



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Microbiologie

قسم : ميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des Microorganismes

Intitulé :

Profil de résistance des bactéries associées à l'infection du pied diabétique au niveau de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine (HMRUC)

Présenté et soutenu par : *MEZHOUD Raounek*

Le : 25/06/2018

KHALFALLAH Narimene

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mr GUIT W. (Maître assistant – HMRU Constantine).

Rapporteur : Mme SEKHRI-ARAF A. (Maître de conférence A - UFM Constantine).

Examineurs : Mme CHENTLI A. (Maitre de conférence B - UFM Constantine).

*Année universitaire
2017 - 2018*

Remerciements

Nous tenons d'abord à remercier Dieu le tout puissant qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modest travail.

En second lieu, nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à Mme Sekhri Arafa Nedjaua qui est pour nous un encadreur attentif et disponible. Sa compétence distinctive, sa rigueur scientifique, pour son assistance matérielle que morale, pour son aide et son soutien.

Nous exprimons tous nos remerciements à l'ensemble de notre jury

Dr Guit Walid pour L'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le jury également nous tenons remercier chaleureusement pour son accueil, son aide et sa gentillesse tout le long du stage.

A Mme Chentli Amira trouve aussi l'expression de nos vifs remerciements pour voir bien voulu juger ce travail.

Nous adressons également tout notre gratitude à toutes les personnes qui nous ont aidé de près ou de loin dans la réalisation de ce travail, ainsi que le personnels de l'unité de l'hôpital militaire régional universitaire de Constantine et en particulier Dr Khmissi, Dr Meziani, Mr Toufik, Mm Boulachfar, pour nous avoir permis de travailler dans de bonnes conditions.

Dédicace

Du profond de mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers

A mes chers parents Zohra et Abd Eldjalil

Aucune dédicace ne serait exprimer mon respect, la profonde gratitude et l'immense amour pour vous, ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance j'espère que votre bénédiction m'accompagnera toujours.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrable sacrifices, puisse dieu vous accorder santé bonheur et longue vie.

A mes chères sœurs Assia, Rayen, Chîma et mon petit frère Borhen Eddîne

Je vous dédie ce travail en témoignage des liens solides et intimes qui nous unissent et pour votre soutien, vos encouragements en vous souhaitant un avenir plein de succès et de bonheur.

A mon cher fiancé Mohamed

Merci pour ton soutien moral que tu n'as cessé d'offrir, ta gentillesse sans égal. Sans ton aide, tes conseils et tes encouragements, ce travail n'aurait jamais vu le jour. En nous souhaitons un avenir éclatant et plein de bonnes promesses.

A mes chères amies Rawnak, Ahlem, Ismehen

Vous n'avez jamais cessé de me soutenir, m'écouter durant toute notre amitié nous avons partagés des souvenirs agréables et vous avez toujours fait preuve d'une vraie amitié et d'un amour propre que dieu préserve notre amitié.

Narîmen



Dédicace

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance, c'est tout simplement que : Je dédie ce mémoire de fin d'étude à :

A Ma tendre Mère Saïda : Tu représentes pour moi la source de tendresse et l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études.

A Mon très cher Père Salâh : Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail et le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation le long de ces années.

A mon très cher mari Fateh : Tes sacrifices, ton soutien moral et matériel m'ont permis de réussir mes études. Ce travail soit témoignage de ma reconnaissance et de mon amour sincère et fidèle.

A ma très chère sœur Nouha, son mari Mohamed et sa petite fille Rayane, « mon ange ». En témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour vous.

A mon très cher petit frère Seïf El-Islem présent dans tous mes moments. Je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité.

A ma chère grand-mère maternelle et mon grand-père maternel.

A mes oncles et mes chères tantes.

A ma très chère amie et binôme Narimene et toutes sa famille.

A mes très chères amies d'enfance Maroua, kenza, Rayene et sa petite fille Hanin

A tous les membres de ma promotion et spécialement à : Wissem, Rokia, Ahlem, Saïda, Nesma.

A tous mes enseignants depuis mes premières années d'études et spécialement à notre encadreur Mme Sekhri-Arafa Nedjoua.



Abstract

Diabetic foot infections are a major and growing problem in the world with medical, social and economic consequences. The objectives of this study are the isolation and identification of the causative organisms and the determination of their resistance profile.

This is a retrospective study of the two years (2016/2017) and two-month of practical application (February / March 2018) at the Constantine University Military Hospital based on the interpretation of the results of the antibiograms and medical records from the Microbiology - Parasitology and Internal Medicine Departments Unit respectively.

Out of a total of 278 samples taken from 146 hospitalized patient 70.86% were considered positive, of which 72.08% are poly-microbial, the male is the most exposed to diabetic foot infection.

