

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR

FACULTE DE MEDECINE DE PHARMACIE ET D'ODONTOLOGIE

Année 2020

N°144



Profil de résistance des souches d'entérocoques isolées d'infections du tractus urinaire au service d'Urologie du Centre National Hospitalier Universitaire Aristide Le Dantec.

MEMOIRE

Pour l'obtention du Diplôme de Master de microbiologie Fondamentale et Appliquée

PRESENTÉ ET SOUTENU PUBLIQUEMENT LE

28 Juillet 2020

Par

DIANKE SAMATE

Née le 19/10/1993 à Dakar (Sénégal)

MEMBRES DU JURY

Président : M. Cheikh Saad Bouh BOYE Professeur

Membres : M. Makhtar CAMARA Professeur

Mme. Halimatou Diop NDIAYE Maître de conférences Agrégé

M. Assane DIENG Maître-Assistant

Directeur de mémoire : M. Makhtar CAMARA Professeur

Co-directeur de mémoire Dr. Assane DIENG Maître-Assistant

IN MEMORIUM

A mon Cher Père

Tu fus un père exemplaire.

Ta gentillesse, ta sagesse et ton humilité m'ont beaucoup marqué ;

Ton amour et ta tendresse me manquent tellement ;

Que ne donnerai je pour t'avoir aujourd'hui à mes côtés ;

Le vide que ta disparition a laissé en moi restera éternel ;

Repose en paix Cher et tendre père.

Que les portes du Paradis te soient grandes ouvertes.

DEDICACES

Ce travail est dédié

A ma maman Oumy,

Aucun mot ne pourra décrire mon amour pour toi ;
Femme travailleuse, infatigable, courageuse, exemplaire, modèle de dévouement et de générosité. Tu nous as éduqués dans le droit chemin, tu as veillé à ce qu'on ne manque de rien. Je prie pour que le tout puissant t'accorde une longue vie et beaucoup de santé.

A mes frères et sœurs,

J'ai toujours su trouver soutien et amour en chacun de vous. Soyez assurés de ma gratitude et de mon éternel amour. Qu'Allah nous unisse davantage et qu'il nous guide dans le droit chemin.

A mon cousin Ibrahima,

Aucun mot ne pourra témoigner l'estime que j'ai pour vous ;
Je vous remercie de tout cœur et je prie pour que le tout puissant vous accorde une longue vie et beaucoup de santé.

A toute ma famille,

Pour votre soutien inconditionnel, vos prières et vos encouragements.

A mes amis

Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

REMERCIEMENTS

A Notre maître et Président de Jury,

Monsieur le Professeur Cheikh Saad Bouh BOYE

Nous vous sommes infiniment reconnaissants pour le grand honneur et le privilège que vous nous faites en acceptant de présider la soutenance de notre mémoire de Master.

Votre disponibilité, votre compétence et vos éminentes qualités intellectuelles font de vous un maître estimé et respecté par tous.

Qu'il nous soit permis, cher maître, de vous exprimer notre plus haute considération et nos sincères remerciements.

A Notre maître et directeur de mémoire

Monsieur le Professeur Makhtar CAMARA

Sachez que nous sommes très honorés de travailler sous votre direction. Soyez assuré de tout notre respect et de notre sincère reconnaissance. Nous vous exprimons nos profonds remerciements pour l'aide que vous nous avez apporté à l'élaboration de ce travail, malgré vos nombreuses occupations.

A Notre maître et juge

Professeur Halimatou DIOP NDIAYE

Vous nous avez honorés en acceptant de faire partie du jury. Votre rigueur scientifique, votre grandeur d'esprit, votre gentillesse, et votre modestie sont autant de qualités qui suscitent le respect et l'admiration. Nous vous témoignons à travers ce document tous nos sincères remerciements et notre profonde gratitude.

A Notre maître et co-directeur de mémoire

Dr Assane DIENG

Malgré vos occupations vous êtes toujours là quand nous avons besoin de vous. Nous ne saurions vous exprimer à sa juste valeur notre reconnaissance pour tout ce que vous avez réalisé à l'endroit de notre modeste personne. Nous vous témoignons notre gratitude à travers ce document. Merci pour l'encadrement, Merci pour votre disponibilité, merci votre gentillesse. Merci pour tout.

A Mr Abdoulaye DIOP

Vous avez pleinement contribué à la réalisation de ce travail. Merci pour votre soutien sans faible.

A Dr Ousmane Niasse

Vos conseils et vos encouragements m'ont été d'une grande utilité. Trouvez ici l'expression de notre gratitude.

A Dr Eloi Kamba

Merci pour votre soutien. Je vous suis très reconnaissante.

A tout le personnel du laboratoire de bactériologie-virologie du Centre National Hospitalier Universitaire de l'hôpital Aristide Le Dantec

A mes promotionnaires du Master de Microbiologie Fondamentale et Appliquée

A tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

LISTE DES ABREVIATIONS

AAC : Aminoglycoside acétyltransférase chromosomique

ACE : adhésine de liaison au collagène de *E. faecalis*

ACM : adhésine de liaison au collagène de *E. faecium*

ADH : Arginine dihydrolase

ADN : Acide désoxyribonucléique

APH : Aminoside phosphotransferase

ASC 10 : Amino acid transporteur 10

BEA : Bile esculine azide

BHS : Bouillon hypersalé

BMR : Bactéries multi-résistantes

CA-SFM : Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie

CHNU : Centre Hospitalier National Universitaire

CLED : Cystine Lactose Electrolyte Déficient

CME : composantes de la matrice extracellulaire

CMI : Concentration minimale inhibitrice

CPS : Chromogenic Plate Substrate

CYT : cytochrome

C3 : protéine appartenant au système du complément

C3a : protéine formée par le clivage du composant du complément 3

ECBU : Examen cytobactériologique des urines

EPB: endocarditis and biofilm associated pili

ERV : Entérocoque résistant à la vancomycine

EUCAST: European committee on Antimicrobial susceptibility testing

GLS 24 : gène de la protéine inducible par le stress

GYR A : gyrase subunit A

ITU : Infection du tractus urinaire

LPXTG: Linked protein surface from *Streptococcus gordonii*

MH : Mueller Hinton

MLS : Macrolides Lincosamides Streptogramines

MSCRAMM : Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules

Mur-Nac : acide N-acétylmuramique

PCR : Polymerase chain reaction

PilA : Type IV pilus assembly protein

PilB : Type IV pilus assembly ATPase

PLP : Protéines Liant les Pénicillines

PNA : Pyélonéphrite aiguë

PCSIN : Programme canadien de surveillance des infections nosocomiales

PYRA ou PYR : L-pyrrolidonyl-3-naphthylamide

QNR : Quinolones resistance

SA : Substance d'agrégation

SCM : Seconde adhésine de liaison au collagène de *E. faecium*

SFU : Signe fonctionnel urinaire

TS : Trypticase-Soja

UDP : Uridine Di-Phosphate

UFC : Unite formant colony

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Anatomie de l'arbre urinaire masculin et féminin.....	5
Figure 2: Vue d'ensemble des protéines de surface LPXTG et des pili des entérocoques.....	9
Figure 3: Aspect en microscopie optique (x100) d'entérocoques après coloration de Gram	10
Figure 4: Colonies d'entérocoque sur CPS	11
Figure 5: Colonies d'entérocoque bêta-hémolytique	14
Figure 6: Mécanismes de résistance de la bactérie	25
Figure 7: Prévalence des patients atteints d'ITU porteurs de sonde	32
Figure 8: Prévalence des patients hospitalisés atteints d'ITU.....	33
Figure 9: Répartition des entérocoques en fonction du sexe	33
Figure 10: Répartition des souches d'entérocoques en fonction des différentes tranches d'âge.	
.....	34

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Tests biochimiques pour identifier <i>E. faecalis</i> et <i>E. faecium</i>	11
Tableau II: Liste des antibiotiques	29
Tableau III: Taux de sensibilité aux antibiotiques des enterocoques.....	36

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.....	1
PREMIERE PARTIE: SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	4
CHAPITRE I : Généralités sur infections du tractus urinaire (ITU).....	5
I.1. Définition.....	5
I.2. Rappel sur l'anatomie de l'appareil urinaire	5
I.3. Mécanismes d'acquisition des infections du tractus urinaire	6
I.4. Facteurs favorisant la survenue des infections du tractus urinaire.....	6
I.4.1. Facteurs liés à la bactérie.....	6
I.4.2. Les facteurs liés à l'hôte	6
I.5. Les types d'infections du tractus urinaire.....	7
I.5.1. La cystite aiguë	7
I.5.2. La pyélonéphrite aiguë.....	8
I.5.3. La prostatite aiguë.....	8
CHAPITRE II: Généralités sur les entérocoques	8
II.1. Historique...	8
II.2 Classification.....	9
II.3. Caractères bactériologiques.....	9
II.3.1. Caractères morphologiques	9
II.3.2. Caractères culturaux	10
II.3.3. Caractères biochimiques	10
II.3.4. Caractères antigéniques	12
II.3.5. Facteurs de virulence.....	12
II.4. Habitat.....	15

II.5. Epidémiologie	15
II.6. Pouvoir pathogène	17
CHAPITRE III : Méthode d'étude de la sensibilité aux antibiotiques des entérocoques ...	18
III.1. Méthode de diffusion en milieu solide	18
III.2. Méthode de dilution en milieu liquide	18
III.3. Méthode de dilution en milieu solide.....	19
III.4. Antibiogramme automatisée	19
CHAPITRE IV : Traitement et résistance bactérienne aux antibiotiques.....	20
IV.1. Traitement des infections urinaires à entérocoques.....	20
IV.2. Notion de résistance.....	20
IV.3. Types de résistance des entérocoques	21
IV.3.1. Résistance naturelle.....	21
IV.3.2. Résistance acquise	22
DEUXIEME PARTIE: TRAVAIL EXPERIMENTAL	26
I. Objectifs.....	28
II. Type, période et cadre d'étude	27
III. Population d'étude	27
IV. Matériel et Méthodes.....	27
IV.1. Matériel.....	27
IV.1.1. Matériel d'isolement et d'identification	27
IV.1.2. Matériel d'étude de la sensibilité aux antibiotiques	28
IV.2. Méthodes...	29
IV.2.1. Prélèvements	29
IV.2.2. Isolement et identification.....	30
IV.2.3. Etude de la sensibilité aux antibiotiques	31

V. Résultats.....	32
V.1. Population d'étude	32
V.1.1. Distribution des souches d'entérocoques chez les patients porteurs de sonde	32
V.1.2. Distribution des souches d'entérocoques chez les patients hospitalisés	32
V.1.3. Distribution des ITU à entérocoques en fonction du sexe	33
V.1.4. Distribution des ITU à entérocoques en fonction de l'âge	34
V.2. Profil de résistance des souches d'entérocoques isolées d'ITU.....	34
V.2.1. Sensibilité aux bêta-lactamines	35
V.2.2. Sensibilité aux glycopeptides.....	35
V.2.3. Sensibilité aux macrolides	35
V.2.4. Sensibilité aux aminosides	35
V.2.5. Sensibilité aux fluoroquinolones	35
V.2.6. Sensibilité aux autres antibiotiques testés.....	35
VI. Discussion...	37
CONCLUSION...	39
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	42
ANNEXE.....	51

INTRODUCTION

Les infections du tractus urinaire (ITU) sont considérées comme les infections bactériennes les plus fréquemment rencontrées en milieu hospitalier. Selon une estimation de *Kalsi J et al*, ces infections représentent environ plus de 40% des infections acquises en milieu hospitalier [1].

Les ITU posent aujourd’hui un véritable problème de santé publique par la surmortalité, la morbidité et les surcouts qu’elles entraînent [2].

Elles touchent les hommes et les femmes à tout âge mais beaucoup plus fréquentes chez les femmes en raison de l’anatomie de leur appareil urinaire. Environ 50% des femmes ont un épisode d’ITU dans leur vie et 20 à 40% ont des infections récidivantes, cependant ces infections ne touchent que 20% des hommes [3].

Les patients présentant des sondes urinaires, des troubles néphrotiques ou séjournant longtemps à l’hôpital sont particulièrement les plus exposés à ces infections qui sans traitement efficaces peuvent entraîner des maladies rénales [4].

Les principales bactéries uropathogènes sont *Escherichia coli*, *Enterobacter spp*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae* [5].

Cependant, les entérocoques initialement considérés comme des bactéries commensales du tube digestif sont aujourd’hui reconnues comme le deuxième agent pathogène responsable d’ITU chez les patients hospitalisés [6].

Le traitement des infections à entérocoques reste très difficile à cause de leurs résistances naturelles et acquises à de nombreux antibiotiques.

Les entérocoques ont une résistance naturelle aux aminosides, aux bêta-lactamines, ainsi qu’une résistance acquise aux macrolides, à la vancomycine, aux tétracyclines et aux fluoroquinolones.

La plupart des souches hospitalières sont résistantes à un large éventail d’antibiotiques y compris les macrolides, la vancomycine et sont également productrices de bêta-lactamases leur conférant une résistance aux pénicillines et aux céphalosporines [7].

Ainsi pour une meilleure prise en charge des infections, la connaissance du profil de sensibilité de ces entérocoques est nécessaire.

Cependant, peu d’études ont portées sur le profil de sensibilité des souches d’entérocoques isolées d’ITU au centre hospitalier universitaire Aristide Le Dantec.

