Portage digestif, entérocoques, résistance, vancomycine, gène de résistance.

## Abstract

To provide a VRE digestive porting screening technique, determine a digestive carrying VRE prevalence, describe species of VRE, study the resistance and study the digestive carry risk factors for VRE we achieved prospective study was conducted from January to March 2016. Our work was carried out on 163 samples considerate of patients at risk of gastrointestinal carriage of VRE spread over 9 3 services institutions.

Search for VRE was performed on nutrient agar media supplemented with 4 mg of vancomycin and cefotaxime 1mg as recommended by CLSI.

The percentage of gastrointestinal porting of vancomycin-resistant enterococcus is 0%.

The lack of digestive porting of vancomycin resistant enterococci in this region does not represent all the carrier state in Algeria, the study must be constantly renewed and extended to a larger number of patients.

**Keywords:** digestive Portage, enterococci, resistance, vancomycin resistance gene.

<b>AZI NACERA</b> <b>nacera.azi@gmail.com</b>	<b>FERAOUN RERIEL</b> <b>feriel.feraoun@gmail.com</b>	<b>GUEDDOURI CHAFIA</b> <b><u>gueddourichafia@gmail.com</u></b>
--	--	--

## Résumé

Afin de proposer une technique de dépistage de portage digestif d'ERV, déterminer une prévalence de portage digestif d'ERV, décrire les espèces d'ERV, étudier la résistance et étudier les facteurs de risques de portage digestif d'ERV nous avons réalisé une étude prospective qui s'est déroulée de janvier au mars 2016. Notre travail a été réalisé sur 163 prélèvements prévenants de patients à risque de portage digestif d'ERV, répartis sur 9 services de 3 établissements.

La recherche des ERV a été effectuée sur des milieux de gélose nutritive additionnée de 4 mg de vancomycine et 1mg de cefotaxime selon les recommandations de CLSI.

Le pourcentage de portage digestif d'entérocoque résistant à la vancomycine est de 0%.

L'absence de portage digestif des entérocoques résistants à la vancomycine dans cette région ne représente pas tout l'état de portage en Algérie, l'étude doit être renouvelé constamment et élargie à un nombre plus important de patient.

**Mots clé :** Portage digestif, entérocoques, résistance, vancomycine, gène de résistance.

## Abstract

To provide a VRE digestive porting screening technique, determine a digestive carrying VRE prevalence, describe species of VRE, study the resistance and study the digestive carry risk factors for VRE we achieved prospective study was conducted from January to March 2016. Our work was carried out on 163 samples considerate of patients at risk of gastrointestinal carriage of VRE spread over 9 3 services institutions.

Search for VRE was performed on nutrient agar media supplemented with 4 mg of vancomycin and cefotaxime 1mg as recommended by CLSI.

The percentage of gastrointestinal porting of vancomycin-resistant enterococcus is 0%.

The lack of digestive porting of vancomycin resistant enterococci in this region does not represent all the carrier state in Algeria, the study must be constantly renewed and extended to a larger number of patients.

**Keywords:** digestive Portage, enterococci, resistance, vancomycin resistance gene.

