

## INTRODUCTION

Bactéries de la flore commensale de l'homme, les entérocoques sont présents un peu partout dans l'organisme humain et principalement au niveau du tractus intestinal et n'ont pas la réputation d'être particulièrement pathogènes. *E. faecalis* et *E. faecium* sont responsables de la quasi-totalité des infections à entérocoques chez l'homme (17, 18, 33, 41, 48, 49, 51).

Aujourd'hui trois éléments conduisent à un regain d'intérêt pour les entérocoques à savoir l'augmentation croissante de leur isolement au cours d'infections diverses (17, 22, 41, 48), l'importance de la place qu'ils occupent en pathologie nosocomiale (11, 17, 18, 33, 48, 49, 50, 51) et l'émergence et l'accumulation de mécanismes de résistance aux antibiotiques.

En effet leur rôle dans les infections nosocomiales est en constante progression et ainsi les entérocoques y occupent la troisième position derrière *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* (17, 53). Ce rôle en pathologie nosocomiale est pour beaucoup dû à la remarquable habilité des entérocoques à pouvoir être multirésistants ou à avoir une sensibilité minimale à beaucoup d'antibiotiques d'usage courant en thérapeutique.

L'activité bactéricide nécessaire au traitement d'infections sévères à entérocoques associe un antibiotique actif sur la paroi bactérienne à savoir la vancomycine ou une bêtalactamine et un aminoglycoside.

Ainsi l'imperméabilité de la paroi des entérocoques vis à vis des aminosides expliquant leur résistance à bas niveau est levée par l'action préalable de la vancomycine ou de la bêtalactamine (17, 18, 23, 49, 50). Mais ce traitement de référence est remis en cause depuis l'apparition de la résistance des entérocoques à la vancomycine, aux

bêtalactamines et de la résistance à haut niveau aux aminosides faisant ainsi disparaître la synergie bactéricide (**17, 21, 49**). La résistance à la vancomycine considérée comme l'agent du dernier ressort dans les infections sévères de germes à Gram positif (**25, 31**) a été la plus surprenante et la plus impressionnante.

En effet l'entérocoque est la première bactérie connue à avoir acquis une résistance plasmidique transférable aux glycopeptides (**33**). Ces souches connues sous le nom de VRE (vancomycin resistant enterococci), décrites en 1988 au Royaume Uni et en 1989 aux Etats-Unis (**31, 49**) sont généralement résistantes à tous les antibiotiques utilisés en thérapeutique (**19, 25,31,41**). Aux Etats Unis la prévalence des VRE est passée de 0,3 % en 1989 à 7,9% en 1993 (**11,10, 41, 49, 53**). Cette résistance à la vancomycine est d'autant plus inquiétante qu'elle peut s'étendre à des germes Gram positif multirésistants comme *Staphylococcus aureus* qui, présentement sont efficacement traitées avec la vancomycine (**11, 31, 33, 41**). La résistance des entérocoques à la vancomycine a coïncidé avec l'augmentation de la prévalence des hauts niveaux de résistance aux aminosides ; ceci rend très problématique voire impossible le traitement des patients infectés par les VRE particulièrement ceux souffrant de maladies graves (**21, 49**). Aux Etats-Unis le taux de mortalité chez les patients ayant une infection à VRE augmente (**21, 37, 42**) et a été estimé à 55 % (**10**) dans certains cas. Ceci entraîne également l'augmentation de la durée d'hospitalisation et du coût du traitement, d'où la nécessité de détecter les hauts niveaux de résistance aux aminosides chez les entérocoques responsables d'infections ainsi que les VRE.

Ce travail sur les entérocoques isolés entre avril 1997 et février 1998 au laboratoire de Bactériologie-Virologie de l'HALD et à l'Institut Pasteur principalement avait pour objectif de faire le point sur la prévalence des souches VRE, celle des hauts niveaux de résistance aux aminosides et de tester leur sensibilité par rapport à différents antibiotiques.

## I IDENTIFICATION DES ENTEROCOQUES

### 1.1) Rappel

Le terme d'entérocoque fut utilisé pour la première fois en 1899 par THIERCELIN pour décrire un nouveau diplocoque à Gram positif isolé dans le tube digestif humain (52). ANDREWES et HORDER introduisirent en 1906 le nom de *Streptococcus faecalis*. Ce germe appartient à la famille des Streptococcaceae. Initialement classé dans le genre *Streptococcus* parmi les streptocoques du groupe D, le genre *Enterococcus* en a été différencié en 1984 (17, 18, 21). En effet les résultats des études d'hybridation ADN-ADN et ADN-rARN ont démontré que les entérocoques sont nettement distincts des autres streptocoques du groupe D (*S. bovis*, *S. equinus*) bien qu'ils réagissent avec l'immun sérum du groupe D et présentent certaines propriétés physiologiques communes avec ces streptocoques (17, 18, 21, 22). Des études basées sur l'analyse des protéines de liaison à la pénicilline ont contribué à individualiser les différentes espèces d'entérocoques (22). Ces entérocoques sont des commensaux du tube digestif de l'homme et des animaux et le genre *Enterococcus* comprend plus de quatorze espèces parmi lesquelles *E. faecalis* et *E. faecium* représentent respectivement 90% et 10% des entérocoques d'origine colique et sont responsables dans les mêmes proportions de la quasi-totalité des infections à entérocoques chez l'homme (17, 18, 22, 33, 41, 48).

## **1-2) Caractères généraux**

### **1-2-1) Caractères morphologiques**

Ce sont des cocci ovoïdes à Gram positif disposés en diplocoques ou en courtes chaînettes, non sporulés, immobiles (à l'exception d'*E. casseliflavus*). La surface cellulaire de quelques souches d'*E. faecalis* examinée par microscopie électronique montre la présence de fimbriae (17, 22).

### **1-2-2) Caractères cultureux**

Les entérocoques présentent la particularité de se multiplier dans des milieux usuels à base de peptone en l'absence de facteur de supplémentation et de croître également sur milieu hypersalé contenant 6,5 grammes par litre de NaCl ; ils sont, comme les streptocoques et les lactocoques anaérobies aérotolestants ; ils peuvent se multiplier à pH 9,6 et à des températures de 10° et 45°C et résister à un chauffage à 60°C durant 30 minutes. Ils sont pour la plupart alpha ou non hémolytiques ; le caractère bêta hémolytique de certaines souches est codé par un gène d'origine plasmidique facilement transférable d'une souche à l'autre (17, 22).

### **1-2-3) Caractères biochimiques**

Ne possèdent pas de cytochrome, les entérocoques sont de ce fait catalase négative bien que certaines souches puissent posséder une pseudocatalase ; les entérocoques sont différenciés des autres streptocoques par leur capacité à hydrolyser l'esculine en présence de bile, à hydrolyser le L-pyrrolidonyl-B naphthylamide par production de pyrrolidonyl-arylamidase et à produire du gaz par fermentation du

glucose (17, 21, 22).

### 1-3) Identification de l'espèce

Cette identification repose sur plusieurs caractères biochimiques utilisés par les galeries d'identification et dont les plus discriminatifs sont : la production d'acétoïne (Réaction de Voges-Proskauer), l'hydrolyse de l'arginine et la fermentation du mannitol, sorbitol, L-arabinose, D-raffinose, saccharose et lactose.

Chez *E. faecalis* l'arabinose et le raffinose entre autres ne sont pas fermentés ; l'espèce faecalis est également caractérisée avec une bonne approximation par la résistance au tellurite de potassium en donnant des colonies noires sur ce milieu.

On retrouve deux sous espèces à l'intérieur de l'espèce faecalis : *E. faecalis* var *liquefaciens* (souches gélatinolytiques) et *E. faecalis* var *zymogenes* (souches bêta hémolytiques) (17).

*E. faecium* fermente l'arabinose mais ne fermente pas le glycérol ni le sorbitol

### 1-4) Structure et composition

Comme tous les germes à Gram positif, les entérocoques ont une paroi constituée de glycocalyx (structure réticulée) et du peptidoglycane (structure rigide) faits de chaînes polysaccharidiques reliées entre elles par de courts peptides et composées d'une alternance de N-acetyl glucosamide et d'acide N-acetyl muramique. Chez Enterococcus les chainons peptidiques branchés sur l'acide muramique sont terminés par le dipeptide D-alanine-D-alanine.

Sur la paroi sont fixés d'autres constituants comme l'acide lipoteichoïque (l'antigène de groupe des entérocoques), les protéines (enzymes en particulier), des polysaccharides, les acides teichoïques ; l'antigène polysidique de la paroi cellulaire est

spécifique de type chez certains entérocoques (*E. faecalis* et *E. avium*) (17, 22).

### 1-5) Facteurs de virulence

L'hémolysine-bactériocine de *E. faecalis* et le facteur d'agrégation codés tous deux par des gènes plasmidiques semblent être les deux facteurs de virulence de ce genre (17). L'hémolysine-bactériocine est un complexe cytolytique protéique produit par les souches de *E. faecalis* sous espèces zymogènes. Cette hémolysine est une toxine oligomérique formée par l'association de deux protéines distinctes mais inséparables : une hémolysine bêta bifactorielle formée du composant A (pour activateur) et du composant L (pour lytique) et d'une bactériocine (17, 22, 26). Ce complexe lytique provoque la lyse des érythrocytes humains, de lapin ou de cheval et celle de nombreuses bactéries à Gram positif (effet bactériocine) (17, 26).

Quant au facteur d'agrégation c'est une adhésine de nature protéique qui vient tapisser la surface cellulaire de la cellule donatrice sous l'influence d'une phéromone produite par les cellules réceptrices et permet ainsi la formation d'agrégats cellulaires améliorant le transfert plasmidique qui se fait à haute fréquence par conjugaison (17, 22, 26). D'autres substances sont élaborées par *E. faecalis* notamment une protéase (zinc-endopeptidase) une hyaluronidase (mucopolysaccharidase) (26).

## **II- EPIDEMIOLOGIE DES INFECTIONS A ENTEROCOQUES CHEZ L'HOMME**

La pathogénicité des entérocoques a été reconnue dès le début de ce siècle (17). Dans certaines infections telles qu'endocardites, infections urinaires et génitales, méningites et infections néonatales, l'entérocoque est isolé comme seul agent pathogène alors qu'il est presque toujours en association avec d'autres bactéries (anaérobies, entérobactéries) dans les infections intra abdominales et dans les suppurations des plaies chirurgicales d'origine abdominale (22, 29). Généralement des facteurs de risque très divers favorisent l'émergence de ces infections.

### **2-1) Infections communautaires**

#### **2-1-1) Infections urinaires**

Elles constituent la source d'isolement la plus fréquente des entérocoques (17, 21). Leur incidence a augmenté surtout chez les immuno déprimés, les porteurs d'infections urinaires compliquées ou d'uropathies malformatives ou présentant des facteurs de risque comme une instrumentation, une antibiothérapie préalable (17).

#### **2-1-2) Infections abdominopelviennes**

Du fait de l'appartenance des entérocoques à la flore normale de l'intestin, leur rôle pathogène reste donc difficile à établir même si des cas d'infections monomicrobiennes ont été décrites (infections de cicatrices de césarienne, endométrites, salpingites) (17, 22, 29).

### **2-1-3) Bactériémies**

Les sources habituelles des bactériémies à entérocoques sont les endocardites, les infections urinaires, péritonéales, biliaires, de cathéter. La translocation à partir du tube digestif est également évoquée (**17, 18, 41**).