C’est dans ce contexte que nous avons réalisé cette étude dont les objectifs étaient :

- Déterminer la prévalence des ITU au service d’urologie (prévalence globale, prévalence chez les femmes, hommes)

- Déterminer la tranche d'âge la plus touchée par ces infections
- Déterminer les facteurs associés à ces infections
- D'isoler les souches d'entérocoques dans les urines
- Déterminer le profil de résistance des souches isolées pour contribuer à une meilleure prise en charge des infections à entérocoques.

Dans cette optique, nous avons procédé dans une première partie à une synthèse bibliographique sur les données épidémiologiques des souches d'entérocoques et sur les différents mécanismes de résistance aux antibiotiques. Puis, dans une seconde partie nous détaillerons les outils méthodologiques utilisés avant d'exposer et de discuter les résultats.

PREMIERE PARTIE: SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : Généralités sur infections du tractus urinaire (ITU)

I.1. Définition

Une infection du tractus urinaire (ITU) est une infection qui peut toucher une ou plusieurs parties du système urinaire : les reins, les uretères, la vessie et l'urètre. Elle se manifeste le plus souvent par des douleurs ou une sensation de brûlure lors de la miction, parfois par des douleurs abdominales et de la fièvre [8]. L'ITU se caractérise par une multiplication de micro-organismes au sein de l'arbre urinaire (bactériurie) s'accompagnant d'une réaction inflammatoire avec afflux de leucocytes (leucocyturie). Cette infection est majoritairement féminine, le risque d'infection est moindre chez le sexe masculin [9].

I.2. Rappel sur l'anatomie de l'appareil urinaire

L'appareil urinaire est divisé en deux parties. Il comprend en effet le bas appareil, composé de l'urètre et de la vessie, et le haut appareil urinaire, bilatéral et symétrique, composé des uretères et des reins (figure 1).

L'urètre est le premier obstacle à l'invasion des bactéries. Son sphincter limite la colonisation. Sa longueur plus grande chez l'homme explique aussi la moindre fréquence des ITU chez le sexe masculin.

De plus, le système anti-reflux entre le rein et la vessie, limite la progression des bactéries vers le haut appareil et donc le risque de pyélonéphrite [10].

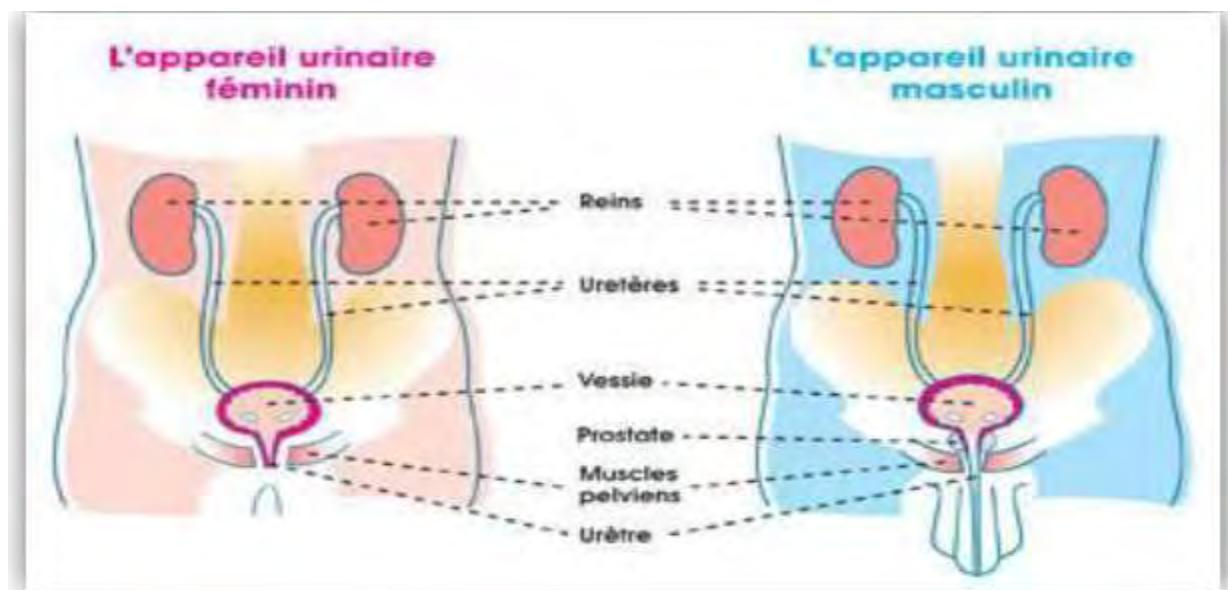


Figure 1: Anatomie de l'arbre urinaire masculin et féminin [11].

I.3. Mécanismes d'acquisition des infections du tractus urinaire

La contamination des urines peut se faire par voie ascendante (le plus fréquent) ou hématogène [12].

- **Voie ascendante**

C'est la voie de pénétration la plus fréquente. Le germe colonise successivement les régions périnéales, vulvo-vaginale, urétrales et remontent à la vessie, ou à la faveur d'un reflux vésico-uréteral, aboutissent au haut appareil urinaire. La longueur de l'urètre masculin et les sécrétions prostatiques acides douées d'un pouvoir bactéricide protège les hommes des ITU ; alors que la brièveté anatomique de l'urètre féminin explique au moins en partie la prédominance des ITU chez la femme [13].

- **Voie descendante (hématogène)**

Elle est limitée à quelques germes qui peuvent survenir lors d'une septicémie ou lors d'une bactériémie [14]. Parmi ces germes : les staphylocoques, salmonelles, mycobactéries, *candida* qui peuvent parfois provoquer une infection parenchymateuse par voie hématogène [15].

I.4. Facteurs favorisant la survenue des infections du tractus urinaire

I.4.1. Facteurs liés à la bactérie

La présence des facteurs d'adhésion et de virulence développés par les bactéries uropathogènes et la présence d'un inoculum bactérien en quantité importante dans le tractus urinaire sont considérés comme des facteurs favorisant l'infection du tractus urinaire [16].

I.4.2. Les facteurs liés à l'hôte

- **Le sexe**

L'urètre constitue une défense naturelle variable selon le sexe. Les femmes courent un risque plus élevé d'ITU pour plusieurs raisons, notamment un urètre anatomiquement plus court et la proximité de l'ouverture de l'urètre avec les communautés microbiennes de l'intestin grêle et des voies vaginales [17].

- **L'âge**

Chez l'adulte, il pourra s'agir de tout obstacle présent sur les voies excrétrices (lithiase, hypertrophie prostatique, etc.) et chez l'enfant de malformations favorisant la stase urinaire avec en particulier le reflux vésico-urétéréal [9].

- **Les facteurs pathologiques**

- ✓ Stase urinaire : Le vieillissement du système vésico-sphinctérien ne permet plus une vidange complète de la vessie, d'où la présence de résidus post-mictionnels. Les médicaments anti-cholinergiques entraînent une hypoactivité vésicale et majorent la rétention d'urine [18].
- ✓ Enfin, chez l'homme, l'augmentation du volume de la prostate après 50 ans crée un obstacle urétral [18].
- ✓ Immunodépression : La diminution des défenses immunitaires chez la personne âgée, additionnée à d'autres facteurs de risque, rend ces patients plus vulnérables face aux ITU [19].
- ✓ Un corps étranger intra vésical : la sonde à demeure constitue une cause majeure de pénétration, de persistance et de multiplication bactérienne [17].

- **Les facteurs physiques**

La stagnation prolongée de l'urine dans la vessie due aux mictions rares et incomplètes, ou encore des boissons peu abondantes favorisent les ITU [17].

- **Les facteurs physiologiques**

- ✓ Les rapports sexuels (brassage exercé sur l'urètre durant le coït) favorisent la pénétration des germes le long de l'urètre vers la vessie [17].
- ✓ La grossesse : Il existe des modifications anatomiques, hormonales, des propriétés chimiques des urines et de l'immunité des femmes enceintes favorisant les ITU au cours de la grossesse et qui expliquent leur fréquence élevée [20].

I.5. Les types d'infections du tractus urinaire

I.5.1. La cystite aiguë

Il s'agit d'une inflammation de la paroi de la vessie, d'origine infectieuse touchant essentiellement les femmes [21].

La cystite résulte de la réponse inflammatoire à l'adhérence des bactéries à la surface de la muqueuse de la vessie ou de l'urètre [22].

La cystite aiguë se manifeste par des signes fonctionnels urinaires de type :

- Brûlures mictionnelles ;
- Pollakiurie (augmentation de la fréquence des urines) ;
- Impériosité [23].

D'autres signes peuvent être présents, comme une pesanteur entre les mictions, un spasme rétropubien en fin de miction avec une hématurie le plus souvent terminale [24].

I.5.2. La pyélonéphrite aiguë

La pyélonéphrite aiguë est une infection des voies urinaires supra-vésicales et du rein lui-même, définie par des critères : cliniques, radiologiques (au sens large : scanner, échographie...) et bactériologiques. Tous les germes responsables d'infection urinaire peuvent être responsables de pyélonéphrite [25].

Elles peuvent être la cause de lésions rénales et de diffusion systémique. La pyélonéphrite aiguë est potentiellement la plus sévère des ITU [26].

I.5.3. La prostatite aiguë

La prostatite est une inflammation aiguë d'origine bactérienne de la glande prostatique [27].

La prostatite aiguë est définie par l'association de :

- Température $\geq 38^{\circ}\text{C}$ ou $< 36^{\circ}\text{C}$ (au moins 1 fois dans les 72 heures précédentes) ;
- Au moins un signe parmi les suivants : signe fonctionnel urinaire, rétention d'urine, douleurs pelviennes indépendantes de la miction (sus-publiennes, péri-néphales, urétrales), douleurs prostatiques au toucher rectal ;
- Leucocyturie ;

Durée des symptômes inférieurs à 3 mois [28].

CHAPITRE II : Généralités sur les entérocoques

II.1. Historique

Pendant très longtemps, les entérocoques ont été classés au sein du genre *Streptococcus*, jusqu'en 1984, où une analyse du génome indiqua qu'il était plus approprié de créer le genre *Enterococcus*. Cet amalgame est notamment dû au fait que les entérocoques possèdent

l'antigène de paroi D, partagé par des bactéries du genre *Streptococcus* (*Streptococcus gallolyticus*, *Streptococcus infantarius*...). Le genre *Enterococcus* et le sous-genre *Streptococcus* D peuvent être différenciés par la salinité d'un milieu de culture. En effet, les entérocoques peuvent être cultivés sur un milieu hyper-salé (6,5 % NaCl) [29].

II.2. Classification

En 1998, Monstein et al. avaient proposé de subdiviser ce genre en groupes d'espèces :

- le groupe *Enterococcus avium*
- le groupe *Enterococcus cecorum*
- le groupe *Enterococcus dispar*
- le groupe *Enterococcus faecalis*
- le groupe *Enterococcus faecium*
- le groupe *Enterococcus gallinarum*
- le groupe *Enterococcus Saccharolyticus* [30].

Le genre *Enterococcus* a à ce jour 58 espèces. Les entérocoques sont dans l'ordre des Lactobacillales avec d'autres familles d'importance médicale et économique, comme les Lactobacillaceae et les Streptococcaceae, la classe des Bacilli dans le phylum Firmicutes [31].

II.3. Caractères bactériologiques

II.3.1. Caractères morphologiques

Les entérocoques sont des cocci ovoïdes à Gram positif disposés en diplocoques ou en courtes chaînettes, non sporulés, immobiles (à l'exception de *E. casseliflavus*) (figure 3). La surface cellulaire de quelques souches de *E. faecalis* examinée par microscopie électronique montre la présence de fimbriae [29].



Figure 2: Aspect en microscopie optique (x100) d'entérocoque après coloration de Gram

II.3.2. Caractères culturaux

Malgré quelques exceptions, les entérocoques sont aptes à survivre dans les 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) [56]. Les bactéries du genre *Enterococcus* sont peu exigeantes en facteurs de croissance et peuvent donc se multiplier aisément sur les géloses ordinaires Trypticase-Soja (TS) après 18 à 24 heures d'incubation à 35°C [57].

II.3.3. Caractères biochimiques

Ne possédant pas de cytochrome oxydase, les entérocoques sont de ce fait catalase négative bien que certaines souches puissent posséder une pseudo-catalase [29].

Les entérocoques sont capables d'hydrolyser la L-pyrrolidonyl-3-naphthylamide (PYR) et l'esculine ; cette dernière propriété est due à la présence d'une bêta-glucosidase (Tableau I). Cette enzyme est à l'origine de la formation de colonies vertes sur géloses CPS « chromogenic plate substrate » (figure 4). La capacité des entérocoques à se multiplier en présence de la bile et à hydrolyser l'esculine explique la formation d'un halo noir autour des colonies sur gélose bile-esculine [56].

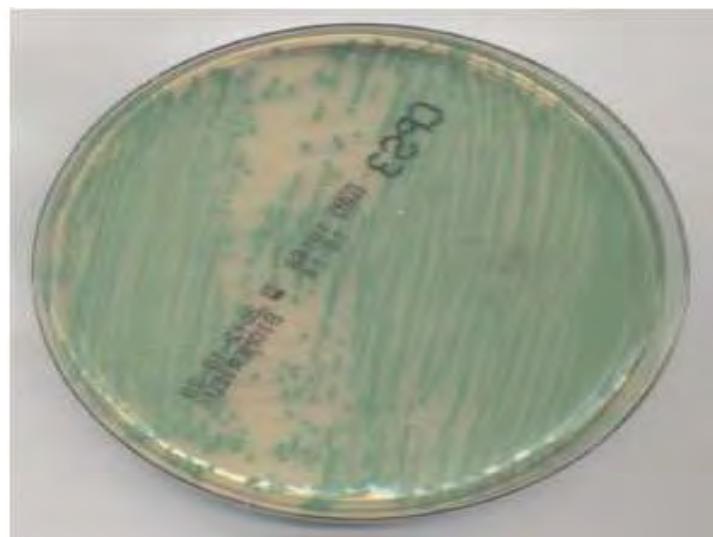


Figure 3: Colonies d'entérocoque sur CPS [57].