273 bacterial strains were identified, with prevalence of Gram-negative bacilli with 66.30% followed by Gram-positive cocci with 33.69%.

The distribution by species shows a predominance of *Staphylococcus aureus*, of which 69% are resistant to methicillin.

Enterobacteriaceae have a high level of resistance to ampicillin, ampicillin clavulanic acid and cefazoline; high activity for IMP was noted.

For Gram-positive cocci no vancomycin resistance strain was isolated. From the 50 ESBL strains identified, the most isolated were *E.coli* by 12 isolates and *Klebsiella pneumoniae* by 11 isolates.

Antimicrobial resistance is considered a major threat to public health. The main cause of antimicrobial resistance is the misuse of antibiotics

The respect of the measures of fight against the diffusion of the bacterial resistance is essential. So knowledge of culture and sensitivity results helps to tailor the choice of antimicrobial treatment.

In addition to the therapeutic and surveillance means that are included in all diabetic education programs, special emphasis should be placed on hygiene measures, while at the same time adopting a healthy and balanced diet and regularly practicing physical activity or sports are the most important, keys to stabilize blood sugar.

Keywords : diabetes, diabetic foot, diabetic foot infection, antibiotic resistance, Gram negative bacilli, Gram positive cocci

ملخص

من بين مضاعفات مرض السكري اصابات القدم السكري و التي تعد مشكلة رئيسية و متنامية في العالم لها عواقب طبية واجتماعية واقتصادية. أهداف هذه الدراسة هي عزل وتعريف الكائنات المسببة وتحديد ملامح المقاومة الخاصة بها.

هذه دراسة بأثر رجعي لمدة سنتين (2016/2017) وتطبيقي لمدة شهرين (فبراير / مارس 2018) في المستشفى الجامعي العسكري الجهوي قسنطينة على أساس تفسير نتائج اختبار الحساسية للمضادات الحيوية والسجلات الطبية من وحدة علم الأحياء الدقيقة - الطفيليات والطب الداخلي على التوالي.

من مجموعه 278 عينة التي تم جمعها من 146 مريض 70.86% كانت تعتبر ايجابية و 72.08% من هذه النتائج متعددة الميكروبات حيث الذكور هم الأكثر عرضة لإصابات القدم السكري.

وقد تم تحديد 273 سلالة بكتيرية، مع انتشار عصيات سلبية الغرام 66.30% تليها المكورات ايجابية الجرام 33.69%. ويظهر التوزيع حسب الأنواع غلبة للمكورات العنقودية الذهبية ، منها 69% مقاومة للميثيسيلين.

Enterobacteria لديهم نسبة عالية من المقاومة للامبيسلين، و الامبيسيلين زائد حمض كلافيناليك وسيفازولين . كما لوحظ ارتفاع نشاط الاميبينام .

بالنسبة للمكورات ايجابية الغرام لم يتم عزل أية سلالة مقاومة للفانكوميسين . من بين 50 سلالة منتجة للنسب المقاومة β لكتمين بطيف ممدد التي تم تحديدها، *E.coli* هي الأكثر عزلة بعزل 12 منها تليها 11 من *K.pneumoniae*.

يعتبر مقاومة مضادات الميكروبات خطرا كبيرا على الصحة العامة. السبب الرئيسي لمقاومة مضادات الميكروبات هو سوء استخدام المضادات الحيوية

احترام تدابير مكافحة انتشار المقاومة البكتيرية أمر ضروري. لذا فإن معرفة نتائج اختبارات الحساسية تساعد على تكييف اختيار العلاج المضاد للميكروبات.

بالإضافة إلى الوسائل العلاجية والمراقبة التي يتم تضمينها في جميع برامج تعليم مرضى السكري ، يجب التركيز بشكل خاص على إجراءات النظافة ، في نفس الوقت اتباع نظام غذائي صحي ومتوازن وممارسة النشاط البدني بانتظام أو الرياضة التي تعتبر من المفاتيح لتحقيق الاستقرار في نسبة السكر في الدم.

الكلمات المفتاحية: السكري ، القدم السكري ، عدوى القدم السكري، مقاومة المضادات الحيوية ، العصيات سالبة الغرام ، المكورات ايجابية الغرام.

Résumé

Parmi les complications du diabète les infections du pied diabétique, constituent un problème majeur et croissant dans le monde entraînant des conséquences médicales, sociales et économiques. Les objectifs de cette étude sont l'isolement et l'identification des germes en cause et la détermination de leur profil de résistance.