### **2-1-4) Endocardites**

Elles viennent au troisième rang de l'ensemble des endocardites (5 à 15 %) (**17, 22**) et sont principalement dues à *E. faecalis* (80%). La moyenne d'âge des patients est de 61 plus ou moins 15 ans (**17, 22**) et la mortalité demeure proche de 20 % ; l'infection survient sur une valvulopathie préexistante dans 17 % des cas et sur prothèse valvulaire dans 25 % des cas et la porte d'entrée est urinaire dans plus d'un tiers des cas (**17**).

### **2-1-5) Les infections néonatales**

Quand elles surviennent c'est généralement sur terrain fragilisé (prématurité, faible poids de naissance, résorption intestinale) et le tableau clinique est dominé par une méningite (**17, 18**).

### **2-1-6) Infections du système nerveux central**

Quelques cas ont été décrits sur terrain favorisant comme une pathologie primitive ancienne, ...



### III INFECTIONS NOSOCOMIALES

L'entérocoque occupe la troisième position parmi les germes responsables d'infections nosocomiales (17).

Il représente 10% de ces infections dont 15% d'infections urinaires et 7% de bactériémies. Les entérocoques sont également responsables d'infections intra-abdominales et de surinfections de plaies opératoires (17). On peut citer parmi les facteurs de risque de ces infections : le terrain (âge avancé, tare sous-jacente), les gestes invasifs, la durée d'hospitalisation, et l'utilisation de céphalosporine de troisième génération sélectionnant les germes *in vivo* ; une autre source de ces infections est considérée comme endogène à partir du tube digestif ; la transmission peut se faire également par voie manuportée d'un malade à un autre via le personnel soignant ou par le matériel (thermomètres rectaux)( 9, 17, 18, 41, 49).

### IV- SENSIBILITE DES ENTEROCOQUES AUX ANTIBIOTIQUES

Cette sensibilité est dominée par la résistance aux antibiotiques en particulier la résistance acquise aux glycopeptides (vancomycine) et aux aminosides (gentamicine et streptomycine) ; ce qui est préoccupant en clinique car peu d'antibiotiques restent actifs sur ces micro-organismes (16, 29).

En effet un des traits taxonomiques évocateur des entérocoques est leur résistance naturelle à beaucoup d'antibiotiques (17, 22, 29).

#### **4-1) Résistance naturelle des entérocoques aux antibiotiques**

Les entérocoques sont naturellement résistants aux pénicillines M, aux céphalosporines qui les sélectionnent souvent *in vivo*, à la clindamycine, aux lincosamines, à la pristinamicine, aux sulfamides, aux quinolones (17, 22, 29, 39, 47).

Les entérocoques présentent un bas niveau de résistance aux aminosides dont le déterminisme s'explique par un mécanisme actif de transport défectueux lié à un défaut d'énergie oxydative au niveau de la paroi (16, 17, 22, 39, 46, , 47, 50). Ce bas niveau de résistance permet cependant une action synergique dans le traitement d'infections sévères à entérocoques avec la pénicilline ou les glycopeptides obtenue grâce à l'action préalable des bêtalactamines ou des glycopeptides sur la paroi (16,17, 18, 29, 39, 49). Récemment la moindre sensibilité ou la résistance naturelle de bas niveau à la vancomycine ont été décrites chez *E. gallinarum*, *E. casseliflavus* et *E. flavescens* (16, 39).

#### **4-2) Résistance acquise des entérocoques aux antibiotiques**

Cette dernière décennie est marquée par les difficultés croissantes de traitement et de contrôle des infections hospitalières sévères à entérocoques en raison de l'évolution croissante de la résistance aux bêtalactamines, aux aminosides et aux glycopeptides chez ces bactéries. Cette apparition de la résistance est facilitée notamment par une pression de sélection accrue en milieu hospitalier et la relative facilité de transfert de caractères de résistance aux aminosides et aux glycopeptides (17, 29).

## 4-2-1) Résistance aux bêtalactamines

### 4-2-1-1) Mécanisme d'action des bêtalactamines

Les bêtalactamines se fixent sur des protéines logées sur la membrane bactérienne, les protéines de liaison de la pénicilline (PLP) ; la synthèse du peptidoglycane est inhibée au cours de la transpeptidation pour l'assemblage final produisant la structure en réseau de la paroi ; elles sont bactériostatiques vis à vis des entérocoques (47).

### 4-2-1-2) Mécanismes de résistance

Deux mécanismes ont été actuellement identifiés :

- la résistance par production d'une pénicillinase d'origine plasmidique décrite principalement chez *E. faecalis* aux Etats-Unis, en Argentine et au Liban (17, 29, 38, 39, 45, 56). Cette bêtalactamase très proche de celle de *Staphylococcus aureus* (20) et qui hydrolyse la pénicilline G, les aminocarboxy et uréido-pénicillines est détectée par un test iodométrique ou acidimétrique (29, 47). A noter que ce plasmide code également pour le haut niveau de résistance à la gentamicine (17, 18, 29).

- la résistance par modification de la cible décrite chez *E. faecium* ; il s'agit d'une mutation quantitative et qualitative de la PLP5 (Protéine de liaison à la pénicilline). Le genre *Enterococcus* possède cinq PLP ; la PLP5 ayant la plus faible affinité pour les bêtalactamines induit une résistance lorsqu'elle est produite en excès ; cette même résistance est observée lorsqu'il s'agit d'une mutation ponctuelle de la PLP5 entraînant une diminution de l'affinité de la pénicilline pour son récepteur avec cependant des CMI (concentration minimale inhibitrice) beaucoup plus élevées (17, 29, 38, 39, 55).

## 4-2-2) Résistance aux aminosides

### 4-2-2-1) Mécanisme d'action des aminosides

Les aminosides agissent sur la synthèse protéique qu'ils inhibent au cours de la traduction en agissant au niveau de la sous-unité 30S des ribosomes ; ils sont généralement bactéricides (47).

### 4-2-2-2) Mécanismes de résistance

Trois mécanismes sont impliqués dans la résistance aux aminosides chez les entérocoques :

- altération de la cible ribosomale
- modification du transport de l'antibiotique
- détoxification enzymatique de l'antibiotique

C'est ce troisième mécanisme d'origine plasmidique prédominant chez l'entérocoque qui est responsable de l'apparition de souches hautement résistantes aux aminosides (13, 14, 16, 17, 18, 21, 24, 29, 36, 39, 47, 49). Ces enzymes, classées en trois catégories en fonction de la réaction qu'elles catalysent (nucléotidation, phosphorylation ou acétylation) sont nommées en fonction de leurs substrats. Ainsi chez *E. faecalis* l'enzyme ANT

(6) (Aminoside nucléotidyltransferase) induit une résistance à la streptomycine ; APH (3') (Aminoside phosphotransferase) se traduit par une résistance à la kanamycine, à la nétilmicine et à l'amikacine ; l'ANT (4') induit quant à elle une résistance à la kanamycine, à l'amikacine et à la tobramicine alors que l'enzyme bifonctionnelle APH (2'')-AAC(6') détoxifie la kanamycine, l'amikacine, la nétilmicine, la tobramicine et la

gentamicine (16, 17, 29, 36, 39).

Ces trois classes d'enzymes sont de ce fait à la base des phénotypes de résistance aux aminosides des Streptocoques et Entérocoques. Aussi le tableau I (36) donne les différents types d'enzymes modificatrices et leurs substrats alors que Bismuth (7) a résumé au tableau II les phénotypes de résistance des différentes espèces de streptocoques et à sa suite BA S. (6) a commenté leur corrélation avec la résistance aux bêtalactamines chez *E. faecalis*.

### 4-2-3) Résistance aux glycopeptides

#### 4-2-3-1) Mécanisme d'action des glycopeptides

Ils agissent sur la paroi bactérienne en inhibant la synthèse du peptidoglycane au cours de la seconde phase de la synthèse qui a lieu au niveau de la membrane (35, 47); ils sont bactériostatiques vis à vis des entérocoques (29).

#### 4-2-3-2) Mécanismes de résistance aux glycopeptides

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

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

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

- le phénotype VAN C est caractérisé par la résistance naturelle de bas niveau à la vancomycine non transférable et probablement chromosomique associée à une

sensibilité conservée à la téicoplanine et observée chez *E. casseiflavus* et *E. gallinarum*.

Le mécanisme de la résistance est le même pour les types de résistance VAN A et VAN B qui sont inductibles. Les gènes nécessaires à l'expression de la résistance sont portés par les transposons Tn1546 (VAN A) et Tn1547 (VAN B). L'expression inductible est liée à la synthèse de deux protéines, partenaires dans un système régulateur à deux composants. Un des précurseurs essentiels de la paroi bactérienne est un dérivé pentapeptidique constituant un monomère de la paroi à laquelle il est branché au cours de son élongation et terminé par un dipeptide D-alanyl-D-alanine qui est le site de fixation des glycopeptides ; cette fixation empêche en conséquence le branchement du précurseur et donc l'élongation de la paroi ; les souches résistantes synthétisent des précurseurs terminés par un depsipeptide D-alanyl-D-lactate et qui sont de faible affinité pour la vancomycine et la téicoplanine expliquant ainsi la résistance. Cette résistance est donc une résistance par modification de la cible (4, 5, 16, 17, 18, 21, 29, 32, 33, 38, 40, 43, 44, 49, 50).

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

Les entérocoques résistent également à d'autres familles d'antibiotiques ; ainsi ils ont acquis des facteurs de résistance aux tétracyclines et macrolides (50% des *E. faecalis* et 70% des *E. faecium* sont résistants à ces deux familles), au chloramphénicol, aux fluoroquinolones, aux lincosamides,... (22, 29, 49, 50)

Tableau I. Les enzymes modificateuses des aminosides

ENZYME	TYPES DE SUBSTRATS
<b>O-Phosphotransferases</b> 2" 3'(5")- 3"- 4- 6-	<b>(APH)</b> Kanamycine, gentamicine, tobramycine Kanamycine, néomycine Streptomycine Hygromycine Streptomycine
<b>N-Acetyltransferases</b> 1- 2'- 3- 6'-	<b>(AAC)</b> Apramycine, paromomycine Gentamicine, tobramycine Kanamycine, gentamicine, tobramycine Kanamycine, gentamicine, tobramycine
<b>O-Adenyltransferases</b> 2"- 3"- 4'- 6- 9-	<b>(ANT)</b> Gentamicine, tobramycine Streptomycine Kanamycine néomycine Streptomycine Spectinomycine

**Tableau II.** Les phénotypes de résistance aux aminosides de différentes souches de streptocoques et d'entérocoques

<i>Bactéries</i>	<i>S</i>	<i>T</i>	<i>K</i>	<i>G</i>	<i>SIS</i>	<i>AN</i>	<i>NET</i>	<i>Génotype S</i>
<i>E. faecalis</i>								APH (3')
<i>E. faecium</i>								ANT (6')
<i>S. non groupe</i> <i>S. A,B,G,D</i>	R	S	S	S	S	S	S	ANT (9)
<i>S. non groupe</i> <i>S. pneumoniae</i>	S	S	R	S	S	R	S	APH (3')
<i>E. faecalis</i> <i>var zymogènes</i>	S	R	R	R	R	R	R	APH (2'') AAC (6')
<i>E. faecium</i>	S	R	R	R	S	S	S	ANT (4')
<i>E. faecalis</i> <i>Var liquefasc</i>	R	R	R	R	R	R	R	ANT (3') + APH (3) APH (2') + AAC (6)



### **Phénotypes S:**

Il s'agit des entérocoques résistants à la Streptomycine.