La majorité des souches appartenant à ce genre sont non hémolytiques ; toutefois, après 48 à 72 heures d'incubation, on note parfois une faible hémolyse alpha. *E.faecalis* et *E.durans* peuvent produire une bêta-hémolyse faible (figure 5) [58].



Figure 4: Colonies d'entérocoque bêta-hémolytique [57].

Tableau I : Tests biochimiques pour identifier *E. faecalis* et *E. faecium* [57]

Caractères	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i>
PYRA	+	+
Mannitol	+	+
Sorbitol	+	-
Sorbose	-	-
ADH	+	+
Mobilité	-	-
Pigmentation	-	-
Tellurite*	+	-
Arabinose	-	+
Lactose	+	+
Raffinose	-	-
Ribose	+	+
Saccharose	+	D

* : Croissance en présence de 0,04 % de tellurite.

D : Réponse variable selon les souches.

II.3.4. Caractères antigéniques

Ces bactéries possèdent toutefois des caractéristiques particulières servant à leur identification comme : présence de l'antigène du groupe D de Lancefield [59].

Cette propriété n'est pas spécifique, l'antigène D existant également chez les streptocoques, par exemple *S. gallolyticus* et *S. equinus*. Les entérocoques ont très rarement un antigène du groupe Q qui permet de les distinguer des streptocoques du groupe D [60].

II.3.5. Facteurs de virulence

Les facteurs de virulence sont définis comme des éléments qui augmentent la capacité du microorganisme à provoquer la maladie : ils ne sont pas indispensables à la survie de la bactérie mais diminuent son potentiel pathogène lorsqu'ils sont absents [44].

Beaucoup de facteurs de virulence, comme la protéine de surface de l'entérocoque (ESP), la substance d'agrégation, la formation de la capsule et la gélatinase, sont impliquées dans l'adhérence bactérienne aux cellules hôtes et/ou à la formation de biofilms sur des surfaces abiotiques en milieu hospitalier. La formation de biofilms joue un rôle important dans la pathogenèse des infections à entérocoques et aussi favorise la subsistance de la maladie en raison de la pénétration restreinte des antimicrobiens. L'invasion est habituellement facilitée par les dommages des tissus hôtes et la présence de facteurs de virulence, notamment : hyaluronidase et gélatinase, qui aident à l'avancement et à la survie dans les endroits nouvellement infectés [32].

- La gélatinase**

Elle est une métallo-protéase de zinc extracellulaire qui contribuerait à la virulence par la dégradation de substrats hôtes tels que le collagène, le fibrinogène, la fibrine et les composants du complément C3 et C3a, entre autres [45].

- La cytolysine**

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 [46]. La fréquence de mortalité causée par une infection à entérocoque β hémolytique est cinq fois supérieure à celle observée par une infection à entérocoque non β hémolytique [47].

- **La hyaluronidase**

Les entérocoques peuvent produire une enzyme hydrolytique nommée hyaluronidase, une enzyme qui dégrade l'acide hyaluronique, qui est une composante majeure de la matrice extracellulaire [48]. L'enzyme dépolymérise la fraction mucopolysaccharidique des tissus conjonctifs, facilitant par le fait même la dissémination des entérocoques, ainsi que leurs toxines, à travers les tissus de l'hôte [49].

- **Les adhésines**

Dans un processus infectieux, la première étape de la colonisation tissulaire par les micro-organismes est l'adhérence de l'agent pathogène dans les cellules adjacentes. Les adhésines font partie des substances qui favorisent cette adhérence. Ces substances sont formées de petites molécules peptidiques, composées de sept à huit acides aminés qui favorisent l'adhésion de la cellule bactérienne au tissu hôte. Ils ont été identifiés à une fréquence allant jusqu'à 60% sur des souches de *E. faecalis* isolées à partir de différents foyers. Les différentes substances ayant pour fonction d'aider au processus d'adhésion comprennent les substances d'agrégation et les protéines de surface [50].

- ✓ **Substance d'agrégation (SA)**

C'est une protéine de surface inductible par la phéromone de *E. faecalis*, qui favorise la formation d'agrégats conjugués au cours de la conjugaison bactérienne. La substance d'agrégation permet un contact efficace donneur-receveur entérocoque afin de faciliter le transfert de plasmide. *In vivo*, la substance d'agrégation peut contribuer à la pathogenèse de l'infection à entérocoque par un certain nombre de mécanismes. Les différentes fonctions attribuées à la SA, en plus de favoriser le contact cellule à cellule, sont l'adhésion aux cellules hôtes, notamment l'adhésion aux protéines de la matrice extracellulaire et l'augmentation de l'hydrophobilité à la surface des cellules. Les entérocoques exprimant la SA se sont également avérés résister beaucoup mieux à la phagocytose que la souche isogénique SA négative en inhibant l'éclatement respiratoire (production d'espèces réactives de l'oxygène) dans les macrophages [51].

- ✓ **Protéine de surface**

La ESP codée par le gène *Esp* est une protéine associée à la paroi cellulaire (figure 2). Elle est associée à la colonisation et à la virulence accrue des entérocoques [52].

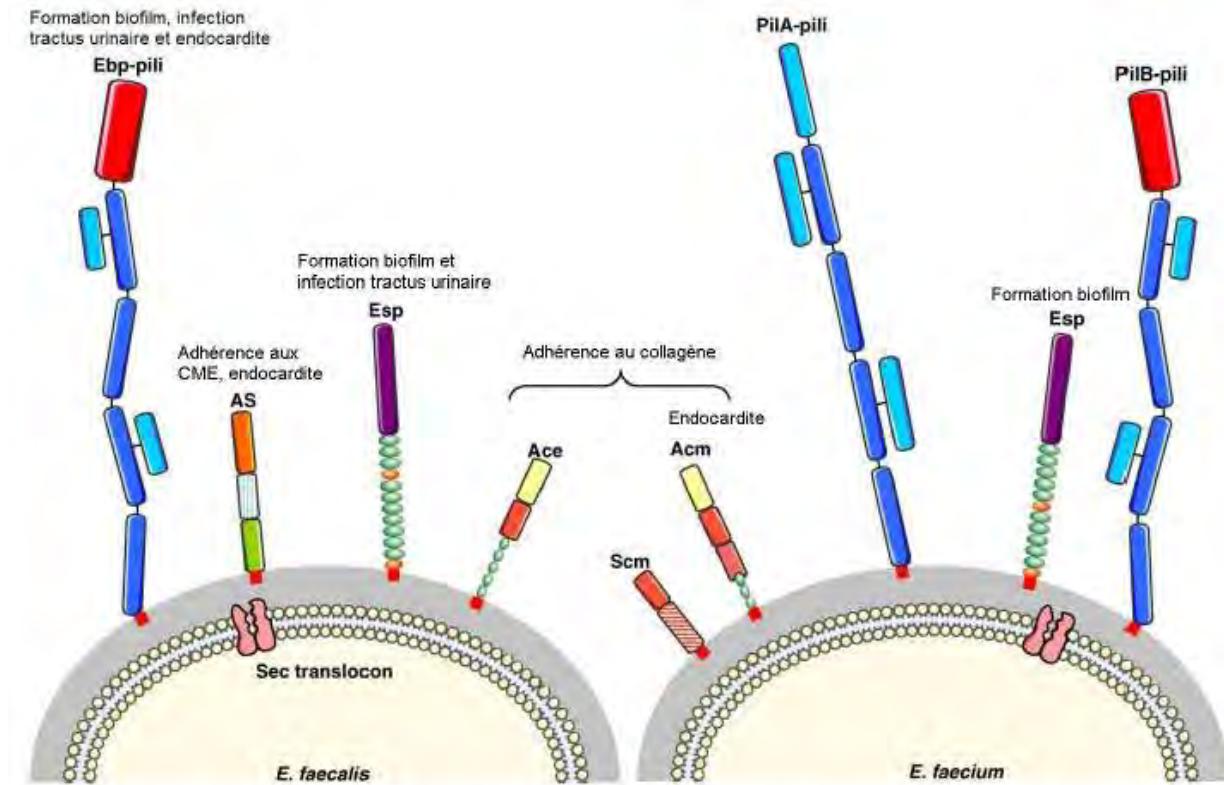


Figure 5: Vue d'ensemble des protéines de surface LPXTG et des pili des entérocoques [53].

Légende : Ebp-pili, pilus associé aux endocardites et à la formation de biofilm chez *E. faecalis*; CME, composantes de la matrice extracellulaire; AS, substance agrégative; Esp, protéine de surface des entérocoques; Ace, adhésine de liaison au collagène de *E. faecalis*; Scm, Seconde adhésine de liaison au collagène de *E. faecium*; Acm, adhésine de liaison au collagène de *E. faecium*; PilA-pili, pilus PilA de *E. faecium*; PilB-pili, pilus PilB de *E. faecium*.

- **L'ilot de pathogénicité**

L'ilot de pathogénicité des entérocoques a été identifié pour la première fois dans le génome de la souche de *E. faecalis* MMH594 multi-résistante, un échantillon clinique ayant provoqué une flambée d'infection nosocomiale dans les années 1980. Les gènes de virulence présents dans cet élément sont entre autres Esp gène, *cyt* opéron, *asc 10* (gène pour la substance d'agrégation), analogue à *gls24* (gène de la protéine inducible par le stress). Tous ces gènes contribuent à l'agrégation bactérienne, à la survie dans l'activité des neutrophiles et à l'adhérence aux tissus hôtes [50].

II.4. Habitat

Les entérocoques (la plupart du temps *E. faecalis* et *E. faecium*) sont des habitants naturels du tractus gastro-intestinal des humains et des animaux, mais on les trouve aussi dans d'autres sites anatomiques, y compris le vagin et la cavité buccale, et dans le sol, l'eau, les plantes et les aliments[32].

II.5. Épidémiologie

Antérieurement considéré comme un microorganisme de faible virulence, l'entérocoque est devenu une des causes les plus fréquentes d'infections nosocomiales aux Etats-Unis depuis 1990 [33].

Les infections à entérocoques en pathologie humaine sont principalement dues à deux espèces, *E.faecalis* et *E.faecium*, qui représentent 95% des isolats cliniques de ce genre bactérien. Actuellement *E. faecium* et *E. faecalis* se classent au deuxième et troisième rang des principaux agents pathogènes nosocomiaux dans le monde [34].

D'autres espèces mineures peuvent causer des infections chez l'homme comme *E. avium*, *E. gallinarum*, *E.casseliflavus*, *E. durans*, *E. hirae* ou *E. raffinosus* [8,35]. Les premières infections à *E. faecalis* ont été décrites simultanément en 1899 par Thiercelin et Mac Callum et Hastings. Aux Etats-Unis, les entérocoques représentent le troisième genre bactérien isolé lors de bactériémies [36] et la seconde cause d'infections associées au cathétérisme (sanguin ou urinaire) et d'infections de la peau et des tissus mous [37].

Les entérocoques représentent globalement 5 à 10% des ITU de l'homme, mais leur fréquence est plus élevée dans certaines circonstances [38].

Tout d'abord, parmi les ITU nosocomiales, la part des entérocoques est plus importante : dans une étude rétrospective française comportant 371 cas de prostatites aigües bactériennes, les entérocoques étaient incriminés dans 16 cas, soit 6%, la moitié d'entre eux étant d'origine nosocomiale. L'entérocoque était donc responsable de 8/295 prostatites communautaires (4%) et 8/76 prostatites nosocomiales (14%), cette différence n'étant cependant pas significative.

Une étude canadienne réalisée dans différents services de soins intensifs (réanimations médicale, chirurgicale et cardiaque) montre que les entérocoques représentent 15% (57/356) des bactériuries, plaçant ce pathogène au 3^{ème} rang après *E. coli* et *Candida albicans* [39,40]. Les auteurs mentionnaient que plus de 90% des patients avaient une sonde urinaire.

La part des entérocoques dans les infections nosocomiales est probablement en hausse. *Kang et al* se sont préoccupés de l'évolution des pathogènes rencontrés dans les infections nosocomiales entre 1980 et 2008 en Caroline du Nord. La fréquence des entérocoques a augmenté de 3,8% globalement (8,1% en 1980-84, 5,8% en 1985-89, 10,7% en 2005-2008), et surtout dans les ITU, la fréquence des entérocoques a augmenté de 5,7% en 28 ans [41].