Il s'agit d'une étude rétrospective des deux années (2016 / 2017) et d'un travail de paillasse de deux mois (Février / Mars 2018) au niveau de l'Hôpital Militaire régional universitaire Constantine basé sur l'interprétation des résultats des antibiogrammes et des dossiers médicaux des archives de l'unité microbiologie – parasitologie et du service de médecine interne respectivement.

Sur un total de 278 prélèvements réalisés à partir de 146 patients hospitalisés 70.86 % ont été considérés comme positifs dont 72.08 % sont poly-microbiens, le sexe masculin est le plus exposé à l'infection du pied diabétique. 273 souches bactériennes ont été identifiées, avec prévalence des bacilles à Gram négatif avec 66.30% suivi par les cocci à Gram positif avec 33.69%.

La répartition par espèce montre une prédominance de *Staphylococcus aureus*, dont 69% sont résistants à la méticilline.

Les entérobactéries présentent un taux de résistance élevé à l'ampicilline, ampicilline + acide clavulanique et la céfazoline ; une activité élevée pour l'IMP a été notée. Pour toutes les cocci à Gram positif aucune souche résistante à la vancomycine n'a été isolée. Sur les 50 souches BLSE identifiées, les plus isolées sont *E.coli* par 12 isolats et *Klebsiella pneumoniae* par 11 isolats.

Les résistances aux antimicrobiens sont considérées comme une menace majeure pour la santé publique. La principale cause de résistance aux antimicrobiens est l'utilisation abusive des antibiotiques. Le respect des mesures de lutte contre la diffusion de la résistance bactérienne s'avère primordiale. Donc la connaissance des résultats relatifs à la culture et à la sensibilité aide à adapter le choix de traitement antimicrobien.

A côté des moyens thérapeutiques et de surveillance qui figurent dans tous les programmes d'éducation diabétique, il y a lieu d'accorder une place privilégiée aux mesures hygiéniques, parallèlement adopter une alimentation saine et équilibrée et pratiquer régulièrement une activité physique ou sportive qui sont les clés pour stabiliser la glycémie.

Les Mots clés : diabète, pied diabetique, infection du pied diabétique, résistances aux antibiotiques, bacilles à Gram négatif, cocci à Gram positif

Liste des abréviations

ADO : Antidiabétiques Oraux

BL : bêta lactamine

BGP : Bcille à Gram Positif.

BLSE : β -lactamase à Spectre Elargi.

BNF : Bacilles non fermentants.

C3G : Céphalosporines de 3^{ème} génération.

CLSI: Clinical and Laboratory Standard Institute.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

IDF : Fédération Internationale des diabétiques.

IDSA: Infectious Diseases Society of America.

GLU: Glucose.

GP : Glycopeptide (vancomycine, teicoplanine).

LDC : Lysine décarboxylase.

MH : Mueller- Hinton.

ODC : Ornithine décarboxylase.

OMS : Organisation Mondiale de la santé.

ONPG : Orthonitrophényl- β -galactoside.

RM : Rouge de Méthyle.

SAC : Saccharose.

SAMS : *Staphylococcus aureus* méticilline sensible.

SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline.

URE : Urée

UT : University of Texas.

VP : Vosges-Proskauer.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Corrélation clinicobactériologique entre les types de plaies et les germes impliqués et identifiés page 9

Tableau 2 : Corrélation entre type de plaies et germes identifiés avec antibiothérapie probabiliste (hors ostéite) page 11

Tableau 3 : Spectre d'activité des principaux antibiotiques utilisés dans les infections du pied diabétiques page 11

Tableau 4 : Niveaux des lésions chez les patients page 37

Tableau 5: Répartition des prélèvements du pied diabétique en fonction des souches bactériennes N = 273 page 41

Tableau 6 : Identification présomptif des entérobactéries basée sur la fermentation des sucres page 45

Tableau 7 : Caractère biochimique des enterobacteries page 46

Tableau 8 : Profil de résistance des entérobactéries n= 162 page 47

Tableau 9 : Comparaison des taux de résistance des différentes espèces d'entérobactéries isolées n=162 page 54

Tableau 10 : Profil de résistance des bacilles non fermentaires isolés n=19 page 56

Tableau 11 : Comparaison des taux de résistance des différentes espèces des bacilles non fermentaires n=19 page 57

Tableau 12 : Profil de résistance des cocci Gram positif n=77 page 59

Tableau : 13 Comparaison des taux de résistances des différentes espèces de cocci à Gram positif n= 77 page 61