Ici les souches résistantes à la Streptomycine le sont aussi à la pénicilline G avec un taux de 98,9 %. Ce taux de résistance passe à 12,5 % vis à vis de l'amoxicilline puis à 9,4 % pour l'AMC. Une résistance à la streptomycine n'induit pas forcément une résistance aux bêtalactamines

### **Phénotype T:**

La résistance observée avec l'aminoside est identique à celle mise en jeu avec la pénicilline G, par contre elle diminue avec l'AMX et l'AMC comme pour le phénotype S.

### **Phénotype K:**

Les souches présentent un profil identique à celui observé avec le phénotype T.

### **Phénotype G, phénotype SIS**

Les résultats obtenus avec ces deux phénotypes sont presque identiques à ceux observés dans les cas précités avec une légère baisse pour la pénicilline pour laquelle, les taux de résistance sont respectivement 88,5 % pour le G et 91,7 % pour le SIS.

### **Phénotype AN**

Son profil est identique à celui de la sisomicine.

### **Phénotype Net**

C'est le moins fréquent, parmi tous les phénotypes décrits avec un taux de 21,9 % vis à vis de la pénicilline G et de 83 % à l'égard de l'AMC.



## I MATERIEL ET METHODES

### 1.1. Matériel

#### 1.1.1- Cadre d'étude

C'est le laboratoire de Bactériologie-Virologie de l'hôpital A.ristide Le Dantec de Dakar qui nous a accueilli pour cette étude sur la sensibilité des souches d'entérocoques (*E. faecalis* et *E. faecium*) par rapport à différents antibiotiques par la méthode E-test<sup>®</sup>.

Cette étude s'est déroulée du mois de décembre 1997 au mois de Février 1998.

#### 1.1.2- Souches Bactériennes

Notre étude a porté sur 65 souches d'entérocoques dont 63 *Enterococcus faecalis* et 2 *Enterococcus faecium* pour lesquelles ont été notées la provenance et la nature du prélèvement (respectivement tableaux III et IV).

Ces souches ont été isolées et identifiées entre Avril 1997 et Février 1998 et conservées à -70° C dans des cryotubes (Nunc<sup>®</sup>) contenant du Bouillon Cœur Cerveille (BCC) additionné de 15 % de glycérol en deux exemplaires.

La souche de référence a été testée à chaque série et a permis de valider les résultats du test. Nous avons utilisé la souche de référence recommandée par le fabricant (AB Biodisk, Sölna, Sweden) qui est : *Enterococcus faecalis* 29212.

**Tableau III.** Répartition des souches d'Entérocoques selon la provenance

Lieu d'origine	Nombre de souches	Pourcentages
Laboratoire de Bactério-Virologie (Hôpital A. Le Dantec)	31	47,7 %
Laboratoire de biologie médicale (Institut Pasteur)	32	49,2 %
Laboratoire de biologie (Hôpital Principal de Dakar)	2	3,1 %
Total	65	100 %

**Tableau IV.** Répartition des souches d'entérocoques selon le produit pathologique

Produit pathologique	Nombre de souches	Pourcentage
Pus - abcès	26	40 %
Sang	3	4,6 %
Urines	3	4,6 %
Prélèvements vaginaux	24	36,9 %
Sperme	4	6,2 %
Liquide péritonéale	2	3,1 %
Selles	2	3,1 %
Lochies	1	1,5 %
Total	65	100 %

### 1.1.2. Matériel pour l'isolement et l'identification

Ont été utilisés à cet effet :

- Boîtes de Pétri
- anse de platine
- tubes
- lames porte objet
- microscope optique
- microplaques streptocoques CSB system (mise au point par le laboratoire de Bactériologie virologie de l'hôpital A. Le DANTEC)
- échelle Mc Farland 4
- pipette de 100 µl
- embouts stériles
- tubes à hémolyse stériles
- Etuves

### 1. 1.3 Matériel pour l'étude de la sensibilité par E-test<sup>®</sup> :

Cette étude a nécessité le matériel suivant :

- Applicateurs
- Tubes à hémolyse stériles
- Cassette pour la sélection d'antibiotiques
- Bandes adhésives
- Paire de ciseaux
- Tubes de stockage et dessiccateurs
- écouvillons stériles
- autoclave
- pinces
- pH mètre
- Echelles Mc Farland
- Boîtes de pétri 150 ou 90 mm
- Guide de lecture E-test<sup>®</sup> et nouvelles normes NCCLS

### **1.1.4 Matériel pour la conservation**

Nous avons utilisé pour cela des cryotubes type Nunc<sup>®</sup>, des portoirs, des bandes adhésives, un réfrigérateur à 70°C.

### **1.1.5 Matériel pour l'exploitation des résultats**

Le logiciel WHONET IV a servi à l'exploitation des résultats

### **1.1.6. Réactifs utilisés :**

Ont servi à l'étude les réactifs suivants :

- Gélose et bouillon MH
- Sang de cheval conservé au frigo
- alpha-naphtol
- créatinine 10 %
- \_ Gélose bile -esculine
- Eau oxygénée
- Bouillon hypersalé BHS
- solution MEVAG stréptocoque
- Eau distillée stérile
- huile de paraffine
- eau physiologique
- BCC
- Glycérol
- Bandes d'antibiotiques E- test<sup>®</sup>
- Solution de potasse KOH

\* Antibiotiques testés :

Les antibiotiques suivants appartenant à différentes familles ont été utilisés :

Bêtalactamines :	Ampicilline
Aminosides :	Streptomycine et Gentamicine
Tétracyclines :	Tétracycline
Glycopeptides :	Vancomycine
Macrolides :	Erythromycine
Rifamycines :	Rifampicine
Quinolones :	Ciprofloxacine
Nitrofuranes :	Nitrofurantoïne

## 1.2. Méthodes

### 2.2.1 Méthode d'isolement

Les produits pathologiques ont été ensemencés après homogénéisation en stries sur de la gélose au sang ; après une incubation de 24 h à 37°C à l'étuve, nous avons sélectionné les fines colonies alpha et bêta hémolytiques (exceptionnellement) et non hémolytiques sur lesquelles a été réalisé l'épreuve de la catalase pour différencier les streptocoques des staphylocoques ; pour ce faire une parcelle de colonies a été prélevée et mise en contact avec une goutte d'eau oxygénée sur une lame. Une catalase positive se traduit alors par le dégagement de bulles d'air. Avec les colonies catalase négative ont été ensemencés la gélose Bile-esculine et le bouillon hypersalé pour différencier les streptocoques des entérocoques.

Les entérocoques présentant une réaction positive à ces tests, les colonies ont alors été utilisées pour l'identification de l'espèce par les microplaques strépto CSB system.

### 2.2.3.Méthode d'identification : Microplaque streptocoque CSB system

Il s'agit de milieux déshydratés.

#### ☆ Principe

La galerie d'identification est composée de 12 substrats pour la mise en évidence d'enzymes et de la fermentation de sucres. Une suspension dense de culture pure de bactéries prélevée sur gélose est inoculée avec les milieux d'étude ; après incubation la révélation se fera spontanément ou par adjonction de réactifs ; les différents tests sont :

- La production d'acétoïne
- L'hydrolyse de l'esculine
- l'hydrolyse de l'hippurate de sodium
- la croissance sur milieu hostile
- l'acidification de divers sucres tels que : glucose, lactose, arabinose, mannitol, sorbitol, sorbose, raffinose, inuline, ribose.

#### 🕒 Méthodologie

Nous avons préparé une suspension bactérienne de turbidité égale à celle de l'échelle 4 Mc Farland avec 1 ml d'eau distillée stérile et une culture de 24 h par écouvillonnage dont nous avons distribué 100 µl dans les 4 premières cupules (VP, Bile-esculine, ADH et BHS) ; le reste de la suspension a été mélangé à 1ml de MEVAG strepto et avec ce mélange ont été inoculées les capsules contenant les sucres.

La cupule ADH et celles des sucres ont alors été fermées avec 2 gouttes d'huile de paraffine avant incubation de la microplaque à 37°C à l'étuve sur un plateau recouvert de papier buvard imbibé d'eau.



### 🕒 Résultats

La lecture a été faite après 18 h d'incubation et l'identification réalisée en s'aidant d'une fiche de lecture et d'un tableau d'identification des streptocoques.

Pour la cupule VP (Voges Proskauer Reaction) nous avons ajouté avant la lecture une goutte de KOH, une goutte de créatinine 10 % et une goutte d'alpha-naphtol.

NB : Il convient de rappeler que ce procédé d'identification a été réalisé pour les souches isolées au laboratoire de Bactériologie -Virologie de l'HALD et pour la plupart des souches provenant des autres laboratoires et dont l'espèce n'avait pas été identifiée.

## **2.2.4 Méthode de détermination de la sensibilité par E-test®**

### ☆ Principe

Le système E-test® consiste en une bande en plastique non poreuse calibrée par un gradient de concentration d'antibiotique couvrant 15 dilutions. Les concentrations prédéfinies sont immobilisées à la face opposée à l'échelle et représentent des valeurs de CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) : définie comme étant la plus faible concentration d'antibiotique inhibant en 18 et 24 h la multiplication des bactéries.

### 🕒 Méthodologie

#### 1. Préparation du milieu gélosé MH ( Mueller Hinton)

Nous avons dissous de la gélose MH dans de l'eau distillée (39 g pour 1l) en chauffant à ébullition avant de porter le tout à l'autoclave à 120° C pendant 20 mn ; nous avons ensuite réparti la gélose dans les boîtes de pétri et laissé sécher à la température

ambiante. La conservation des milieux ainsi préparés a été faite au réfrigérateur à +4° C dans un sac à plastique si le test ne se faisait pas immédiatement.

NB : Nous n'avons pas oublié d'ajuster le pH si c'était nécessaire au pH d'étude (ici 7,2 - 7,4). L'épaisseur de la gélose doit être égale à 4+/-0,5 mm.

## 2. Préparation de l'inoculum bactérien

Une parcelle de colonies viables de 24 à 48 heures a été repiquée dans une solution de microbouillon nutritif pendant 4 heures pour avoir des germes en phase de croissance exponentielle ; la turbidité de l'inoculum a été ensuite ajustée entre 0,5 et 1 Mc Farland en comparant avec un témoin.

## 3. Inoculation

La méthode d'ensemencement du milieu a été celle préconisée par le NCCLS et qui est la méthode par écouvillonnage ou méthode KIRBY-BAUER, que nous avons réalisée comme suit :

- plonger un écouvillon stérile dans l'inoculum et bien l'essorer sur les rebords du tube ;
- écouvillonner entièrement dans les 3 sens la gélose dont la surface est bien sèche ;
- laisser sécher à la température ambiante environ une quinzaine de minutes.

## 3. Application des bandes

Les bandes étant préalablement retirées du freezer (-20°C) et laissées à la température ambiante, nous avons :

- déposé la bande de E-test sur la gélose sèche à l'aide de l'applicateur en mettant l'échelle de la CMI face à l'ouverture de la boîte ;
- Assuré après un bon contact entre la bande et la gélose en appuyant sur la bande en partant de la base.

NB : Il faut éviter de déplacer la bande après application du fait que l'antibiotique diffuse immédiatement après contact dans la gélose.