En 2009, 26 pays ont déclaré la présence d'entérocoques résistants, parmi lesquels trois ont déclaré des taux de résistance supérieure à 25% (Irlande, Luxembourg et Grèce) et cinq ont déclaré des taux de résistance compris entre 10% et 25%, tandis que pour la majorité des pays (18 des 26) des proportions inférieures à 10% de souches résistantes ont été rapportées. D'autres pays ont des taux de résistance de moins de 1% (Bulgarie, Estonie, Finlande, France, Norvège, Roumanie et Suède) ce qui est plutôt rassurant compte tenu des épidémies récentes qu'a connu la France. Au cours de ces quatre dernières années, on note une augmentation en Autriche. En revanche, 4 pays (Grèce 25 à <50%, Allemagne 5 à < 10%, Italie 1 à < 5% et France < 1 %) ont signalé de fortes tendances à la baisse. Considérant les données sur une période de quatre ans, la tendance à la baisse a été la plus importante pour la Grèce et l'Italie [42].

Les données de 2009-2010 du National Health Safety Network aux Etats-Unis ont démontré que 82,6 % des infections nosocomiales attribuées à un *E. faecium* étaient causées par un entérocoque résistant à la vancomycine (ERV) contre 9,5 % des infections causées par *E. faecalis*. Le taux de mortalité associé aux bactériémies primaires à ERV est élevé et a été estimé à 36,6 % [33]. Clairement, la situation épidémiologique de l'entérocoque et particulièrement de l'ERV est changeante aux Etats Unis tant au chapitre de la fréquence globale des infections à entérocoque que de la résistance à la vancomycine. Cette hausse du taux d'incidence des infections à ERV a aussi été observée à travers le réseau des 54 hôpitaux sentinelles du Programme canadien de surveillance des infections nosocomiales (PCSN) qui surveille l'ERV au Canada [43].

II.6. Pouvoir pathogène

Les entérocoques étaient autrefois considérés comme des organismes intestinaux commensaux ayant une importance clinique minime, mais depuis le milieu des années 1970, ils sont devenus des agents pathogènes opportunistes [45].

Les entérocoques sont à l'origine de plusieurs infections dont certaines sont potentiellement mortelles, notamment des infections des voies urinaires, du nouveau-né et des plaies, ainsi que des endocardites et des méningites. Au cours des dernières décennies, ils ont également été reconnus comme des agents pathogènes nosocomiaux notables dans le monde entier, en raison notamment de l'émergence croissante de phénotypes de résistance aux antimicrobiens [54].

Les entérocoques peuvent également être responsables d'infections abdomino-pelviennes, par exemple en cas de perforation digestive (péritonite appendiculaire, diverticulaire, perforation d'origine traumatique), ou d'infections hépatobiliaires (cholécystite, abcès hépatique). Plus rarement encore, les entérocoques sont à l'origine de bactériémies. Les autres sites d'infections à entérocoque sont : infections de pieds de patients diabétiques, de site opératoire survenant là encore généralement sur un terrain particulier, les infections du système nerveux central chez les adultes, généralement avec des antécédents de chirurgie du système nerveux central ou de chimiothérapie intrathécale ; et rarement, ostéomyélite et infections pulmonaires [55].

CHAPITRE III : Méthode d'étude de la sensibilité aux antibiotiques des entérocoques

III.1. Méthode de diffusion en milieu solide

• Antibiogramme standard

Cette technique consiste à ensemencer une gélose MH avec la souche étudiée, puis à déposer des disques de papier buvard imprégnés des antibiotiques à tester. Les antibiotiques vont diffuser de manière radiale et en profondeur à partir de ces disques, induisant un gradient décroissant de concentrations dans la gélose. Il en résulte une zone circulaire de la croissance bactérienne, dont le diamètre est corrélé à la CMI [61].

La CMI est définie comme la plus faible concentration d'un antibiotique donné qui inhibe toute croissance visible d'une souche bactérienne donnée [62].

- ✓ Si la CMI de la molécule pour cette souche est inférieure ou égale à une concentration critique inférieure notée c , la souche est catégorisée sensible « S ».
- ✓ Si la CMI de la molécule est strictement supérieur à une concentration critique supérieure notée C , la souche est catégorisée résistante « R ».
- ✓ Si la CMI est supérieure à c mais inférieure ou égale à C , la souche est classée intermédiaire I [63].

• E-test

La procédure de réalisation est la même qu'avec les disques : après dépôt de l'inoculum bactérien (à l'aide d'un écouvillon plutôt que par inondation), la bandelette est disposée sur la gélose. Après 24h d'incubation à 35°C, la détermination précise de la CMI se fait au niveau du croisement entre la bandelette et l'ellipse d'inhibition. Même si cette technique est plus sensible et plus précise que la méthode classique des disques, elle demeure de lecture difficile pour les non-initiés et d'un coût important.

Lorsque l'on isole une souche d'*Enterococcus* spp dans un examen cytobactériologique des urines par exemple, avec détection d'une résistance par le Vitek2, une détermination des CMI par E-test est systématiquement réalisée [64].

III.2. Méthode de dilution en milieu liquide

La dilution en milieu liquide constitue la méthode de référence pour la détermination de la CMI. Elle consiste à inoculer avec la souche bactérienne une gamme de puits contenant l'antibiotique à tester à des concentrations croissantes. La CMI correspond à la première dilution pour laquelle

aucune croissance bactérienne n'est visible à l'œil nu, après 18 à 24h d'incubation à 37°C [64].

III.3. Méthode de dilution en milieu solide

Le principe est identique à celui utilisé en milieu liquide mais cette fois-ci l'antibiotique est incorporé dans la gélose Mueller-Hinton. Chaque boîte de Pétri correspond à une concentration donnée d'antibiotique. Il est possible de tester ainsi sur plusieurs souches déposées sous forme de spot sur la même série de boîtes avec un inoculum de 10^4 UFC/spot. La CMI correspond alors à la concentration d'antibiotique présente dans la première boîte où la culture bactérienne n'est pas visible [65].

III.4. Antibiogramme automatisée

Ce sont des systèmes automatisés, avec leur étuve intégrée, gérant toutes les étapes de l'identification depuis l'incubation au rendu des résultats. Ils possèdent un système informatique gérant l'automate, assurant la traçabilité des différentes étapes techniques et analytiques et ils possèdent un logiciel permettant la comparaison des résultats avec une base de données intégrée [66].

Les résistances inductibles sont généralement difficiles à détecter. La résistance aux glycopeptides chez les entérocoques en est un très bon exemple. Le type VanA, qui confère un haut niveau de résistance à la vancomycine et à la teicoplanine, devrait être, en principe, aisément détectable phénotypiquement. Cependant, cette résistance est lentement inductible, ce qui explique que ce phénotype ne puisse pas toujours être détecté par les systèmes rapides automatisés. Diverses publications ont rapporté la mise en défaut de ces systèmes. Chen et al. Ont par exemple montré que le système MicroScan Walk-Away (Becton Dickinson) détecte aisément les résistances *vanA* et *vanB*, mais la résistance de type *vanC* nécessite une confirmation par PCR du fait de leur faible niveau de résistance [67].

CHAPITRE IV : Traitement et résistance bactérienne aux antibiotiques

IV.1. Traitement des infections urinaires à entérocoques

La principale difficulté rencontrée dans le traitement des infections à entérocoques provient de leur résistance naturelle ou acquise à un grand nombre d'antibiotiques.

Les recommandations des différentes sociétés savantes sur les infections urinaires ne prennent pas en compte l'entérocoque dans le choix du traitement probabiliste. Ceci est justifié par les données épidémiologiques, notamment la faible fréquence à laquelle on retrouve ce pathogène, et sa moindre virulence. Par exemple, les recommandations françaises de 2008 proposent en traitement probabiliste des pyélonéphrites et prostatites aigües les céphalosporines de 3ème génération ou les fluoroquinolones, c'est-à-dire des molécules ayant une activité nulle ou faible sur l'entérocoque [68].

De même, si la fosfomycine-trométamol et la nitrofurantoïne sont proposées respectivement pour les cystites simples et compliquées, ce choix n'est pas justifié par leur activité sur l'entérocoque, mais plutôt pour leur excellente activité envers *Escherichia coli*, leurs bonnes tolérance (en cas de traitement court pour la nitrofurantoïne) et efficacité clinique, et l'absence de résistance croisée avec d'autres antibiotiques. Après documentation de l'infection, aucune recommandation spécifique pour le traitement des infections urinaires à entérocoque n'est retrouvée dans la majorité des ouvrages de pathologie infectieuse [69,70,71].

Le « Johns Hopkins Hospital Antimicrobial Stewardship Program » 2012 précise simplement que les infections urinaires à entérocoques sont « plus difficiles à traiter » [72].

IV.2. Notion de résistance

La résistance aux antibiotiques, ou antibiorésistance, est définie par une situation dans laquelle une bactérie continue à se développer malgré la présence d'un ou plusieurs antibiotiques (on parle alors de multi résistance) sensée tuer ou arrêter sa propagation [73].

Actuellement, les entérocoques sont considérés comme des réservoirs d'antibiorésistance du fait qu'ils résistent à plusieurs antibiotiques couramment utilisés en clinique, tels que les β-lactamines, les aminosides, les quinolones et même les glycopeptides. Ces dernières sont réservées à l'utilisation hospitalière uniquement dans le cas d'infection sévère à germes gram positif multirésistantes [74].

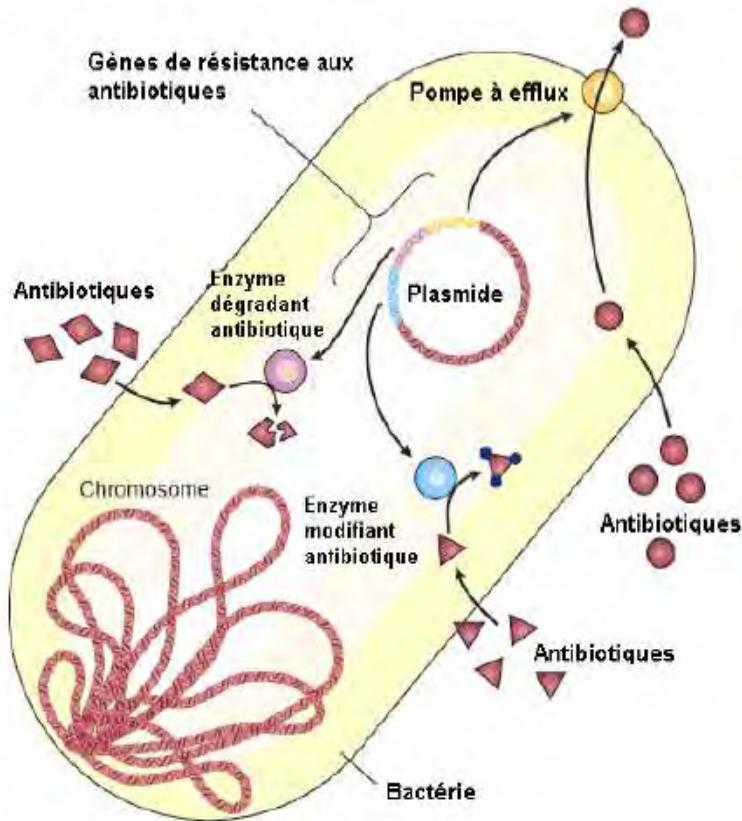


Figure 6 : Mécanismes de résistance de la bactérie [75].

IV.3. Types de résistance des entérocoques

IV.3.1. Résistance naturelle

La résistance naturelle ou intrinsèque est un caractère d'espèce qui touche toutes les bactéries de l'espèce considérée. Elle est stable, transmise à la descendance (elle a pour support génétique le chromosome bactérien) mais elle n'est pas ou peu transmissible sur un mode horizontal (d'une bactérie à l'autre au sein d'une même espèce ou entre espèces différentes) [76].

Les entérocoques sont des bactéries possédant de nombreuses résistances intrinsèques, ces résistances proviennent de leur génome. Ils sont beaucoup moins sensibles aux antibiotiques que les autres cocci à Gram positifs [77, 78].

- **Résistance aux β -lactamines**

Ils présentent une résistance naturelle aux β -lactamines. Le mécanisme de cette résistance est lié à la présence d'une PLP de faible affinité pour la pénicilline [78].

- **Résistance aux aminosides**

Les entérocoques possèdent une résistance naturelle de bas niveau aux aminosides due à une anomalie de transport membranaire de ces antibiotiques [74].

De plus, *E. faecium* produit naturellement une acétyltransférase chromosomique, AAC (6'), qui inactive la kanamycine, la tobramycine, la nétilmicine et plus faiblement l'amikacine. La résistance est alors de haut niveau pour ces antibiotiques et aucune synergie n'est possible [80].

- **Résistance aux glycopeptides**

Chez les entérocoques, la résistance aux glycopeptides peut être naturelle, elle est retrouvée chez les espèces *E. gallinarum*, *E. casseliflavus* et *E. flavesiens*. Ces espèces contiennent un gène *vanC* qui conduit à la synthèse du dipeptide D-ala-D-ser et qui confère une résistance de bas niveau à la vancomycine [80].

Les entérocoques résistants à la vancomycine (ERV) sont considérés comme des bactéries multi résistantes (BMR) [81].

- **Résistance aux macrolides et apparentés**

Presque tous les entérocoques (sauf *E. faecium* et *E. durans*), présentent une résistance naturelle aux lincosamides et au composé A des streptogramines. Ceci implique une résistance à la pristinamycine et à la quinupristine-dalfopristine chez tous les entérocoques sauf *E. faecium* et *E. durans* [82].

- **Résistance aux autres antibiotiques**

Les entérocoques sont naturellement résistants aux monobactams, aux sulfamides et à la fosfomycine (à bas niveau) [80, 83].

IV.3.2. Résistance acquise

Il s'agit d'un caractère qui ne concerne alors que quelques (ou parfois de nombreuses) souches d'une espèce donnée. La résistance acquise est moins stable, mais elle se propage souvent de façon importante dans le monde bactérien. La résistance acquise résulte d'une modification du capital génétique de la bactérie, lui permettant de tolérer une concentration d'antibiotique plus élevée que celle qui inhibe les souches sensibles de la même espèce [76].

Avec l'utilisation abusive et intensive des antibiotiques, les souches se sont adaptées et ont développé de nouvelles résistances. Les entérocoques se sont adaptés, soit par des mutations

spontanées soit par transfert de plasmides ou de transposons provenant d'autres microorganismes [59].

- **Résistance aux β -lactamines**

- ✓ Par production de β -lactamase

Les entérocoques et notamment *E. faecalis* présentent une résistance aux β -lactamines par production de β -lactamases. Cette résistance généralement plasmidique s'associe le plus souvent à un haut niveau de résistance à la gentamicine liée à la présence de l'enzyme bi fonctionnelle AAC-6-APH2.

- ✓ Par hyperproduction de la PLP5

Ce mécanisme de résistance est associé à des CMI de la pénicilline G de 8 à 32 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

- ✓ Par mutation de la PLP5

Ce mécanisme, dû à des mutations survenant près du site actif de la PLP5 chez *E. faecium*, conduit à des CMI de la pénicilline supérieure à 32 $\mu\text{g}/\text{ml}$ chez *E. faecium* par diminution d'affinité de cette PLP pour les β -lactamines [79].

- **Résistance aux aminosides**

La résistance acquise aux aminosides chez les entérocoques est due à 3 mécanismes :

- ✓ altération de la cible ribosomale,
 - ✓ modification du transport de l'antibiotique qui est dus à des mutations chromosomiques,

- ✓ la production enzymatique qui est le mécanisme le plus prédominant [56], ces enzymes sont de 3 types, des phosphotransférases, des nucléotidyltransférases et des acétyltransférases. 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 [80].

- **Résistance aux glycopeptides**

La résistance était due à l'acquisition d'opérons qui a modifié la nature des précurseurs du peptidoglycane, en substituant un D -lactate par le terminal D -alanine dans le pentapeptide UDP-MurNAc. Dans le processus d'établissement de la réticulation peptidique essentielle à la stabilité de la paroi cellulaire, la D- alanine terminale est retirée de la chaîne pour fournir l'énergie nécessaire à la réaction de transpeptidation. La vancomycine se lie à la D- alanine terminale du précurseur de la paroi cellulaire, empêchant l'accès PBP (la vancomycine, en raison de sa grande taille, interfère également quelque peu avec la réaction de transglycosylation adjacente).

Neuf opérons de résistance aux glycopeptides ont été décrits au cours des dernières décennies. Ils se répartissent en deux catégories générales : ceux qui remplacent le terminal D -Ala par un D -lactate (vanA , vanB , vanD et vanM) et ceux qui remplacent le terminal D -Ala par un D -sérine (vanC , vanE , vanG , vanL et vanN)[84].

Le type vanA est l'opéron le plus important caractérisé par des souches présentant des niveaux élevés de résistance à la vancomycine et à la teicoplanine et son principal réservoir est *E. faecium*. L'opéron vanB induit plusieurs niveaux de résistance à la vancomycine mais pas la résistance à la teicoplanine. Le déterminant vanC induit un faible niveau de résistance à la vancomycine et une sensibilité intrinsèque à la teicoplanine. Les opérons vanD, vanE et vanG codent pour une résistance faible à modérée à la vancomycine [85].

- **Résistance aux macrolides et apparentés**

Deux mécanismes sont impliqués dans la résistance de type MLS :

- ✓ Résistance par modification de la cible

Elle est le fait d'une méthylase codée par les gènes *ermA* ou *ermB*. Ces gènes présentent 100 % d'homologie avec les déterminants *erm* impliqués chez *S. aureus* et entraînent des phénotypes de résistance MLS_B constitutif ou inductible.

- ✓ Existence d'un mécanisme d'efflux

Deux déterminants sont impliqués chez les entérocoques :

- le gène *msrC*: il est retrouvé de manière ubiquitaire chez *E.faecium*. Ce gène, chromosomique, code pour une protéine impliquée dans l'efflux de l'érythromycine, de la pristinamycine et de la virginiamycine.
- le gène *mef*: ce gène est retrouvé de façon irrégulière selon l'origine géographique des isolats d'entérocoques [79].

- **Résistance aux quinolones**

L'acquisition d'une résistance élevée aux fluoroquinolones chez les entérocoques résulte principalement de :

- ✓ mutations chromosomiques de cibles primaires de fluoroquinolones, à savoir l'ADN gyrase et la topoisomérase IV [86], se situent généralement dans un domaine localisé des sous-unités GyrA et ParE des enzymes respectives et réduisent la liaison du médicament au complexe enzyme-ADN [87].
- ✓ L'efflux actif (pompe EmeA, par exemple) [86], ces pompes ont des profils de substrat larges qui incluent des quinolones ainsi que d'autres antimicrobiens, des désinfectants et des colorants [87].
- ✓ la protection de la cible (déterminants de type Qnr), ont également été décrits chez les entérocoques [86].

DEUXIEME PARTIE: TRAVAIL EXPERIMENTAL

I. Objectifs

Le but de ce travail était dans un premier temps de :

- Déterminer la prévalence des ITU au service d'urologie (prévalence globale, prévalence chez les femmes, hommes) et en second lieu de
- Déterminer la tranche d'âge la plus touchée par ces infections
- Déterminer les facteurs associés à ces infections
- D'isoler les souches d'entérocoques dans les urines
- Déterminer le profil de résistance des souches isolées pour contribuer à une meilleure prise en charge des infections à entérocoques.

II. Type, période et cadre d'étude

C'est une étude rétrospective réalisée au niveau du laboratoire de bactériologie-virologie (LBV) du Centre National Hospitalier Universitaire (CNHU) Aristide Le Dantec durant la période de janvier 2017 à décembre 2018.

III. Population d'étude

L'étude a portée sur un total de 42 patients de différents âges dont 37 hommes et 5 femmes présentant différents antécédents urologiques.

IV. Matériel et Méthodes

IV.1. Matériel

IV.1.1. Matériel d'isolement et d'identification

- Pots stériles
- Seringues (clampage)
- Compresses stériles
- Antiseptique doux (solution dakin)
- Coton
- Ciseaux
- Bec Bunzen
- Pipette Pasteur
- Huile à immersion

- Anses calibrés stériles
- Pipettes graduées
- Tubes à essai
- Eau physiologique
- Lames et lamelles
- Kit coloration de Gram
- Microscopes optiques
- Etuve
- Portoirs
- Milieux de culture :
 - ✓ CLED (Cystine Lactose Electrolyte Déficient),
 - ✓ MH (Mueller Hinton),
 - ✓ BEA (Bile Esculine Azide),
 - ✓ BHS (Bouillon Hyper Salé)

IV.1.2. Matériel d'étude de la sensibilité aux antibiotiques

- Gélose Mueller Hinton (MH) en boites carrées 120 mm ou boites de 90 mm
- Densitomètre
- Vortex
- Ecouvillons stériles
- Tubes à hémolyses stériles
- Anses de platine
- Eau de javel
- Pince
- Pied à coulisse ou règle graduée
- Eau physiologique stériles (0,9%)
- Pipettes pasteur stérile
- Distributeur de disques d'antibiotiques
- Disques d'antibiotiques (voir tableau II)

Tableau II : Liste des disques d'antibiotiques testés.

Souches d'entérocoques	
Antibiotiques	Charge du disque (μg)
Ampicilline	2
Imipénème	10
Fosfomycine	200
Vancomycine	5
Teicoplanine	30
Rifampicine	5
Chloramphénicol	30
Nitrofurantoïne	100
Gentamycine	30
Tigécycline	15
Erythromycine	15
Norfloxacine	10
Ciprofloxacine	5
Lévofloxacine	5
Linézolide	10
Triméthoprime-sulfaméthoxazole	(1,25-23,75)

IV.2. Méthodes

IV.2.1. Prélèvements

La réalisation du prélèvement a été confiée aux patients conscients et coopératifs. Les patients avaient d'abord procédé au nettoyage du méat urinaire avec du compresse stérile imbibée d'un antiseptique doux (dakin). Ensuite la première partie de la miction a été rejetée, permettant d'éliminer tout ou partie de la flore commensale de l'urètre inférieur, et seul le milieu du jet a été recueilli dans un pot stérile.

Chez les patients porteurs de sonde un clampage du tuyau d'évacuation avait été effectué pour une durée de 10 à 15mn puis les urines prélevées via l'opercule spécifique de la sonde après désinfection à l'alcool iodée.

En fin, les urines ont été rapidement acheminées au laboratoire (en moins de 2h) et conservées à une température adéquate.

IV.2.2. Isolement et identification

Une fois le prélèvement acheminé au laboratoire en premier lieu à l'examen macroscopique a été effectué et consisté à apprécier l'aspect des urines qui peuvent être :

- limpides
- légèrement troubles
- troubles
- Hématique

Ensuite, l'examen microscopique permettant de déterminer la flore et de dénombrer le nombre d'élément par champs c'est-à-dire le nombre de :

- leucocytes,
- cellules épithéliales,
- hématies,
- levures,
- cristaux etc.

Après l'examen macroscopique et microscopique les géloses CLED ont été ensemencées selon la méthode de l'anse calibrée qui consistait à :

- Homogénéiser le prélèvement par agitation
- Avec l'anse calibrée, prélever 10µl d'urines totales et le mettre dans un tube à hémolyse contenant 1ml d'eau distillée stérile.
- Homogénéiser et ensemencer une boîte de milieu CLED, en déchargeant l'œse de 10µl tirer une verticale jusqu'au milieu de la boîte puis remonter légèrement pour décharger entièrement le prélèvement et enfin faire des stries horizontales en partant du point de dépôt.
- Mettre à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24h.

En fin les souches d'entérocoques ont été identifiées sur la base de leur caractères morphologiques (cocci à Gram positif en chainettes), culturaux (précipité noirâtre sur milieu BEA et présence de turbidité dans le milieu BHS) et biochimiques.

IV.2.3. Etude de la sensibilité aux antibiotiques

L'étude de sensibilité a été réalisée par la méthode de diffusion en milieu gélosé, conformément aux recommandations du comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie (CA-SFM 2017) (voir annexes).

V. Résultats

V.1. Population d'étude

Au total 42 patients atteints d'ITU à entérocoques sur 1132 patients provenant du service d'urologie avaient été inclus dans cette étude. La prévalence était donc estimée à 3,8%.

V.1.1. Distribution des souches d'entérocoques chez les patients porteurs de sonde

La figure 7 montre la prévalence des patients porteurs ou non de sonde urinaire atteints d'ITU.

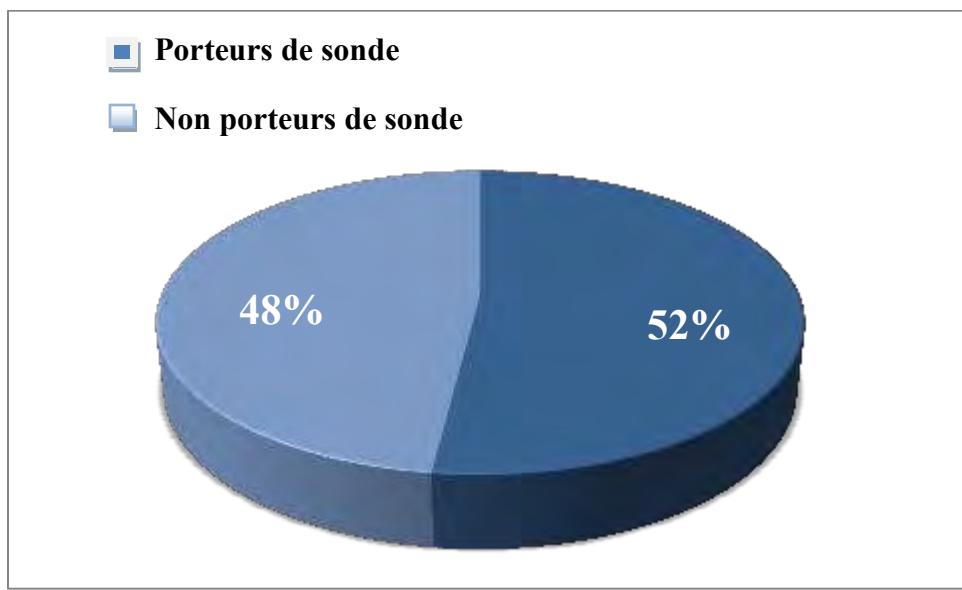


Figure 7 : Prévalence des patients atteints d'ITU porteurs de sonde.

Plus de la moitié des patients atteints d'ITU à entérocoque (22) étaient porteurs de sonde urinaire (52%).

V.1.2. Distribution des souches d'entérocoques chez les patients hospitalisés

La figure 8 est une représentation de la répartition des patients hospitalisés ou non atteints d'ITU à entérocoques.