#### 4. Incubation

Nous avons incubé les milieux à 37° C pendant 24 heures en atmosphère ambiante.

### 🕒 Interprétation des résultats

La lecture a été faite après la période d'incubation de 24 heures à condition d'avoir eu une croissance significative à la surface de la gélose et que l'ellipse d'inhibition fût clairement visible. la CMI a été lue au point d'intersection de l'ellipse et de la bande (figure 1).

Dans certains cas, une interprétation a été nécessaire lors de la lecture ; en effet :

- l'observation d'un décrochage ou "dip" dans la zone de lecture a imposé de lire la CMI en extrapolant la courbe de l'ellipse (figure 2) ;
- la présence de colonies "squatter" pouvait être analysée de différentes manières :
- En effet il pouvait s'agir d'une résistance hétérogène, de l'émergence de mutants résistants ou de mélanges bactériens (figure 3).
- la présence d'une croissance bactérienne en ligne le long de la bandelette était certainement due à une gélose insuffisamment séchée avant de déposer la bandelette (figure 4).
- les points d'intersection sur la bandelette pouvaient être asymétriques : la CMI correspondait alors à la concentration la plus haute lue sur la règle (figure 5).
- Une seconde lecture 48 heures après a permis de confirmer les résultats de la première lecture et surtout dans notre cas les hauts niveaux de résistance aux

aminosides.

Dans toutes les séries, la souche de référence a été testée en parallèle comme contrôle de qualité afin de valider le test ; les résultats de la dite souche ont été lus en premier lieu.

### Analyse des résultats

Le logiciel WHONET IV a servi à l'analyse des résultats

#### *1. Principe*

Le WHONET est une série de programmes informatiques permettant la gestion des résultats des tests de sensibilité aux antibiotiques de germes bactériens. Le WHONET IV permet d'obtenir sous forme de pourcentages et de diagrammes les résultats de sensibilité des souches par rapport à différents antibiotiques et en fonction de différents paramètres.

#### *2. Méthodologie*

Les différentes valeurs de CMI pour chaque souche testée ont été enregistrées dans l'ordinateur après avoir mis en place une grille d'enregistrement ; les valeurs ont été vérifiées et corrigées avant exploitation par le logiciel WHONET IV (voir chapitre Résultats)

### **1.3. Contrôle de qualité**

Les normes utilisées ont été celles de NCCLS ;

1. Obtenir les souches de contrôle de qualité de source sûre (ATCC).

2. Entretenir correctement les souches de contrôle de qualité en les conservant selon 2 méthodes :

- en stock culture pour l'utilisation fréquente des souches
- à  $-70^{\circ}\text{C}$  dans les cryotubes pour une conservation à longue durée.

40 exemplaires ont été établis pour chaque souche de contrôle dont 20 ont été conservées dans un freezer à  $-70^{\circ}\text{C}$  et les 20 autres dans un second freezer à  $-70^{\circ}\text{C}$ .

3. Les contrôles de qualité ont été effectués à plusieurs niveaux :

1. par une simple vérification de la date de péremption des milieux de culture et de tout réactif à utiliser ;
2. par un stockage correct des milieux de culture, des disques et des bandes E-test<sup>®</sup> avec un relevé quotidien de la température du freezer et du frigo ;
3. par une manipulation correcte avec respect de la démarche du protocole établi ;
4. par une sélection correcte de la terminaison en pointe de la CMI ;
5. par une vérification de la profondeur de la gélose, de la capacité de croissance supportée et de la présence d'antagonistes tels la thymine, la thymidine et les ions

## II- RESULTATS ET COMMENTAIRES

### 2.1. Les souches identifiées

Les renseignements collectés auprès des patients ont permis de caractériser les différentes souches d'entérocoques étudiées. Seulement pour une des souches nous n'avons pas eu de renseignements sauf concernant le produit pathologique. Ainsi en plus de les avoir répertoriées en fonction du produit pathologique et du lieu d'origine (Tableaux III et IV) nous avons pu les classer en fonction du sexe et du service d'origine (Tableau V).

Les souches proviennent de 16 hommes et 48 femmes.

Notre étude a porté sur 33 souches provenant de patients externes et 32 souches de patients hospitalisés.

Dans les prélèvements, l'entérocoque a été isolé seul dans 24,6% des cas et associé à d'autres germes dans près de 75,4% des cas dont 8 fois avec *Staphylococcus aureus* et 6 fois avec *Escherichia coli*.

Il nous a été précisé qu'un traitement antibiotique avait été réalisé chez 11 patients.

**Tableau V.** Répartition des souches d'Entérocoques selon le service d'origine

SERVICES D'ORIGINE	NOMBRE DE SOUCHES	POURCENTAGES
Néonatalogie	1	1,5 %
Chirurgie	5	7,7 %
Réanimation	5	7,7 %
Maternité	9	13,8 %
Orthopédie	2	3,1 %
Médecine interne	3	4,6 %
Urgence	1	1,5 %
ORL	2	3,1 %
Pédiatrie	1	1,5 %
Cardiologie	2	3,1 %
Stomatologie	1	1,5 %
Externes	33	50,96 %
Total	65	100 %

## **2.2. Sensibilités aux antibiotiques**

Onze antibiotiques appartenant à différentes familles ont été testés et pour chacun d'entre eux ont été déterminés en fonction de la CMI les pourcentages de souches sensibles, intermédiaires et résistantes parmi les entérocoques ainsi que leurs CMI 50, CMI 90 et leurs moyennes (Tableau VI).



**Tableau VI:** Profil de Sensibilité des souches d'Enterocoques

Code	Nom	Nombre					GEOM.				
	ATB	Val.critiques		Isolats	%R	%I	%S	MIC50	MIC90	MEAN	RANGE
AMP	AMPICILLIN	S<=8	R>=16	65	0	3	97	2	3	1.83	.5-12
CIP	CIPROFLOXACIN	S<=1	R>=4	65	11	42	48	1.5	4	1.51	.38-32
ERY	ERYTHROMYCIN	S<=.5	R>=8	65	42	48	11	4	256	11.22	.094-256
GEN	GENTAMICIN	S<=4	R>=16	65	37	54	9	12	256	21.35	4-256
FUR	NITROFURANTOIN	S<=32	R>=128	65	32	5	63	24	256	37.17	6-256
RIF	RIFAMPIN	S<=1	R>=4	65	52	31	17	4	24	4.16	.064-256
STR	STREPTOMYCIN			65	0	0	0	256	256	250.60	128-256
TET	TETRACYCLINE	S<=4	R>=16	65	80	0	20	256	256	72.45	.125-256
VAN	VANCOMYCIN	S<=4	R>=32	65	0	0	100	3	4	2.77	1-4
GEH	GENTAMICIN (HIG	S<=500	R>=501	65	26	0	74	12	1024	33.41	6-1024
STH	STREPTOMYCIN (H	S<=1000	R>=1001	65	58	0	42	1024	1024	477.76	64-1024

**Toutes les souches ont été sensibles à la Vancomycine et à l'Ampicilline.**

La sensibilité des souches d'entérocoques par rapport à certains produits pathologiques comme les pus et abcès, le sang, les urines et les prélèvements vaginaux a également été déterminée et est représentée respectivement par les tableaux VII, VIII, IX et X..

**\* Pus - Abcès**

Pour les hauts niveaux de résistance aux aminosides nous avons eu 31% avec la gentamicine et 54% pour la Streptomycine ; ces pourcentages se rapprochant des pourcentages généraux.

**\* Sang**

Pour les 3 souches d'hémoculture les pourcentages de résistance à haut niveau aux aminosides ont été de 67% pour la gentamicine et 100% pour la streptomycine. Ces pourcentages sont élevés par rapport à ceux obtenus en général. A noter également les 33% de souches intermédiaires à l'ampicilline, ceci étant confirmé par une CMI 90 (12 µg/ml) se trouvant en zone intermédiaire. Elles ont également toutes résisté à l'action de la tétracycline mais ont été aussi les seules souches a présenté 100% de sensibilité à la nitrofurantoïne.

**\* Urines**

Les souches d'origine urinaire ont toutes été sensibles à la ciprofloxacine ; en outre aucune souche n'a présenté de résistance à haut niveau à la gentamicine. L'action de la tétracycline a été ici nulle.

**\* Prélèvements cervico-vaginaux**

Nous avons retenu les 4% de souches intermédiaires à l'ampicilline et la bonne activité de la ciprofloxacine avec 63% de souches sensibles et 37% de souches

intermédiaires.



Tableau VII: Profil de Sensibilité des souches d'Enterocoques isolées de Pus

Code	Nom ATB	Val.critiques		Nombre				GEOM.			
				Isolats	%R	%I	%S	MIC50	MIC90	MEAN	RANGE
AMP	AMPICILLIN	S<=8	R>=16	26	0	0	100	2	3	1.51	.5-4
CIP	CIPROFLOXACIN	S<=1	R>=4	26	19	46	35	1.5	32	2.25	.5-32
ERY	ERYTHROMYCIN	S<=.5	R>=8	26	23	62	15	2	256	4.17	.094-256
GEN	GENTAMICIN	S<=4	R>=16	26	38	58	4	12	256	27.28	4-256
FUR	NITROFURANTOIN	S<=32	R>=128	26	50	0	50	256	256	68.74	12-256
RIF	RIFAMPIN	S<=1	R>=4	26	58	27	15	6	256	5.17	.064-256
STR	STREPTOMYCIN			26	0	0	0	256	256	256.00	256-256
TET	TETRACYCLINE	S<=4	R>=16	26	77	0	23	256	256	62.92	.125-256
VAN	VANCOMYCIN	S<=4	R>=32	26	0	0	100	3	4	2.57	1-4
GEH	GENTAMICIN (HIG	S<=500	R>=501	26	31	0	69	12	1024	42.07	6-1024
STH	STREPTOMYCIN (H	S<=1000	R>=1001	26	54	0	46	1024	1024	426.77	64-1024

Tableau VIII: Profil de Sensibilité des souches Enterocoques isolées d'Hémocultures

Code	Nom ATB	Val.critiques		Nombre				GEOM.			
				Isolats	%R	%I	%S	MIC50	MIC90	MEAN	RANGE
AMP	AMPICILLIN	S<=8	R>=16	3	0	33	67	2	12	3.63	2-12
CIP	CIPROFLOXACIN	S<=1	R>=4	3	0	100	0	2	3	2.29	2-3
ERY	ERYTHROMYCIN	S<=.5	R>=8	3	33	67	0	6	256	10.48	.75-256
GEN	GENTAMICIN	S<=4	R>=16	3	67	33	0	256	256	80.63	8-256
FUR	NITROFURANTOIN	S<=32	R>=128	3	0	0	100	16	16	14.54	12-16
RIF	RIFAMPIN	S<=1	R>=4	3	33	33	33	2	32	4.00	1-32
STR	STREPTOMYCIN			3	0	0	0	256	256	256.00	256-256
TET	TETRACYCLINE	S<=4	R>=16	3	100	0	0	256	256	256.00	256-256
VAN	VANCOMYCIN	S<=4	R>=32	3	0	0	100	4	4	2.88	1.5-4
GEH	GENTAMICIN (HIG	S<=500	R>=501	3	67	0	33	1024	1024	203.19	8-1024
STH	STREPTOMYCIN (H	S<=1000	R>=1001	3	100	0	0	1024	1024	1024.00	1024-1024

**Tableau IX:** Profil de Sensibilité des souches d'Enterocoques isolées d'urines

Code	Nom ATB	Val.critiques		Nombre			GEOM.				
				Isolats	%R	%I	%S	MIC50	MIC90	MEAN	RANGE
AMP	AMPICILLIN	S<=8	R>=16	3	0	0	100	1.5	3	1.89	1.5-3
CIP	CIPROFLOXACIN	S<=1	R>=4	3	0	0	100	.75	1	0.72	.5-1
ERY	ERYTHROMYCIN	S<=.5	R>=8	3	67	33	0	256	256	40.32	1-256
GEN	GENTAMICIN	S<=4	R>=16	3	33	33	33	6	16	7.27	4-16
FUR	NITROFURANTOIN	S<=32	R>=128	3	33	33	33	48	256	66.56	24-256
RIF	RIFAMPIN	S<=1	R>=4	3	33	67	0	3	12	3.78	1.5-12
STR	STREPTOMYCIN			3	0	0	0	256	256	256.00	256-256
TET	TETRACYCLINE	S<=4	R>=16	3	100	0	0	256	256	184.61	96-256
VAN	VANCOMYCIN	S<=4	R>=32	3	0	0	100	3	4	2.88	2-4
GEH	GENTAMICIN (HIG	S<=500	R>=501	3	0	0	100	12	16	10.48	6-16
STH	STREPTOMYCIN (H	S<=1000	R>=1001	3	67	0	33	1024	1024	586.09	192-1024

**Tableau X:** Profil de Sensibilité des souches d'Enterocoques isolées de prélèvements vaginaux

Code	Nom ATB	Val.critiques		Nombre			GEOM.				
				Isolats	%R	%I	%S	MIC50	MIC90	MEAN	RANGE
AMP	AMPICILLIN	S<=8	R>=16	24	0	4	96	2	3	2.06	1-12
CIP	CIPROFLOXACIN	S<=1	R>=4	24	0	38	63	1	2	0.96	.38-2
ERY	ERYTHROMYCIN	S<=.5	R>=8	24	63	29	8	256	256	29.95	.094-256
GEN	GENTAMICIN	S<=4	R>=16	24	29	58	13	8	256	14.61	4-256
FUR	NITROFURANTOIN	S<=32	R>=128	24	21	4	75	12	256	21.52	6-256
RIF	RIFAMPIN	S<=1	R>=4	24	46	38	17	3	8	2.98	.75-12
STR	STREPTOMYCIN			24	0	0	0	256	256	248.71	128-256
TET	TETRACYCLINE	S<=4	R>=16	24	92	0	8	256	256	135.32	1.5-256
VAN	VANCOMYCIN	S<=4	R>=32	24	0	0	100	3	4	2.98	2-4
GEH	GENTAMICIN (HIG	S<=500	R>=501	24	17	0	83	12	1024	20.41	6-1024
STH	STREPTOMYCIN (H	S<=1000	R>=1001	24	63	0	38	1024	1024	529.60	128-1024

Les tableaux XI et XII donnent respectivement la sensibilité des souches d'entérocoques selon qu'elles proviennent de patients hospitalisés ou externes.

La répartition des phénotypes de haut niveau de résistance aux aminosides des souches d'entérocoques testées est résumée au tableau XIII et montre une plus grande fréquence du phénotype S par rapport au phénotype G ; en outre toutes les souches résistantes à la gentamicine l'ont également été à la streptomycine et 22 souches ont développé uniquement le phénotype S.

A noter que nos deux souches d'*E. faecium* n'ont pas présenté de haut niveau de résistance aux aminosides.

**Tableau XI:** Profil de Sensibilité des souches d'Enterocoques isolées des malades hospitalisés

Code	Nom ATB	Val.critiques		Nombre				GEOM.			
				Isolats	%R	%I	%S	MIC50	MIC90	MEAN	RANGE
AMP	AMPICILLIN	S<=8	R>=16	32	0	3	97	2	3	1.64	.5-12
CIP	CIPROFLOXACIN	S<=1	R>=4	32	19	50	31	1.5	32	2.23	.5-32
ERY	ERYTHROMYCIN	S<=.5	R>=8	32	25	59	16	2	256	4.68	.094-256
GEN	GENTAMICIN	S<=4	R>=16	32	44	53	3	12	256	30.66	4-256
FUR	NITROFURANTOIN	S<=32	R>=128	32	41	3	56	24	256	54.33	12-256
RIF	RIFAMPIN	S<=1	R>=4	32	56	25	19	6	48	4.99	.064-256
STR	STREPTOMYCIN			32	0	0	0	256	256	256.00	256-256
TET	TETRACYCLINE	S<=4	R>=16	32	72	0	28	256	256	50.37	.125-256
VAN	VANCOMYCIN	S<=4	R>=32	32	0	0	100	3	4	2.55	1-4
GEH	GENTAMICIN (HIG	S<=500	R>=501	32	34	0	66	12	1024	49.63	6-1024
STH	STREPTOMYCIN (H	S<=1000	R>=1001	32	56	0	44	1024	1024	451.26	64-1024

**Tableau XII:** Profil de Sensibilité des souches d'Enterocoques isolées des malades externes

Code	Nom ATB	Val.critiques		Nombre				GEOM.			
				Isolats	%R	%I	%S	MIC50	MIC90	MEAN	RANGE
AMP	AMPICILLIN	S<=8	R>=16	33	0	3	97	2	3	2.05	1-12
CIP	CIPROFLOXACIN	S<=1	R>=4	33	3	33	64	1	2	1.03	.38-6
ERY	ERYTHROMYCIN	S<=.5	R>=8	33	58	36	6	256	256	26.19	.094-256
GEN	GENTAMICIN	S<=4	R>=16	33	30	55	15	8	256	15.03	4-256
FUR	NITROFURANTOIN	S<=32	R>=128	33	24	6	70	16	256	25.72	6-256
RIF	RIFAMPIN	S<=1	R>=4	33	48	36	15	3	12	3.48	.75-16
STR	STREPTOMYCIN			33	0	0	0	256	256	245.47	128-256
TET	TETRACYCLINE	S<=4	R>=16	33	88	0	12	256	256	103.05	.75-256
VAN	VANCOMYCIN	S<=4	R>=32	33	0	0	100	3	4	2.99	2-4
GEH	GENTAMICIN (HIG	S<=500	R>=501	33	18	0	82	12	1024	22.76	6-1024
STH	STREPTOMYCIN (H	S<=1000	R>=1001	33	61	0	39	1024	1024	504.95	128-1024



**Tableau XIII.** Répartition des phénotypes de haut niveau de résistance aux aminosides des entérocoques (39 souches)

Phénotypes HNR	S*	G*	S+G
<i>Enterococcus faecalis</i>	39	17	17

HNR : Haut Niveau de Résistance      S: à la Streptomycine    G: à la gentamicine

Des histogrammes représentant la sensibilité des souches par rapport à chaque antibiotique ont été réalisés.

#### ☞ Sensibilité à la Vancomycine : Histogramme I

Toutes les souches comme mentionné précédemment ont été sensibles à la vancomycine avec des CMI variant entre 1 µg/ml et 4 µg/ml; en plus près de 33% des souches ont eu des CMI égales à 4 µg/ml, valeur qui est à la limite de la sensibilité.

#### ☞ Sensibilité aux Aminosides

Le haut niveau de résistance aux aminosides a concerné 60% des souches.

- La Gentamicine : Histogrammes II et III

37% des souches ont été résistantes et 54% ont présenté des valeurs de CMI intermédiaires à la gentamicine à bas niveau; nous avons noté que près de 25% de ces souches intermédiaires ont présenté des valeurs de CMI à la limite de la résistance et que les 9% de souches sensibles ont eu une valeur de CMI (4 µg/ml) à la limite de la zone intermédiaire.

La résistance à haut niveau a concerné 26% des souches.

- La Streptomycine : Histogramme IV et V :  
au vu des résultats toutes les souches d'entérocoques ont présenté une résistance à bas niveau à la streptomycine et 97% des souches à la plus grande valeur de CMI sur l'échelle des bandelettes à savoir 256 µg/ml.  
La résistance à haut niveau s'est déclarée chez 58% des souches.

#### ☞ Sensibilité à l'Ampicilline : Histogramme VI

Les souches ont été sensibles à 97% à l'ampicilline avec des valeurs de CMI allant de 0,5 µg/ml à 4 µg/ml ; aucune souche n'a présenté de résistance par production de bêtalactamase.

#### ☞ Sensibilité à l'Erythromycine : Histogramme VII

Cette molécule a été vraiment active sur seulement 11% des souches ; 42% des souches ont présenté une résistance dont 40% à la plus grande valeur de CMI (256 µg/ml). Nous avons noté l'importance des souches intermédiaires (48%).

#### ☞ Sensibilité à la Rifampicine : Histogramme VIII

La majorité des souches soit 52% n'a pas été sensible à l'action de la rifampicine et 31% ont eu une sensibilité intermédiaire ; nous avons noté une distribution des pourcentages des souches sur pratiquement toute l'échelle des valeurs de CMI.

#### ☞ Sensibilité à la Ciprofloxacine : Histogramme IX

Elle a agit sur 89% des souches dont 41% de façon intermédiaire. Son action a été nulle sur 11% des souches et près de 25% des souches sensibles l'ont été à la limite.

#### ☞ Sensibilité à la Nitrofurantoïne : Histogramme X

32% des souches ont résisté à la nitrofurantoïne et ont présenté la plus grande valeur de CMI sur l'échelle ; les souches sensibles l'ont été avec seulement 3% qui ont présenté une valeur de CMI limite ; à noter le faible pourcentage de souches

intermédiaires (5%).

☰ Sensibilité à la Tétracycline : Histogramme XI

Il n'y a pas eu de souches intermédiaires mais 80% de souches résistantes dont 69% avec la plus grande valeur de CMI ; les 20% de souches sensibles ont présenté des valeurs de CMI se trouvant bien dans la zone sensible.

### III- DISCUSSION

#### 3.1. Souches étudiées

Parmi les 65 souches retenues, 33 ont pu être identifiées avec une bonne précision par les microplaques streptocoques CSB System. Nous n'avons pas rencontré de problème majeur avec cette méthode d'identification au protocole simple. Les 32 souches restantes ont quant à elles été identifiées au laboratoire de biologie médicale de l'Institut Pasteur de Dakar d'après les résultats de l'examen direct, de l'antibiogramme et quelque fois par l'utilisation d'une galerie Api streptocoque.

La distribution des espèces à savoir *E. faecalis* (96,8%) et *E. faecium* (3,2%) s'est expliquée par la différence des fréquences d'isolement des deux espèces (80% pour *E. faecalis* et 10% pour *E. faecium*) (17, 29, 48).

Si presque tous les services ont été représentés dans la répartition des souches d'internes selon leur origine, il ne nous a pas été possible vu l'absence de données cliniques précises de déterminer avec exactitude les souches responsables réellement d'infections des souches contaminantes. Ce problème s'est plus posé avec les souches d'externes dont plus de 70% proviennent de prélèvements vaginaux et près de 5% de selles et l'on sait la présence normale des entérocoques comme commensaux dans le vagin et l'intestin de l'homme. Mais toujours est-il que les entérocoques sont de plus en plus responsables d'infections nosocomiales comme communautaires (17) et que dans notre cas c'est plutôt la sensibilité qui nous intéresse.