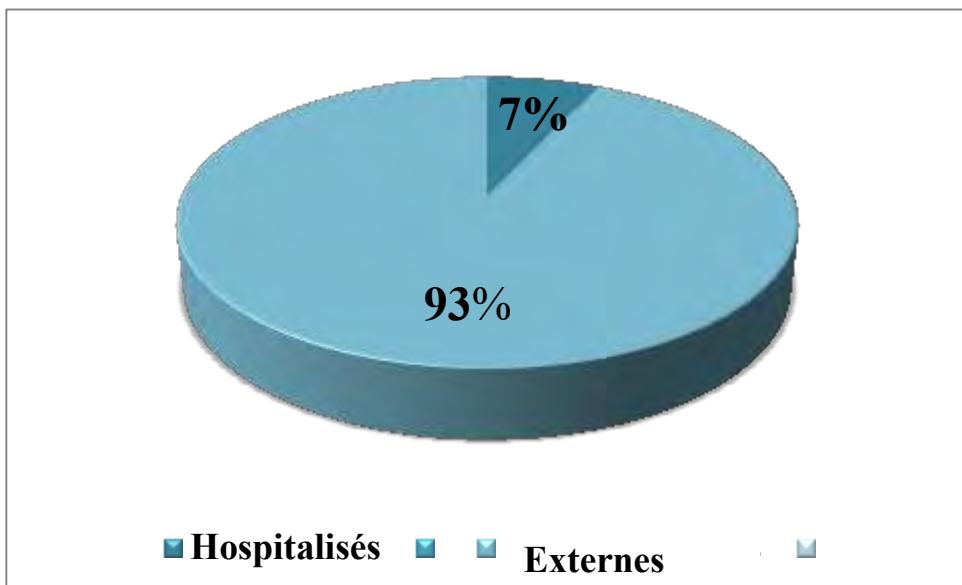


Figure 8 : Prévalence des patients hospitalisés atteints d'ITU.

Un faible taux de patients (7%) atteints d'ITU était hospitalisé (3).

V.1.3. Distribution des ITU à entérocoques en fonction du sexe

La figure 9 est un diagramme représentatif de la répartition des infections à entérocoques en fonction du sexe.

Les ITU à entérocoques étaient plus fréquentes chez les hommes (88%) que chez les femmes (12%) soit un sexe ratio de 7,4 avec un âge moyen de 58,9 ans.

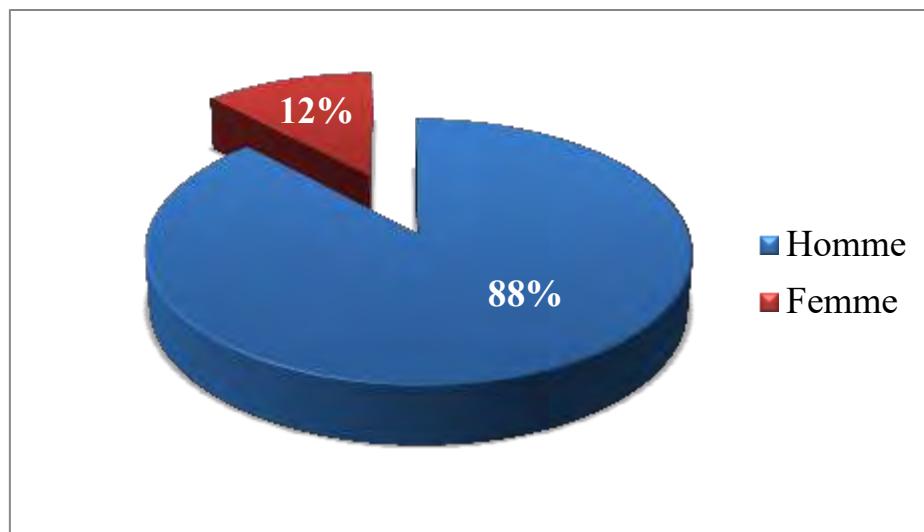


Figure 9 : Répartition des entérocoques en fonction du sexe.

V.1.4. Distribution des ITU à entérocoques en fonction de l'âge

La figure 10 est un diagramme représentatif de la distribution des ITU à entérocoques en fonction de l'âge des patients.

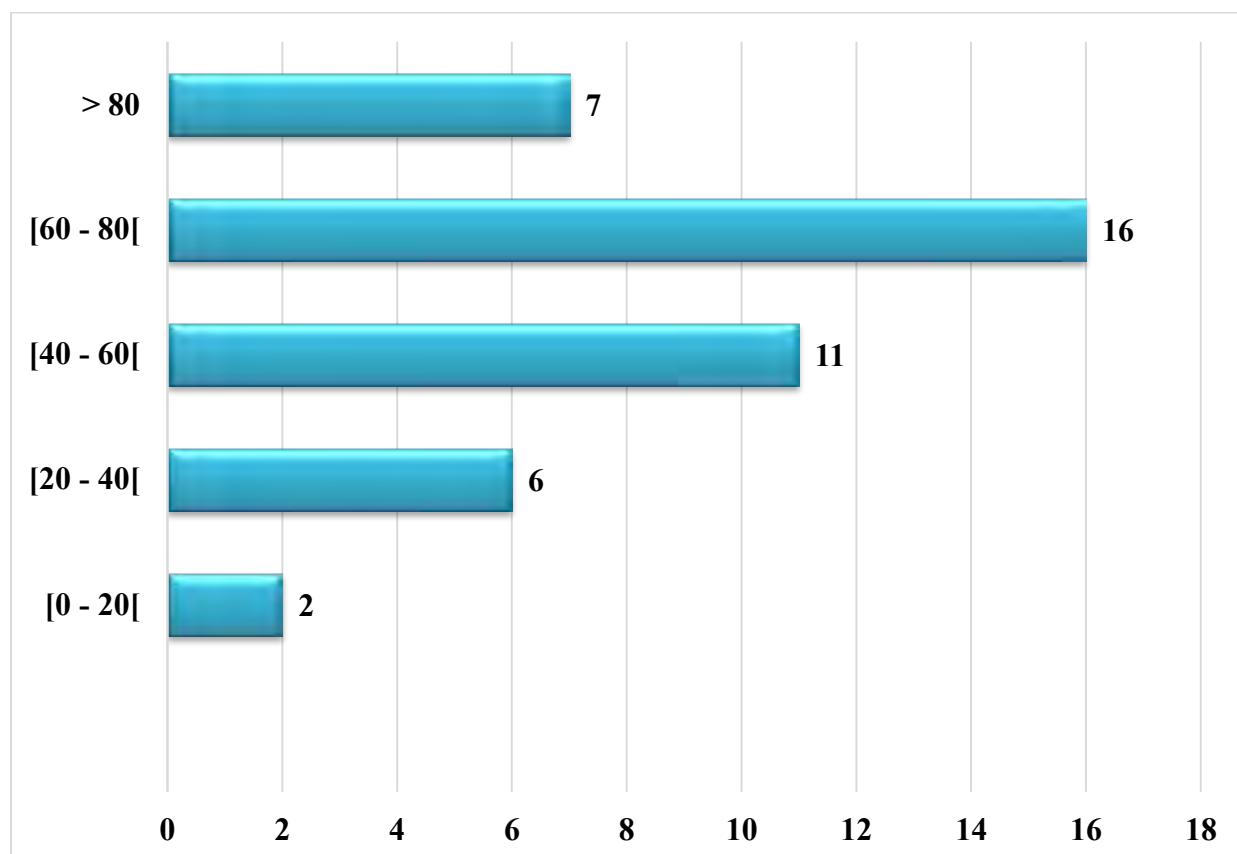


Figure 10 : Répartition des souches d'entérocoques en fonction des différentes tranches d'âges. Selon la tranche d'âge, les ITU à entérocoques étaient plus fréquentes principalement chez les patients âgés de 60 à 80 ans (38%) et de ceux de 40 à 60 ans (26%).

V.2. Profil de résistance des souches d'entérocoques isolées d'ITU

Les résultats de l'antibiogramme sont rapportés dans le tableau IV.

La sensibilité aux antibiotiques varie selon les différentes familles d'antibiotiques.

V.2.1. Sensibilité aux bêta-lactamines

Pour la famille des bêta-lactamines nous avons observé une faible résistance des entérocoques à l'ampicilline (5,4%).

V.2.2. Sensibilité aux glycopeptides

Les glycopeptides représentés essentiellement par la vancomycine et la teicoplanine avaient une bonne activité avec des taux de sensibilité de 97,4% et 83,3% respectivement.

V.2.3. Sensibilité aux macrolides

Les macrolides représentés essentiellement par l'érythromycine avaient une activité moindre de 50% sur les entérocoques.

V.2.4. Sensibilité aux aminosides

La sensibilité des souches d'entérocoques était de l'ordre de 60% vis-à-vis à la gentamicine.

V.2.5. Sensibilité aux fluoroquinolones

La norfloxacine et la ciprofloxacine n'avaient pas montré une bonne activité sur les souches d'entérocoques qui présentaient des taux de résistance de 70,8% et 55%, respectivement. Cependant, la lévofloxacine avait une bonne activité (80%) sur les souches d'entérocoques.

V.2.6. Sensibilité aux autres antibiotiques testés

Les autres antibiotiques tels que la fosfomycine, la rifampicine, la nitrofurantoïne, la tigécycline avaient tous une très bonne activité sur toutes les souches d'entérocoques testées.

Le tableau III représente les différents antibiotiques testés sur les souches d'entérocoques avec leurs différentes valeurs critiques, effectifs, pourcentages, leur taux de résistance et de sensibilité.

Tableau III : Taux de sensibilité aux antibiotiques des entérocoques.

Nom de l'antibiotique	Valeurs critiques	n	%R	%S	%
Ampicilline	8 - 9	37	5,4	94,6	15
Imipénème	18-20	6	0	100	2,42
Fosfomycine	14-15	8	0	100	3,23
Vancomycine	S>=12	39	2,6	97,4	15,8
Teicoplanine	S>=16	6	16,7	83,3	2,42
Gentamicine (Haute)	S >= 8	40	40	60	16,2
Chloramphénicol	16-17	2	50	50	0,8
Tigécycline	S>=18	12	0	100	4,85
Erythromycine	21-22	28	50	50	11,33
Linézolide	S>=19	4	25	75	1,61
Norfloxacine	S>=12	24	70,8	29,2	9,8
Ciprofloxacine	S>=15	20	55	45	8,09
Lévofloxacine	S>=15	5	20	80	2,02
Nitrofurantoïne	13-14	8	0	100	3,2
Rifampicine	18-19	7	0	100	2,83
Triméthoprime/Sulfaméthoxazole	21-49	1	100	0	0,4

R : Résistant ; S : Sensible

VI. Discussion

Ce travail était une étude rétrospective portant sur des patients atteints d'ITU provenant du service d'urologie du Centre National Hospitalier Universitaire Aristide Le Dantec durant la période de Janvier 2017 à Décembre 2018. L'objectif de notre étude était d'étudier le profil de résistance des souches d'entérocoques isolées d'ITU.

Dans notre étude, la prévalence des ITU était estimée à 3,8% et plus de la moitié de la population portait des sondes urinaires (52%). Aussi, 7% de la population était hospitalisée et l'âge moyen était de 58 ans avec un sexe ratio de 7,4. Ces résultats sont contradictoires à ceux obtenus dans une étude réalisée au Maroc en 2014 qui avait montré une prévalence de 16,9%, un sexe ratio estimé à 1, un âge moyen de 51 plus ou moins 18ans et un portage de sonde urinaire dans 10,2% des cas [1].

Une étude antérieure réalisée en 2016 sur la prévalence des ITU à entérocoques à Lahore, au Pakistan avait montré un taux plus élevé chez les patients de sexe féminin (74,53%) [4]. Ces résultats contrastent avec les nôtres pour lesquels le taux de prévalence des ITU à entérocoques était plus important chez les patients de sexe masculin (88%). Cependant, des résultats similaires avaient été retrouvés lors d'une étude réalisée dans le nord de l'Inde en 2016 qui rapportait une prévalence d'ITU à entérocoque de 53,9% pour les hommes et à 46,1% pour les femmes [88].

Notre étude avait montré que le nombre maximal de cas d'ITU à entérocoques était rencontré chez les patients de la catégorie d'âge 60-80 ans avec un taux de 38,9%. D'autres études avaient rapporté des résultats contradictoires telles que l'étude de *Haghi et al, 2019* [89] qui avait retrouvé des taux plus élevés chez les jeunes de moins de 30ans (48%) et l'étude de *Markwart et al, 2019* en Allemagne qui avait rapporté des proportions plus élevées chez les patients de 40 à 59 ans [90].

En ce qui concerne le profil de résistance, les résultats d'antibiogramme indiquaient que le taux de résistance à l'ampicilline était très faible (5,4%) et que celle à la gentamicine était de 40%. Aussi l'imipénème, la rifampicine, la fosfomycine et le nitrofurantoïne étaient actifs sur toutes les souches testées. Une étude menée en Egypte par le département de Microbiologie et Immunologie de la Faculté de médecine de l'université de Mania avait montré une résistance à

l'ampicilline chez toutes les souches d'entérocoques testées (100%), une résistance de l'ordre de 80% à la gentamycine et un taux de résistance de 7,6% pour l'imipénème [91].

Des sensibilités diminuées vis-à-vis des glycopeptides étaient relativement faibles dans notre étude avec des taux estimés à 2,6% pour la vancomycine et 16,7% pour la teicoplanine. Nos résultats étaient contradictoires à ceux obtenus par *Akpaka et al, 2017* qui avaient rapporté une résistance à la vancomycine chez tous les isolats d'entérocoques testés [92].

Aussi une étude réalisée en Iran par *Emaneini et al, 2016* avait révélé un taux de résistance élevé à la vancomycine chez *E. faecalis* (77,5%) et *E. faecium* (22%) [93].