La question du nombre de souches testées par rapport à notre étude ne semble pas se poser vu qu'il s'agissait d'une étude de sensibilité ponctuelle donc limitée dans le temps et dans l'espace, avec quand même des prélèvements assez bien répartis sur presque une année. Il faut tout de même mentionner que le faible nombre de souches d'*E. faecium* (2 souches) ne nous a pas permis d'étudier secondairement de plus près la comparaison de la sensibilité

aux antibiotiques entre les deux espèces étant donné que l'on rapporte généralement une plus grande résistance d'*E. faecium* par rapport à *E. Faecalis* (28, 29, 33, 48, 51)

### 3.2. Méthodes du E-test®

Cette méthode a présenté des avantages certains par rapport aux techniques classiques de dilution et de diffusion dans la détermination de la CMI. En effet c'est une méthode directe de quantification de l'activité antibactérienne d'un antibiotique ne nécessitant pas de tableaux d'interprétation du fait des gradients de concentrations prédéfinies et continues ; cela suppose ainsi une plus grande précision. Des études ont également démontré la grande stabilité du gradient de concentration illustrée par une bonne reproductibilité des résultats avec des variations minimales liées à la densité de l'inoculum bactérien et aux phases de croissance bactérienne (8). Dans une autre étude de validation, le E-test® apparaissait comme étant une excellente alternative aux méthodes standards et de référence pour déterminer l'activité antimicrobienne des glycopeptides (27). Nul doute donc que le choix de E-test® ait été judicieux et que les résultats fournis par cette méthode assez simple et de réalisation aisée peuvent être qualifiés de fiables.

Certaines petites difficultés sont intervenues néanmoins dans la lecture de la CMI dans certains cas où il a fallu interpréter (voir chapitre Matériel et Méthodes sur le E. test®).

Il faut peut être ajouter par rapport à nos pays pauvres le coût de cette méthode qui rend ainsi difficile son utilisation en routine dans les laboratoires de microbiologie.

### 3.3. Sensibilité générale des souches aux antibiotiques

Les résultats de la sensibilité des Entérocoques aux différents antibiotiques et en

fonction des différents paramètres ont été exhaustifs ; c'est aussi le moment de dire en passant que le logiciel Whonet IV a été un outil précieux dans l'exploitation des résultats tant de point de vue rapidité que celui de la richesse et de la clarté.

### 3.3.1. La Vancomycine :

Non seulement nous n'avons pas eu de VRE mais les valeurs de CMI détenues (1µg/ml -4 µg/ml) sont incluses dans un intervalle décrit dans une étude similaire (48). Nous pouvons comparer également nos résultats à ceux décrits ailleurs ; en effet même si l'incidence des souches VRE est en progression aux Etats-Unis (10, 11, 41, 49, 53), une étude multicentrique française n'a pas rapporté de souches résistantes parmi 1310 souches *d'E.faecalis* (34, 48) ; de même à l'hôpital Henri Mondor de Créteil l'incidence de cette résistance est inférieure à 0,5% depuis 1987 (48) et cette même incidence est actuellement inférieure à 0,1% en France. L'Institut Pasteur de Dakar dans sa Lettre aux Médecins des années 1993, 1994 et 1995 (1, 2, 3) a abondé dans le même sens. C'est dire donc que le taux de prévalence des souches VRE reste encore très faible dans nos pays et l'utilisation encore limitée de la vancomycine y est certainement pour beaucoup. Il faut peut être craindre du fait de la valeur de CMI limite obtenue chez 33% des souches qu'on bascule dans les années à venir dans les souches intermédiaires.

### 3.3.2. Les aminosides

Il apparaît d'après nos résultats que les souches d'entérocoques ont présenté une résistance à bas niveau aux aminosides conformément à la littérature (16, 17, 22, 37, 39, 47, 50). Le pourcentage de haut niveau de résistance que nous avons trouvé 60% est un peu plus élevé que celui décrit à l'hôpital Charles Nicolle de TUNIS en 1987 (40%) (30) ; ce qui correspond dans ce cas à une évolution de la résistance à haut niveau. Ba S. (6)

de son côté a trouvé en 1994 un chiffre un peu plus élevé pour la gentamicine (45%) et un peu plus faible pour la streptomycine (47%). Ces résultats surtout concernant la gentamicine se rapprochent de certains résultats obtenus ailleurs. Ainsi l'hôpital Henri Mondor a obtenu en 1992 22% pour la gentamicine avec *E. faecalis*, l'enquête de Schmitt de 1993 21,3% (48, 51) alors que Del Valle (15) a trouvé en Espagne 31% en 1989. Une étude multicentrique américaine de 1995 donne quant à elle un chiffre quasi identique pour la gentamicine 27% (28) même si actuellement l'incidence de la résistance à la gentamicine est supérieure à 50% dans certains centres des Etats Unis (28, 48, 51). Il ressort de tout cela que l'activité de la gentamicine sur les entérocoques est plus élevée que celle de la streptomycine et qu'il existe une certaine variation du pourcentage de haut niveau de résistance aux aminosides d'une région à une autre. Cela pourrait également expliquer le fait que notre pourcentage de résistance trouvé pour la streptomycine 58% soit un peu élevé que celui décrit dans la littérature (12, 28, 29).

#### · **Phénotype de résistance à haut niveau des entérocoques aux aminosides.**

Dans ce cadre, une prédominance du phénotype S par rapport au phénotype G vient confirmer une plus grande résistance des entérocoques à la streptomycine. Cette différence d'activité entre les deux aminosides s'expliquerait par le fait que le facteur de résistance à la streptomycine soit codé par un gène se trouvant sur un plasmide différent de celui qui code pour la résistance à la gentamicine et aux autres aminosides (50). Ceci explique également le fait que certaines souches d'entérocoques puissent présenter un haut niveau de résistance à la gentamicine et ne pas le présenter pour la streptomycine et vis versa (18). Ce phénotypage peut trouver toute son importance auprès du thérapeute dans le choix de l'aminoside à associer à la vancomycine ou à l'ampicilline dans le traitement des infections sévères à entérocoques.

En outre la principale conséquence de l'apparition de ces hauts niveaux de résistance est la levée de l'action synergique bactéricide nécessaire au traitement

d'infections sévères à entérocoques. C'est dire tout l'intérêt que revêt la détection systématique de la résistance à haut niveau après isolement au laboratoire de toute souche d'entérocoque.

### 3.3.3. L'ampicilline

Aucune souche parmi les 65 n'a été productrice de bêtalactamase ; pratiquement toutes les souches (97%) ont été sensibles à l'ampicilline avec des valeurs de CMI (0,5 µg/ml-4 µg/ml) identiques à celles décrites dans une étude (17). Cette absence de résistance des souches à l'ampicilline est similaire aux résultats d'une étude du CHU de Montpellier en 1993 (48); de même lors d'une étude multicentrique réalisée aux Etats-Unis (28), des souches d'entérocoques productrices de bêtalactamases résistantes à l'ampicilline n'ont été retrouvées que dans un centre sur 97 et ces souches ne représentaient que 0,2% des souches. Le CHU de Naples (54) a rapporté quant à elle que l'ampicilline était active sur toutes les souches testées. Ces résultats nous donnent à penser qu'il n'y a pas à travers le monde une évolution de cette résistance actuellement et que l'ampicilline avec une CMI 50 (2 µg/ml) assez basse demeure encore très efficace sur les entérocoques malgré sa grande prescription.

Ces résultats comparés à ceux obtenus avec les aminosides notamment avec la gentamicine ne nous ont pas permis de confirmer l'hypothèse selon laquelle une résistance aux bêtalactamines notamment à l'ampicilline par production de bêtalactamase s'associe souvent à une résistance à haut niveau à la gentamicine ; tout de même nous pouvons affirmer que dans ce cas l'inverse c'est à dire une résistance à la gentamicine qui induirait une résistance aux bêtalactamines et particulièrement à l'ampicilline ne s'est pas vérifié.

### 3.3.4. Les autres antibiotiques

☞ Tétracycline :



Le pourcentage de résistance des entérocoques à la tétracycline trouvé soit 80% a parfaitement coïncidé avec un intervalle de pourcentages rapporté des Etats-Unis (60 à 80%) (21). Ce pourcentage se rapproche également beaucoup de ceux publiés dans d'autres articles (29). Dans tous les cas ces résultats traduisent une forte résistance des entérocoques à la tétracycline ; résistance due à l'acquisition par les entérocoques de gènes codant pour des facteurs de résistance.

#### ☞ Erythromycine :

Une étude multicentrique aux Etats Unis (28) n'a rapporté que 3% de sensibilité des entérocoques à l'érythromycine alors que la littérature a rapporté quant à elle 50 à 60% de résistance (29). Ces derniers chiffres ne sont pas très éloignés de celui que nous avons trouvé soit 42% de résistance avec en plus 48% de souches intermédiaires dont plus de 5% se rapprochent de la zone de résistance. Ces chiffres témoignent d'une forte résistance des entérocoques aux macrolides en général, résistance qui s'étend aux lincosamides et aux streptogramines et qui serait inductible avec la synthèse d'une méthylase et la modification de la cible ribosomale (47).

#### ☞ Ciprofloxacine :

Les résultats obtenus avec cette molécule notamment une CMI 50 (1,5 µg/ml) se trouvant dans la zone intermédiaire ont corroboré l'opinion répandue dans la littérature selon laquelle la ciprofloxacine n'a qu'une activité modérée sur les entérocoques (47). Notre valeur concernant la sensibilité est quand même supérieure à celle décrite dans une étude (28) ; de même cette molécule a été assez active sur nos trois souches d'origine urinaire avec une CMI 90 se trouvant dans la zone sensible.

La résistance aux quinolones, généralement d'origine chromosomique se fait par

modification de la cible (ADN gyrase) ou par diminution de la perméabilité (47).

#### ☞ Rifampicine :

52% de souches résistantes et 31% de souches intermédiaires ont prouvé une efficacité vraiment moindre de la rifampicine vis à vis des entérocoques et à ce titre sa valeur de CMI 50 est assez édifiante.

Cette résistance des bactéries à la rifampicine est due à l'altération d'une sous unité de l'enzyme ARN polymérase ADN dépendante (47).

#### ☞ La Nitrofurantoïne

Les 63% de souches sensibles obtenus avec les entérocoques témoignent d'une assez bonne efficacité du produit le plus utilisé du groupe des Nitrofuranes vis à vis de ces derniers ; ainsi avec sa valeur de CMI 50 (24 µg/ml) se trouvant nettement dans la zone sensible elle peut être proposée en appoint pour traiter les infections à entérocoques. La littérature rapporte une activité bactériostatique de la nitrofurantoïne sur *E. faecalis* (47).

### **3.4. Sensibilités des souches en fonction du produit pathologique**

Les souches d'hémoculture avec un plus fort pourcentage de souches intermédiaires à l'ampicilline, une plus grande valeur de CMI 50 (4 µg/ml) pour la vancomycine, et les plus forts taux de résistance à haut niveau aux aminosides semblent présenter une plus grande résistance à ces antibiotiques par rapport aux autres produits pathologiques ; d'un autre côté, avec 100% de souches sensibles la nitrofurantoïne semble être tout indiquée dans le traitement des bactériémies à entérocoques.

Pour les urines, si la ciprofloxacine et la gentamicine de haut niveau ont bien marché par contre l'action de la tétracycline a été nulle ; la ciprofloxacine a également eu une assez bonne activité sur les prélèvements génitaux (63% de souches sensibles et pas de résistance). Ceci donne à penser que la ciprofloxacine pourrait être utilisée avec une bonne efficacité dans le traitement des infections génito-urinaires à entérocoques.

Nous avons également noté pour la rifampicine une activité plus grande sur les souches d'hémoculture alors que l'érythromycine a été plus active sur les souches provenant de pus et abcès.

### **3.5 Sensibilités des souches en fonction du statut : hospitalisés et externes**

Les résultats sont superposables en ce qui concerne l'ampicilline et la vancomycine. Mais également les souches provenant de patients externes ont montré une plus grande sensibilité que celles provenant de patients hospitalisés ; cela pourrait s'expliquer par une plus grande pression de sélection de souches résistantes en milieu hospitalier imposée par la grande utilisation d'antibiotiques.

Cependant pour l'érythromycine, la tétracycline et la streptomycine à haut niveau, la sensibilité légèrement plus élevée des souches d'hospitalisés nous fait penser à des patients hospitalisés sous traitement préalable par des antibiotiques actifs sur les entérocoques ou à une automédication assez répandue dans la communauté pour ces trois antibiotiques.

## CONCLUSION

Notre objectif en débutant ce travail était d'étudier la prévalence de la résistance des souches d'entérocoques principalement à la vancomycine, aux bêtalactamines et celle de leur haut niveau de résistance aux aminosides.

Cet objectif trouve tout son intérêt et son importance dans le fait que le traitement de référence d'infections sévères à entérocoques reposait jusqu'à présent sur une association synergique bactéricide entre un agent actif sur la paroi (vancomycine ou bêtalactamine) et un aminoside et que par conséquent des souches d'entérocoques ayant résisté à l'un ou à l'ensemble des antibiotiques précités sont responsables de multiples infections sévères communautaires et nosocomiales dont le traitement est très difficile voire problématique pour ne pas dire impossible. Les conséquences d'un tel état de fait ne se limitent pas seulement à une plus grande morbidité ou mortalité mais concernent également les coûts et la durée d'hospitalisation qui s'en trouvent augmentés.

Notre étude qui s'est déroulée au laboratoire de Bactériologie-Virologie du CHU A. Le Dantec de Dakar a porté sur 65 souches d'entérocoques parmi lesquelles 63 souches d'*E.faecalis* et 2 souches d'*E. faecium* isolées et identifiées entre le mois d'Avril 1997 et le mois de Février 1998.

La sensibilité de ces souches par rapport à différents antibiotiques a été déterminée par une méthode de détermination de la CMI qui est la méthode du E-test<sup>®</sup>.

Au chapitre de nos principaux résultats, aucune souche d'entérocoques n'a présenté de résistance à la vancomycine et à l'ampicilline et les hauts niveaux de résistance aux aminosides ont concerné 26% des souches pour la gentamicine et 58% pour la streptomycine. Nous avons également noté une assez bonne efficacité de la nitrofurantoïne (63% de souches sensibles).

Ces résultats nous donnent à penser que le taux de prévalence de la résistance à la vancomycine et à l'ampicilline chez les entérocoques demeure encore très faible dans notre pays et que ces deux antibiotiques avec des valeurs de CMI assez basses sont encore très efficaces sur les entérocoques. Par contre pour les aminosides l'attention et principalement celle du clinicien mérite d'être attirée.

En effet l'apparition d'un haut niveau de résistance à un aminoside due à la synthèse d'enzymes modificatrices, rompt la synergie bactéricide nécessaire obtenue avec la vancomycine ou l'ampicilline même si ces dernières molécules restent actives sur les entérocoques. Ceci remet totalement en cause le traitement de référence des infections sévères à entérocoques et laisse ainsi le thérapeute dans l'embarras du fait de la remarquable habilité des entérocoques à développer des résistances à presque tous les antibiotiques utilisés en thérapeutique comme le confirment nos résultats. Ainsi la prescription ampicilline-gentamicine telle que réalisée au niveau de nos hôpitaux devrait dorénavant être assujettie à une détection systématique d'un haut niveau de résistance aux aminosides par le laboratoire de microbiologie qui pourrait également de ce fait contrôler la prévalence des phénotypes de résistance à haut niveau et ainsi bien conseiller le clinicien dans le choix de l'aminoside approprié ; à cet effet nous avons noté une plus grande activité de la gentamicine sur les entérocoques par rapport à la streptomycine. Il nous faut également rapporter que la monothérapie avec un agent actif sur la paroi (ampicilline, vancomycine ou téicoplanine) a été efficace dans des endocardites à entérocoques. Cette monothérapie comporte néanmoins un risque plus grand d'apparition de résistance. Nous pensons également que la nitrofurantoïne avec son assez bonne activité devrait faire l'objet d'étude d'association avec d'autres agents dans le traitement des infections à entérocoques.

L'absence de résistance pour la vancomycine et l'ampicilline ne doit nullement exclure des mesures préventives surtout pour la vancomycine considérée à juste titre

comme l'agent du dernier ressort du fait que des souches VRE résistant "à tout" ont été décrites aux Etats-Unis. Parmi ces mesures préventives appliquées surtout à l'hôpital du fait d'un plus grand risque d'apparition de résistance due à la pression de sélection imposée par l'utilisation courante d'antibiotiques nous pouvons noter :

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

Dans certains pays comme les Etats-Unis où les souches VRE sont devenues une réalité on cherche déjà à contourner ce problème par l'étude et l'utilisation de nouvelles molécules. A ce titre la téicoplanine plus efficace que la vancomycine, les everninomycines, les oxazolidinones, de nouvelles fluoroquinolones (sparfloxacine) et une streptogramine injectable (quinupristine/dalfopristine) offrent beaucoup d'espoir.

Pour terminer nous pensons que ce travail qui entre dans le cadre du rôle crucial de surveillance de la sensibilité des germes aux antibiotiques que devrait jouer tout laboratoire de microbiologie, devrait être réalisé périodiquement pour pouvoir fournir au clinicien des armes efficaces à utiliser dans le noble combat qu'il mène depuis longtemps déjà contre les micro-organismes pathogènes.

**BIBLIOGRAPHIE****1. ADAM F.**

Bactériologie in la Lettre aux Médecins, Dakar, Institut Pasteur, 1995, N°4, 2p

**2. ADAM F.**

Bactériologie in la Lettre aux Médecins, Dakar, Institut Pasteur, 1994, N°3, 1p

**3. ADAM F.**

Bactériologie in la Lettre aux Médecins, Dakar, Institut Pasteur, 1993, N°2, 1p

**4. ARTHUR M., REYNOLDS P., COURVALIN P.**

Glycopeptide resistance in enterococci.  
Trends Microbiol. 1996 ; 4(10) : 401-407

**5. ARTHUR M., MOLINAS C., DEPARDIEU F. and AL.**

Characterization of Tn 1546, a Tn-3 related transposon conferring glycopeptide resistance by synthesis of depsipeptide peptidoglycan precursors in *Enterococcus faecium* BM 4147.  
J. Bacteriol. 1993; 175 : 117-127

**6. BA S.**

Phénotypage des souches de streptocoques sensibles aux aminosides.  
Thèse, pharmacie, Dakar, 1995, N°44

**7. BISMUTH R.**

Cocci à gram positif et aminosides in P.Courvalin, F.Goldstein, A.Phillipon et J.Sicot-L'antibiogramme, 1985, 29-39

**8. BOLMSTRÖM A., ARVIDSON S., ERICSSON M., KARLSSON A.**

A novel technique for Direct Quantification of Antimicrobial Susceptibility of Microorganisms.  
AB Biodisk, Solna, 1988, 4p





**9. BRUN-BUISSON C.**

Les infections nosocomiales.  
Méd. Mal. Infect. 1996; 26 : 53-62

**10. BUCK M.L., ROBERTS R. J., BETH KLYM M., HENDRICK A. E.,**

Vancomycin : old controversies and New Issues.  
Pediat. Pharm. 1995 ; 1(2) : 1-8

**11. CDC PREVENTION GUIDELINES**

Vancomycin -Resistant Enterococci : Recommendations of the HICPAC 1995 ; 22 :  
09

**12. CARRATALA J., ALCAIDE F., FERNANDEZ SEVILLA A., CORBELLA X.,  
LINARES J., GUDIOL F.**

Bacteremia due to viridans streptococci that are highly resistant to penicillin :  
increase among neutropenic patients with cancer.  
Clin. Infect. Dis. 1995 ; 20 : 1169-73

**13. COURVALIN P., CALIER C., COLLATZ E.**

Plasmid mediated resistance to aminocyclitol antibiotics in D Streptococci.  
J. Bacteriol. 1980 ; 43 : 541-551

**14. COURVALIN P., SHAW W.C., JACOB A.E.**

Plasmid mediated mechanism of resistance to aminoglycoside aminocyclitol  
antibiotics and to chloramphenicol in group D streptococci.  
J. Antimicrobs. Chemother. 1978; 13 : 716-725

**15. DEL VALLE, ORTIZ O., GALLES C., CODINA G., CANO A.**

High Level of resistance to aminoglycosides.  
Inform. Infect. Microbiol. Clin. 1989 ; 7 (10) : 535-41

**16. DUTKA-MALEN S., COURVALIN P.**

Résistance aux glycopeptides et aux aminosides chez les entérocoques.  
Méd. Mal. Infect. 1994; 24, Spécial :158-164

**17. FRANCOIS N.S., MAINARDI J.L.**

Enterococcus faecalis : Aspects bactériologique, épidémiologique et Thérapeutique.  
Feuil. Biol. 1998 ; 39 (220) : 21-26

**18. FLORES M.R., HALEY J.A., ROSS T.W., LEE H.**

Vancomycin Resistant Enterococci : approach to treatment and control  
Canc. contr. J. 1996 ; 3 (1) :1-8

**19. GOLD H.S., MOELLERING R.C.Jr**

Drug therapy : antimicrobial drug resistance.  
N. Engl. J. Med. 1996 ; 335 : 1445-54

**20. GUTMAN L.**

Résistance des entérocoques aux bêtalactamines et conséquences sur les synergies.  
Méd. Mal. Infect. 1994 ; 24 : 195-199

**21. HENNING K., BROWN A.E.**

Vancomycin resistant enterococci.  
Infect. Urol. 1995; 8 (6) : 185-187

**22. HORAUD T., LE BOUGUENEC C.**

Streptococcaceae : Genre Enterococcus.  
in Le MINOR L., VERON M.- Bactériologie Médicale, Paris, Flammarion, 1989 :  
825-28

**23. HORODNICEANU T., BUU HOI A.**

Conjugative transfer of multiple antibiotic resistance markers in Streptococcus pneumoniae.  
J. Bacteriol. 1980 ; 143 : 313-320

**24. HORODNICEANU T., BOUGUELERET L., EL SOLHIN, BIETH G., DELDOS F.**

High level plasmid born resistance to gentamicin in Streptococcus faecalis sub sp zymogenes.  
J. Antimicrob. Chemother. 1979 ; 76 : 686-689

**25. JARVIS W.R.**

Resistance Increasing in Gram positive Bacteria.  
New ORLEANS, Sept 16 ; 1996 : 3-4

**26. JETT B.D., HUYCKE M.M., GILMORE M.S.**

Virulence of Enterococci.  
Clin. Microbiol. 1994 ; 7 (4) : 462-478

**27. JONES R.N., ERWIN M.E., ANDERSON S.C.**

Emerging multiply resistant enterococci among clinical isolates : validation of the E-test to recognize glycopeptide resistant strains.  
Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 1995 ; 21 (2) : 95-100

**28. JONES R.N., SADER H.S., ERWIN M.E., ANDERSON S.C.**

Emerging multiply resistant enterococci among clinical isolates : Prevalence data from 97 medical center surveillance study in the United States.  
Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 1995 ; 21 (2) : 85-93

**29. JUPEAU-VESSIERES A.M., SCAVIZZI M.R.**

Evolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques.  
Encycl.Méd. Chir. (Paris - FRANCE), Maladies Infectieuses, 8-006-0-10, 1994, 16p.