Le taux de résistance à l'érythromycine était de 50%. Une étude réalisée à l'hôpital d'enseignement de Malaisie par *Moussa et al, 2019* avait révélé un résultat contradictoire avec un taux de résistance à l'érythromycine de 96% [94].

La résistance aux fluoroquinolones était relativement élevée dans notre étude avec des taux de résistance de 55%, 70,8% et 20% respectivement pour la ciprofloxacine, la Norfloxacine et la Lévofloxacine. Une étude menée par *Hussain et al, 2016* à Lahore avait aussi montré une résistance élevée aux fluoroquinolones avec des taux de résistance de 86,95% pour la Norfloxacine et 85,09% pour la ciprofloxacine et la lévofloxacine [4].

Les limites de notre étude sont multiples. Les difficultés majeures que nous avions rencontrées étaient liées à l'exploitation des dossiers. Les données ont été recueillies rétrospectivement, ce qui implique un biais d'information liées aux données partielles, incomplètes, récupérées dans les dossiers des patients. Il se peut que des données n'y aient pas été enregistrées. Enfin, notre travail a été fait dans un seul hôpital, les résultats ne peuvent donc pas être généralisés.

CONCLUSION

L'infection du tractus urinaire est l'infection nosocomiale la plus fréquente. Les dernières années ont été marquées par un intérêt croissant pour les entérocoques, non seulement en raison de leur capacité à causer des infections graves mais également en raison de leur résistance croissante à de nombreux antibiotiques. En effet, notre étude nous a permis de faire un état des lieux des ITU à entérocoques au niveau du laboratoire-virologie du centre national hospitalier Aristide Le Dantec pour prévenir l'émergence des entérocoques résistants aux antibiotiques.

Cet objectif trouve tout son intérêt et son importance dans le fait que le traitement de référence d'infections sévères à entérocoques reposait jusqu'à présent sur une association synergique bactéricide entre un agent actif sur la paroi (vancomycine ou bêta-lactamine) et un aminoside et que par conséquent des souches d'entérocoques ayant résistées à l'un ou à l'ensemble des antibiotiques précités peuvent causer de multiples infections sévères communautaires et nosocomiales dont le traitement est très difficile voir problématique.

Cette étude a révélé un niveau de résistance élevé des entérocoques uropathogènes aux antibiotiques qui pourrait s'expliquer par le niveau d'hygiène précaire, l'utilisation irrationnelle et abusive des antibiotiques dans les hôpitaux. Cependant, une faible prévalence de souches d'entérocoques à sensibilité diminuée à la vancomycine a été observée dans notre établissement de santé. Ce faible taux de résistance à la vancomycine ne doit nullement exclure des mesures préventives du fait que des souches ERV résistantes à tous les antibiotiques ont été décrites déjà dans d'autres pays.

Ainsi, des mesures urgentes doivent être prises pour une meilleure prise en charge thérapeutique des patients. Ces mesures comprennent :

- Des campagnes d'informations auprès des patients et de la population.
- Une Surveillance de l'émergence des souches d'entérocoques multi-résistantes dans le but de limiter leur diffusion.
- Une amélioration des conditions d'hygiènes individuelles, collectives et environnementales.
- Un lavage des mains, une hygiène alimentaire, corporelle et vestimentaire qui permet au niveau individuel de se protéger contre les infections.

- Un usage raisonné des antibiotiques dans le traitement des ITU à entérocoques, en particulier des glycopeptides.
- Une prise d'antibiotiques ayant montré une bonne activité tels que l'ampicilline, la nitrofurantoïne, la fosfomycine, l'imipénème, la tigécycline....

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Lazrak MA, Bardai GE, Jaafour S, Kabbali N, Arrayhani M, Houssaini TS.** Profil de l'infection urinaire nosocomiale dans un service de néphrologie. Pan Afr Med J.2014; 19:59.
2. **Barton A.** Patient Safety and Quality: An Evidence-Based Handbook for Nurses. AORN J.2009; 90(4):601-609.
3. **Linhares I, Raposo T, Rodrigues A, Almeida A.** Frequency and antimicrobial resistance patterns of bacteria implicated in community urinary tract infections: a ten-year surveillance study (2000–2009). BMC InfectDis.2013; 13:19.
4. **Hussain A, Sohail M, Abbas Z.** Prevalence of *Enterococcus faecalis* mediated UTI and its current antimicrobial susceptibility pattern in Lahore, Pakistan. J Pak Med Assoc. 2016; 66 (10): 1232-1236.
5. **Lu PL, Liu YC, Toh HS, Lee YL, Liu YM, Ho CM.** Epidemiology and antimicrobial susceptibility profiles of Gram-negative bacteria causing urinary tract infections in the Asia-Pacific region: 2009-2010 results from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART). Int J AntimicrobAgents.2012; 40Suppl 37:S1–S7.
6. **Soheili S, Ghafourian S, Sekawi Z, Neela V, Sadeghifard N, Ramli R.** Wide Distribution of Virulence Genes among *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* Clinical Isolates. Sci. World J. 2014; 1-6.
7. **Gordon S, Swenson JM, Hill BC, Pigott NE, Facklam RR, Cooksey RC, et coll.** Antimicrobial Susceptibility Patterns of Common and Unusual Species of Enterococci Causing Infections in the United States. J Clin Microbiol.1992; 30(9):2373-2378.
8. **Kumar S, Ankur D, Wolf B, Lerma EV.** Urinary tract infections. Dis a Month. 2015; 61(2):45-59.
9. **Bonacorsi S.** Examen cytobactériologique des urines (ECBU). In : Denis F, dir. Bactériologie médicale Techniques usuelles. Paris: Elsevier Masson SAS.2011. p.179-186.
10. Conférence de Consensus co-organisée par la SPILF et l'AFU. Infections urinaires nosocomiales de l'adulte. nov 2002. p.6
11. <https://www.viehealthy.com/incontinence-fuite-urinaire>
12. **Querin S, Valiquette L.** Physiopathologie des maladies du rein et des voies urinaires. Paris : Maloine ; 2000.
13. **Champetier D.** Infections de l'appareil urinaire. Impact Internat Janvier.1998;(18):139-141

- 14. Chartier E.** Urologie. 4^{ème} édition. Paris : Estem ; 2002.
- 15. Anglaret X, Mortier E.** Maladies infectieuses.3ème édition. Paris : Estem ; 2003.
- 16. Djennane F, Marzouk M, Ben Moussa F, Boukadida J.** Examen Cytobactériologique des Urines, Institut Pasteur d'Algérie Techniques Microbiologique.2009. p. 11-12.
- 17. Goh HMS, Yong MHA, Chong KKL, Kline KA.** Model systems for the study of Enterococcal colonization and infection.Ntu.edu.sg.2017; 8(8):1525–1562.
- 18. Gonthier R.** Infection urinaire du sujet âgé. Rev Geriatr. 2000 ; 25 (2) : 95-103.
- 19. Tostain JA, F Blanc, Castro R, Li G.** Cystite aigue et autres maladies inflammatoires bénignes de la vessie féminine. Paris : Elsevier Masson SAS ; 2000.
- 20. Dinh A, Baumann R, Daou S, Salomon J, Bruyère F, Bernard L.** (Règles de prescriptions des antibiotiques à visée urologique chez la femme enceinte. Progrès En Urologie – FMC.2009; 19 (4) :118-122.
- 21. Vaubourdolle M.** Infectiologie.3ème édition. Rueil-Malmaison .2007.
- 22. Stamm WE, Hooton TM.** Management of urinary tract infection in adults. N Engl J Med.1993; 329(18): 1328-1334.
- 23. Bent S, Nallamothu BK, Simel DL, Fihn SD, Saint S.** Does this woman have an acute uncomplicated urinary tract infection? J. AMA. 2002; 287(20):2701–2710.
- 24. Strohmeier Y, Hodson EM, Willis NS, Webster AC, Craig JC.** Antibiotics for acute pyelonephritis in children.Cochrane Database Syst Rev. 2014 Juil 28; CD003772.
- 25. Pangon B, Chaplain C.** Pyélonéphrite aiguë : bactériologie et évolution des résistances. Pathol Biol. 2003; 51(8-9):503-507.
- 26. Hodson EM, Willis NS, Craig JC.** Antibiotics for acute pyelonephritis in children. Cochrane Database Syst Rev. 2007oct 17;CD003772.
- 27. Bruyère F, Cariou G, Boiteux JP, Hoznek A, Mignard JP, Escaravage L, et coll.** Les infections urinaires. Progrès en Urologie. Paris: Masson; 2008.
- 28. Drekonja DM, Rector TS, Cutting A, Johnson JR.** Urinary Tract Infection in Male Veterans: Treatment Patterns and Outcomes. JAMA Intern Med. 2013; 173(1):62-68.
- 29. Cetinkaya Y, Falk P, Mayhall CG.** Vancomycin-Resistant Enterococci. Clin Microbiol Rev.2000; 13(4) 686–707.

- 30. Monstein HJ, Quednau M, Samuelsson A, Ahrne S, Isaksson B, Jonasson J.** Division of the genus *Enterococcus* into species groups using PCR-based molecular typing methods. Great Britain.1998; 144(5):1171–1179.
- 31. Fiore E, Van Tyne D, Gilmore MS.** Pathogenicity of *Enterococci*. *Microbiol Spectr*.2019; 7(4): 1-23.
- 32. Strateva T, Atanasova D, Savov E, Petrova G, MitovI.** Incidence of virulence determinants in clinical. *braz j infect dis*. 2016;20(2):127–133.
- 33. Centers for Disease Control and Prevention (CDC).** Nosocomial enterococci resistant to vancomycin - United States, 1989-1993. *MMWR* 1993; 42(30); 597-599.
- 34. Bender JK, Cattoir V, Hegstad K, Sadowy E, Coque TM, Westh H, et coll.** Update on prevalence and mechanisms of resistance tolinezolid, tigecycline and daptomycin in enterococci in Europe: Towards a common nomenclature. *Drug Resist Updat*.2018; 40: 25–39.
- 35. Jolivet S, Guyonca MF, Nebbade B, Merlef JC, Pluarta DL, Buissona CB, et coll.** First nosocomial outbreak of vanA-type vancomycin-resistant *Enterococcus raffinosus* in France. 2016; 94(4): 346-350.
- 36. Vincent JL, Rello J, Marshall J, Silva E, Anzueto A, Martin CD, et coll.** International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *JAMA*.2009; 302(21):2323–2329.
- 37. Arias CA, Murray BE. 2012.** The rise of the *Enterococcus*: beyond vancomycin resistance. *Nat Rev Microbiol*10(4):266–278.
- 38. Lipsky BA, Byren I, Hoey CT.** Treatment of Bacterial Prostatitis. *Clin Infect Dis*. 2010; 50(12): 1641–1652.
- 39. Etienne M, Chavanet P, Sibert L, Michel F, Levesque H, Lorcerie B, et al.** Acute bacterial prostatitis: heterogeneity in diagnostic criteria and management. Retrospective multicentric analysis of 371 patients diagnosed with acute prostatitis.2008; 8(12): 1-6.
- 40. Laupland KB, Bagshaw SM, Gregson DB, Kirkpatrick AW, Ross T, Church DL.** Intensive care unit-acquired urinary tract infections in a regional critical care system.2005; 9(2): 1-6.
- 41. Kang J.** Relative frequency of health care-associated pathogens by infection site at a university hospital from 1980 to 2008. *Amer J Infect Control*. 2012; 40 (5): 416-20.

- 42. Dekeyser S, Beclin E, Nguyen S, Dufossez F, Descamps D.** Outbreak of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* (Van B) at the Bethune Hospital (France). Two point-prevalence surveys: May 2008 and January 2009. *Pathol Biol (Paris)*. 2010; 58(2):e21-5.
- 43.** Infections aux entérocoques résistants à la vancomycine dans les hôpitaux canadiens de soins de courte durée – rapport de surveillance du 1er janvier 1999 au 31 décembre 2011. http://publications.gc.ca/collections/collection_2013/aspc-phac/HP40-85-2013-fra.pdf
- 44. Casadevall A, Pirofski L.** Host-pathogen interactions: the attributes of virulence. *J. Infect Dis.* 2001; 184(3):337-344.
- 45. Madsen KT, Skov MN, Gill S, Kemp M.** Virulence Factors Associated with *Enterococcus faecalis* Infective Endocarditis: A Mini Review. *Open Microbiol. J.* 2011; 11(1):1–11
- 46. Galvez AA, Dauphin RD, Destain J, Campos D, Thonart P.** Les entérocoques : avantages et inconvénients en biotechnologie (synthèse bibliographique). *Biotechnol Agron Soc Environ.* 2012 ; 16(1) : 67-76.
- 47. Ubeda C, Taur Y, Jenq RR, Equinda MJ, Son T, Samstein M, et coll.** Vancomycin-resistant *Enterococcus* domination of intestinal microbiota is enabled by antibiotic treatment in mice and precedes bloodstream invasion in humans. *J Clin Invest.* 2010; 120(12): 4332–4341.
- 48. Jett BD, Jensen HG, Nordquist RE, Gilmore MS.** Contribution of the pAD1-encoded cytolysin to the severity of experimental *Enterococcus faecalis* endophthalmitis. *Infect Immun.* 1992; 60(6):2445–2452
- 49. Rice LB, Carias L, Rudin S, Vael C, Goossens H, Konstabel C.** A Potential Virulence Gene, *hylEfm*, *Predominates* in *Enterococcus faecium* of Clinical Origin. *J Infect Dis.* 2003; 187(3):508-512
- 50. Araújo TF, Ferreira CL de LF.** The genus *Enterococcus* as probiotic: safety concerns. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 2013; 56(3):457-466.
- 51. Upadhyaya PMG, Ravikumar K, Umapathy B.** Review of virulence factors of enterococcus: An emerging nosocomial pathogen. *Indian J. Med. Microbiol.* 2009; 27(4): 301-5.
- 52. Mete E, Kaleli İ, Cevahir N, Demir M, Akkaya Y, Satılmış ÖK.** Enterokok Türlerinin Virulans Faktörlerin in Araştırılması. *Mikrobiyol Bul.* 2017; 51(2): 101-114.
- 53. Hendrickx AP, Willems RJL, Bonten JM, Schaik WV.** LPxTG surface proteins of *enterococci*. *Trends Microbiol.* 2009; 17(9): 423-430.