**30. KECHRID A., BEN REDJEB S., GARGOURI J., FENDRI C., BEN HASSEN E., BOUJNAH A.**

Les Streptocoques du Groupe D et les entérocoques : identification, sensibilité aux antibiotiques et études de la résistance Haut niveau aux aminosides (Hôpital Charles Nicolle de Tunis).  
Méd. Trop. 1991 ; 51 (2) :177-180

**31. KIBSEY P.**

Vancomycin resistant enterococci at Victoria General.  
Febr 8th 1997, 05p

**32. KING J.W.**

Vancomycin Resistant Enterococci.  
Bug Bytes 1996 ; 2 (19) : 2

**33. LECLERCQ R.**

La résistance des entérocoques aux glycopeptides.  
Méd. Mal. Infect. 1997 ; 27, spécial : 943-5

**34. LECLERCQ R.**

Epidémiologie des infections nosocomiales à entérocoques.  
Méd. Mal. Infect. 1994 ; 24 : 199-206

**35. LEONARD and AL.**

Vancomycin.  
Med. Infect. Dis.J, 1989 ; 8 (5) : 282

**36. LUCHT F., BERTHELOT P., FRESARD A.**

Le traitement des infections à entérocoques.  
Méd. Mal. Infect 1994 ; 24, spécial : 207-217

**37. MAINOUS M.R., LIPSETT P.A., STEVENSON M.**

Enterococcal bacteremia in the SICU.  
Baltimore, Johns Hopkins Medical Institutions, 1996, 2p

**38. MAINARDI J.L.**

Sensibilité et mécanismes de résistance aux antibiotiques des streptocoques pneumocoques et entérocoques.  
Feuil. Biol., 1997 ; 38(215): 29-31

**39. MAINARDI J.L., GOLDSTEIN F.W., GUTMANN L.**

Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques.  
Encycl. Méd. Chir. (Elsevier, Paris), Maladies infectieuses, 8-006-N-10, 1996, 8p

**40. MAY T., CANTON P.**

Glycopeptides.  
Encycl. Méd. Chir. (Paris-France), Maladies infectieuses, 8-004-L-10, 1994 4p

**41. MAY HALL C.G**

Prevention and control of vancomycin resistance in Gram positive coccal microorganisms : fire prevention and fire fighting.

- Infect. Contr. Hosp. Epidemiol. 1996 ; 17: 353-355
42. **MORRIS J.G. Jr, SHAY D.K.,HEBSEN J.N., MC CARTER R.J. Jr, PERDUE B.E., JARVISW, JOHNSON J.A., DOWLING T.C., POLISH L.B., SCHWABLE R.S.**  
Enterococci resistant to multiple antimicrobial agents, including Vancomycin : establishment of endemicity in a University Medical Center.  
Ann. Intern. Med. 1995;123(4) : 250-259
43. **MUNDY L.**  
Multidrug Resistant Enterococci Infections.  
Infect. Contr. Newsl. 1996 ; 2(1) : 1-3
44. **NICAS T.I., ZECKEL M.L., BRAVN D.K**  
Beyond Vancomycin : new therapies to meet the challenge of glycopeptide resistance.  
Trends Microbiol. 1997; 5(6): 240-249
45. **PATTERSON J.E., MASECAR B.L, ZERVOS N.J.**  
Characterization and comparison of two penicillinase producing strains of *Streptococcus faecalis*.  
Antimicrob. Agents Chemother. 1988; 32: 122-124
46. **PEPPER K., HORAUD T., LE BOUGUENEC D., CESPEDES G.**  
Location of antibiotic resistance markers in clinical isolates of *Enterococcus faecalis* with similar antibiotypes.  
J. Antimicrob. Agents Chemother. 1987 ; 31(9): 1394-402
47. **ROBERT-DERNUET S.**  
Antibiotiques et antibiogrammes, Paris - Montréal, Vigot- Décarie, 1995, 322p
48. **STREFF K., JEAN PIERRE H., DARBAS H., PAILLISSON J.**  
Entérocoques au CHRU de Montpellier durant le mois de septembre 1993 : espèces isolées, répartition en fonction du prélèvement, rôle pathogène, sensibilité aux bêtalactamines, aminosides, glycopeptides.  
Méd. Mal. Infect. 1996 ; 26 : 704-13
49. **STOSOR V., NOSKIN G.A., PETERSON L.R.**

- The Management and Prevention of Vancomycin resistant Enterococci.  
Infect. Med. 1996 ; 13(6) :487-488, 493-498
50. **SIGLER A.J., HESSEN M.T.**  
Antibiotic Resistance in Clinically Important Gram positive Cocci.  
Infect. Med. 1993 ; 10(12) :20, 37-40, 43
51. **SY K.R.**  
Souches bactériennes et résistance aux antibiotiques : données actuelles au CHU A.  
Le DANTEC de Dakar  
Thèse, pharmacie, Dakar, 1996, N°61
52. **THIERCELIN M.E.**  
Sur un diplocoque saprophyte de l'intestin susceptible de devenir pathogène.  
C.R. Soc. Biol. 1899 ; 5 : 269-271
53. **TOMASZ A.**  
Multiple antibiotic resistant pathogenic bacteria : a report on the Rockefeller  
University workshop.  
N. Engl. J. Med. 1994 ; 330 : 1247-50
54. **TRIPODI M.F., RAMBALDI A., ROSARIO P., ATTANASIO V., LOCATELLI  
A., ADINOLFI L.E., ANDREANA A., FLORIO A., RUGGIERO G.**  
Resistance to aminoglycoside and other antibiotics among clinical isolates of  
Enterococcus spp.  
New Microbiol. 1995 ; 18(3) : 319-323
55. **WILLIAMSON R., LE BOURGUENEC C., GUTMAN L., HORAUD T.**  
One or two low affinity penicillin binding proteins may be responsible for the range  
of susceptibility of Enterococcus faecium to benzylpenicillin  
J. Gen. Microbiol. 1985 ; 131 : 1933-1940
56. **ZSCHECK K.K., HULL R., MURRAY B.E.**  
Restriction mapping and hybridization studies of a betalactamase encoding fragment  
from Streptococcus (Enterococcus) faecalis  
Antimicrob. Agents Chemother. 1988 ; 32:768-769

## Plan

INTRODUCTION.....	1
-------------------	---

## **1<sup>ERE</sup> PARTIE : GENERALITES**

<b>I IDENTIFICATION DES ENTEROCOQUES .....</b>	<b>1</b>
--	----------

1.1) RAPPEL .....	1
1-2) CARACTERES GENERAUX.....	4
1-2-1) <i>Caractères morphologiques</i> .....	4
1-2-2) <i>Caractères cultureux</i> .....	4
1-2-3) <i>Caractères biochimiques</i> .....	4
1-3) IDENTIFICATION DE L'ESPECE .....	5
1-4) STRUCTURE ET COMPOSITION .....	5
1-5) FACTEURS DE VIRULENCE.....	6

<b>II- EPIDEMIOLOGIE DES INFECTIONS A ENTEROCOQUES CHEZ L'HOMME.....</b>	<b>7</b>
--	----------

2-1) INFECTIONS COMMUNAUTAIRES.....	7
2-1-1) <i>Infections urinaires</i> .....	7
2-1-2) <i>Infections abdominopelviennes</i> .....	7
2-1-3) <i>Bactériémies</i> .....	8
2-1-4) <i>Endocardites</i> .....	8
2-1-5) <i>Les infections néonatales</i> .....	8
2-1-6) <i>Infections du système nerveux central</i> .....	8

<b>III INFECTIONS NOSOCOMIALES .....</b>	<b>9</b>
--	----------

<b>IV- SENSIBILITE DES ENTEROCOQUES AUX ANTIBIOTIQUES .....</b>	<b>9</b>
---	----------

4-1) RESISTANCE NATURELLE DES ENTEROCOQUES AUX ANTIBIOTIQUES .....	10
--	----





4-2) RESISTANCE ACQUISE DES ENTEROCOQUES AUX ANTIBIOTIQUES .....	10
4-2-1) <i>Résistance aux bêtalactamines</i> .....	11
4-2-1-1) Mécanisme d'action des bêtalactamines .....	11
4-2-1-2) Mécanismes de résistance.....	11
4-2-2) <i>Résistance aux aminosides</i> .....	12
4-2-2-1) Mécanisme d'action des aminosides .....	12
4-2-2-2) Mécanismes de résistance.....	12
4-2-3) <i>Résistance aux glycopeptides</i> .....	13
4-2-3-1) Mécanisme d'action des glycopeptides .....	13
4-2-3-2) Mécanismes de résistance aux glycopeptides.....	13
4-2-4) <i>Résistance aux autres antibiotiques</i> .....	14

## **2EME PARTIE : TRAVAIL PERSONNEL**

<b>I MATERIEL ET METHODES .....</b>	<b>19</b>
1.1. MATERIEL .....	19
1.1.1- <i>Cadre d'étude</i> .....	19
1.1.2- <i>Souches Bactériennes</i> .....	19
1.1.2. <i>Matériel pour l'isolement et l'identification</i> .....	21
1. 1.3 <i>Matériel pour l'étude de la sensibilité par E-test<sup>®</sup></i> : .....	21
1.1.4 <i>Matériel pour la conservation</i> .....	22
1.1.5 <i>Matériel pour l'exploitation des résultats</i> .....	22
1.1.6. <i>Réactifs utilisés</i> : .....	22
1.2. METHODES.....	23
2.2.1 <i>Méthode d'isolement</i> .....	23
2.2.3. <i>Méthode d'identification : Microplaque streptocoque CSB system</i> .....	24
2.2.4 <i>Méthode de détermination de la sensibilité par E-test<sup>®</sup></i> .....	25
1.3. CONTROLE DE QUALITE .....	28

<b>II- RESULTATS ET COMMENTAIRES .....</b>	<b>30</b>
2.1. LES SOUCHES IDENTIFIEES .....	30
2.2. SENSIBILITES AUX ANTIBIOTIQUES .....	32
<b>III- DISCUSSION .....</b>	<b>44</b>
3.1. SOUCHES ETUDIEES .....	44
3.2. METHODES DU E-TEST® .....	45
3.3. SENSIBILITE GENERALE DES SOUCHES AUX ANTIBIOTIQUES .....	45
3.3.1. <i>La Vancomycine</i> : .....	46
3.3.2. <i>Les aminosides</i> .....	46
3.3.3. <i>L'ampicilline</i> .....	48
3.3.4. <i>Les autres antibiotiques</i> .....	48
3.4. SENSIBILITES DES SOUCHES EN FONCTION DU PRODUIT PATHOLOGIQUE .....	51
3.5 SENSIBILITES DES SOUCHES EN FONCTION DU STATUT : HOSPITALISES ET EXTERNES .....	52
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>53</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>56</b>