- 54. Komiya EY, Lepesqueur LSS, Yassuda CG, Samaranayake LP, Parahitiyawa NB, Balducci I, et al.** Enterococcus Species in the Oral Cavity: Prevalence, Virulence Factors and Antimicrobial Susceptibility. *J Pone*. 2016; 11(9): 1-11.
- 55. Moellering RC.** Emergence of *Enterococcus* as a Significant Pathogen. *Clin Infect Dis*. 1992; 14(6):1173–1178.
- 56. Murray BE.** The life and times of the Enterococcus. *Clin Microbiol*. 1990; 3(1): 46-65.
- 57. Garnier F, Denis F.** Cocc à Gram positif. In : Denis F, dir. Bactériologie médicale Techniques usuelles. Paris : Elsevier Masson SAS ; 2007. P279-320.
- 58. Benagli C, Rossi V, Dolina M, Tonolla M, Petrini O.** Matrix-assisted laser desorptionionization-time of flight mass spectrometry for the identification of clinically relevant bacteria. *PloS One*. 2011; 6 (1): e16424.
- 59. Donskey CJ, Chowdhry TK, Hecker MT, Hoyen CK, Hanrahan, Hujer AM.** Effect of antibiotic therapy on the density of vancomycin resistant enterococci in the stool of colonized patients. *N Engl J Med*. 2000; 343(26): 1925-1932.
- 60. Bouvet A, Couvry G.** Identification des entérocoques en microbiologie clinique. *Med Mal Infect*. 1994; 24: 132-140.
- 61. Weber M.** L'antibiogramme en pratique. In : Freney J, Tulkens f, Leclerq R, Riegel P. Précis de bactériologie Clinique. 2ème édition. Editions Eska. 2007.
- 62. Kahlmeter G, Tumidge J.** Techniques phénotypiques. In : Courvalin P. Leclerq R. Antibiogramme, 3^{ème} édition. Editions Eska 2012.
- 63. Jehl F, Chabaud A.** L'antibiogramme : diamètre ou CMI ? *Journal des anti-infectieux*. 2015 ; 17 : 125-139.
- 64. Grabsch EA, Chua K, Xie S, Byrne J, Ballard SA, Ward PB, et al.** *VanB2 Enterococcus faecium* with vancomycin susceptible phenotype-improved detection by E test using Oxgall supplementation. *J Clin Microbiol*. 2008 ; 46 : (6) :1961-1964.
- 65. Denis F, Ploy MC, Martin C, Cattoir V, Quentin R, et coll.** Bactériologie médicale Techniques usuelles.3^{ème} édition. Paris : Elsevier Masson SAS.2016.
- 66. Riegel P, de Briel D, Dauwalder O.** Automatisation de l'identification bactérienne. *Revue Francophone des Laboratoires*. *Med Mal Infect* ; 2016 ; 2016(482) : 39-47. : 255s-265s.

- 67. Chen Y, Marshall SA, Winokur PL, Coffman SL, Wilke WW et col.** Use of molecular and reference susceptibility testing methods in a multicenter evaluation of MicroScan dried overnight gram-positive MIC panels for detection of vancomycin resistant and high-level aminoglycoside resistances in enterococci. *J Clin Microbiol.* 1998; (36):2996-3001.
- 68. AFSSAPS.** Practice recommendations for diagnosis and antibiotic therapy of adult community urinary tract infections. *Medecine et maladies infectieuses.* 2008; 38(3):S203-252.
- 69. Grabe M, Bjerklund-Johansen TE, Botto H, Wullt B, Cek M et coll.** Guidelines on Urological Infections. In.: European Association of Urolgy; 2011.
- 70. Gilbert DN, Moellering RC, Eliopoulos GM, Chambers HF, Saag MS.** The Sanford Guide to antimicrobial therapy. 42 ème édition. Amazon; 2012.
- 71. Mandell GL, Bennett JE, Dolin RM,** Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases. 7ème édition. Churchill linvingstone; 2009.
- 72. Johns Hopkins.** Antibiotic guidelines: Treatment recommendations for adult inpatients 2012. p159.
- 73. Berthuin J, Miras M.** La résistance aux antibiotiques: Un enjeu de santé publique et économique. Bpifrance. 2018.27p.
- 74. Murray BE.** Bêta-lactamase-producing enterococci. *Antimicrob Agents Chemother.* 1992; 36(11):2355–2359.
- 75. Stuart BL, Marshall B.** Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. Nature publishing group.2004; 10:12.
- 76. Lozniewski A, Rabaud C.** Résistance Bactérienne Aux Antibiotiques. Fiches conseils pour la prévention du risque infectieux – Infections associées aux soins CCLIN Sud Est Nancy. Juillet 2010.
- 77. Navarro F, Courvalin P.** Analysis of genes encoding D-alanine-D-alanine Ligase-related enzymes in *Enterococcus casseliflavus* and *Enterococcus faecalis*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1994 ;38(8) :1788-1793.
- 78. Leclercq R, Dutka MS, Duval J, Courvalin P.** Vancomycin resistance Gene vanC is specific to *Enterococcus gallinarum*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1992 ;36(9) : 2005-2008.

- 79. Quincampoix JC, Mainardi JL.** Mécanismes de résistance des cocci à Gram positif. Elsevier Masson SAS. 2001 ; 10 : 267-75.
- 80. Dutka-Malen S, Courvalin P.** Résistance aux glycopeptides et aux aminosides chez les entérocoques. Méd. Ma Inf.1994 ; 138(24): 158 –164.
- 81. Robert J.** Conduite à tenir devant un malade porteur d'un entérocoque résistant à la vancomycine. Elsevier Masson SAS. 2007;16(3):259-262.
- 82. Freney J, Renaud F, Hansen W, Ballet C.** Manuel de bactériologie clinique. 2ème édition. Paris : Elsevier Masson SAS.1994.
- 83. Fromage AC.** Annales du Contrôle National de Qualité des Analyses de Biologie Médicale, Edition des compte-rendu individuels. Afssaps - 143/147, Bd Anatole France – F-93285 Saint-Denis cedex. 2008.17p.
- 84. Solache MG, Rice LB.** The Enterococcus: a Model of Adaptability to Its Environment. Clin Microbiol Reviews. 2019; 32(2): e00058-18.a
- 85. Ben Braïek O, Smaoui S.** Enterococci: Between Emerging Pathogens and Potential Probiotics. BioMed Res Int. 2019; 2019: 1-13.
- 86. De Lastours V, Maugy E, Mathy V, et al.** Ecological impact of ciprofloxacin on commensal enterococci in healthy volunteers. J Antimicrob Chemother.2017; 72(6): 1574–1580.
- 87. Hooper DC, Jacoby GA.** Mechanisms of drug resistance: quinolone resistance: Mechanisms of quinolone resistance. Ann N Y Acad Sci. 2015; 1354(1):12–31.
- .
- 88. Goel V, Kumar D, Kumar R, Mathur P, Singh S.** Community Acquired Enterococcal Urinary Tract Infections and Antibiotic Resistance Profile in North India. J Lab Physicians.2016; 8(1): 50-54.
- 89. Haghī F, Lohrasbi V, Zeighami H.** High incidence of virulence determinants, aminoglycoside and vancomycin resistance in enterococci isolated from hospitalized patients in Northwest Iran. BMC Infect Dis. 2019; 19(744): 2-10.
- 90. Markwart R, Willrich N, Haller S, Noll I, Koppe U, Werner G, et coll.** The rise in vancomycin-resistant Enterococcus faecium in Germany: data from the German Antimicrobial Resistance Surveillance (ARS).BMC Infect Dis.2019; 8(1):2-11.

- 91. Esmail MAM, Abdulghany HM, Khairy RM.** Prevalence of Multidrug-Resistant *Enterococcus faecalis* in Hospital-Acquired Surgical Wound Infections and Bacteremia: Concomitant Analysis of Antimicrobial Resistance Genes. *Infect Dis Res Treat.* 2019; 12:1–6.
- 92. Akpaka PE, Kissoon S, Wilson C, Jayaratne P, Smith A, Golding GR.** Molecular characterization of vancomycin resistant *Enterococcus faecium* isolates from Bermuda. *J pone.* 2017; 12(3): 1-9.
- 93. Emaneini M, Hosseinkhani F, Jabalameli F, Nasiri MJ, Dadashi M et coll.** Prevalence of vancomycin-resistant *Enterococcus* in Iran: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2016; 35(9):1387-1392.
- 94. Moussa AA, Nordin AF Md, Hamat RA, Jasni AS.** High Level Aminoglycoside Resistance and Distribution of the Resistance Genes in *Enterococcus faecalis* And *Enterococcus faecium* From Teaching Hospital in Malaysia. *Infect Drug Resist.* 2019; 12(6):3269–3274.

ANNEXE

Réalisation de l'antibiogramme selon les recommandations du CA-SFM

- Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture jeune de 18 à 24h, préparer une suspension de 1 à 2 colonies dans 3ml de solution saline puis l'homogénéiser en l'agitant à l'aide d'un vortex.

Fixer l'inoculum bactérien à 0,5McF à l'aide d'un densitomètre.

- Ensemencement et dépôt des disques

Ensemencer des boites MH de 90cm en plongeant un écouvillon à coton dans la suspension bactérienne et éliminer l'excès de liquide en tournant l'écouvillon sur les parois du tube.

Ecouvillonner sur la totalité de la surface de la gélose dans les trois directions.

Appliquer les disques d'antibiotiques correspondants dans un délai de 15mn fermement à la surface de la gélose inoculée ou séchée à l'aide de distributeurs ou à la pince en appuyant légèrement.

Incubation à l'étuve à 37°C pendant 24h.

- Lecture et interprétation

Après 24h d'incubation on fait la lecture des Diamètres d'inhibitions.

Les diamètres d'inhibition autour des disques sont mesurés à l'aide d'un pied à coulisse ; puis ils sont comparés aux diamètres critiques rassemblés dans les abaques de lecture conformément aux normes CA-SFM.

Il convient de noter toutefois, qu'une souche dont la sensibilité aux antibiotiques est ainsi évaluée peut être déclarée " sensible, intermédiaire ou résistante" après consultation des abaques de lecture.

Souches sensibles : Les souches catégorisées **S** sont celles pour lesquelles la probabilité de succès thérapeutique est forte dans le cas d'un traitement par voie générale ou orale.

Souches résistantes : Les souches catégorisées **R** sont celles pour lesquelles il existe une forte probabilité d'échec thérapeutique quels que soit le type de traitement et la dose d'antibiotique utilisée.

La catégorie intermédiaire : La probabilité de succès thérapeutique est forte uniquement dans le cas d'un traitement par voie systémique avec posologie forte ou lorsque l'antibiotique se concentre au site de l'infection.

RESUME

Bien que les entérocoques soient considérés comme des bactéries opportunistes faisant partie de la flore intestinale de l'homme, ces derniers peuvent profiter de certains facteurs et devenir pathogènes causant des infections difficiles à éradiquer telles que les infections du tractus urinaire (ITU). L'objectif de ce travail était de faire un état des lieux des infections à entérocoques au niveau du service d'urologie du CHNU Aristide Le Dantec afin de prévenir l'émergence des entérocoques multi-résistants.

Il s'agit d'une étude rétrospective allant de Janvier 2017 à Décembre 2018, portant sur des patients souffrant d'ITU. L'isolement des bactéries a été effectué à partir de prélèvements d'urines reçus au laboratoire de bactériologie. L'identification des souches a été réalisée par des tests de diagnostic standard. L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a été réalisée par la méthode de l'antibiogramme standard selon les recommandations du CA-SFM.

Un total de 42 souches d'entérocoques ont été isolées dont 37 chez les patients de sexe masculin et 5 chez le sexe féminin. L'âge moyen des patients était de 58 ans. La majorité des patients étaient porteurs de sonde urinaire (52%) et 7% seulement étaient hospitalisés. L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a montré un faible taux de résistance à l'ampicilline (5,4%) et une sensibilité diminuée vis-à-vis de la vancomycine de l'ordre de 2,6%. Cependant des proportions assez élevées de résistance aux fluoroquinolones ont été observées (70,8% et 55% respectivement pour la norfloxacine et la ciprofloxacine). Des résistances à l'érythromycine et à la gentamycine ont été également notées avec des prévalences respectives de 50% et 40%.

Cette étude a montré une faible prévalence des ITU à entérocoques. Cependant l'émergence des souches multi-résistantes aux antibiotiques nécessite une surveillance plus accrue.

Mots clés : Entérocoques, vancomycine, infection urinaire.