Tableau 14 : Répartition globale des BLSE selon les espèces n= 50 page 63

Liste des figures

Figure 1 : anatomie du pied page 6

Figure 2 : aspects de l'infection page 20

Figure 3 : Galerie Oxoid Rapid One page 23

Figure 4 : Galerie API 20^E page 23

Figure 5 : Test de la catalase page 24

Figure 6 : Test de l'oxydase page 25

Figure 7 : Test de la coagulase page 25

Figure 8 : Test de l'esculine page 27

Figure 9 : Test de TSI page 28

Figure 10 : Antibiogramme pour *Pseudomonas aeruginosa* page 30

Figure 11 : Aspect en bouchon en champagne des BLSE page 30

Figure 12 : Test de synergie page 31

Figure 13 : Répartition des patients selon les tranches d'âge n=146 page 33

Figure 14: Répartition des patients selon le sexe n=146 page 34

Figure 15 : Répartition des patients selon le type du diabète n =146 page 35

Figure 16 : Répartition des patients selon l'ancienneté du diabète n= 146 page 35

Figure 17 : Répartition des patients selon le type du traitement médical suivi n=146 page 36

Figure 18 : Répartition selon le pied atteint n=146 page 36

Figure 19 : Répartition des patients selon la présence d'antécédent d'amputation n=146 page 38

Figure 20 : Répartitions des patients selon le type d'amputation n= 146 page 38

Figure 21 : Répartition selon la culture n= 278 page 39

Figure 22 : Répartition selon le caractère poly ou mono-bactérien de la flore identifiée n= 19 page 39

Figure 23 : Répartition selon la nature de la flore bactérienne identifiée n= 273 page 40

Figure 24 : Profil de résistance des *staphylooccus aureus* n= 49 page 41

Figure 25 : Profil de résistance des bacilles non fermentaires n= 19 page 42

Figure 26 : Répartition de Profil de résistance des entérobactéries aux β –lactamines n= 162 page 43

- Figure 27 : Profil de résistance de *Proteus mirabilis* n= 40 page 47**
- Figure 28 : Profil de résistance d'*E.coli* n= 26 page 48**
- Figure 29 : Profil de résistance de *Proteus vulgaris* n= 21 page 48**
- Figure 30 : Profil de résistance de *Klebsiella pneumoniae* n= 20 page 49**
- Figure 31 : Profil de résistance d'*Enterobacter cloacae* n=15 page 49**
- Figure 32 : Profil de résistance de *Morganella morganii* n= 9 page 50**
- Figure 33 : Profil de résistance de *Citrobacter freundii* n= 6 page 51**
- Figure 34 : Profil de résistance de *Serratia marcescens* n= 4 page 51**
- Figure 35 : Profil de résistance de *Citrobacter diversus* n= 4 page 52**
- Figure 36 : Profil de résistance d'*Enterobacter Spp* n= 03 page 52**
- Figure 37 : Profil de résistance de *Providencia rettgerii* n= 03 page 53**
- Figure 38 : Comparaison des taux de résistance des différentes espèces d'entérobactéries isolées n= 162 page 55**
- Figure 39 : Profil de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* n=16 page 56**
- Figure 40 : Comparaison des taux de résistance des différentes espèces des bacilles non fermentaires n= 19 page 58**
- Figure 41 : Profil de résistance de *Staphylococcus aureus* n= 49 page 59**
- Figure 42 : Profil de résistance d'*Enterococcus Spp* n=25 page 60**
- Figure 43 : Comparaison des taux de résistances des différentes espèces de cocci à Gram positif n= 77 page 62**
- Figure 44 : Profil de résistance des souches BLSE n= 50 page 64**
- Figure 45 : Profil de résistance des souches BLSE d'*E.coli* n= 12 page 64**
- Figure 46: Profil de résistance des souches *Klebsiella pneumoniae* BLSE n= 11 page 65**
- Figure 47 : Profil de résistance des souches d'*Enterobacter cloacae* BLSE n= 8 page 66**
- Figure 48 : Profil de résistance des souches de *Proteus mirabilis* BLSE n= 6 page 66**
- Figure 49 : Profil de résistance des souches *Citrobacter freundii* BLSE n= 4 page 67**

Table des matières

Introduction	1
Chapitre1 : le diabète	
1.1. Diabète de type 1	2
1.2. Le diabète de type 2	2
1.3. Le diabète gestationnel.....	2
2. Épidémiologie de diabète.....	2
3. Complication	3
3.1. La microangiopathie.....	3
3.2. La macroangiopathie	3
Chapitre2 : le pied diabétique	
1. définition du pied diabétique.....	5
2. Anatomie du pied diabétique.....	5
3. Physiopathologie des lésions du pied diabétique	6
3.1. Neuropathie	6
3.2. Artériopathie.....	6
3.3.1. Signes de l'infection.....	7
3.3.2. Classification des infections	7
4. Ecologie du pied diabétique	8
5. Résistance aux antibiotiques	9
5.1. Les bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE)	9
5.2. <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline SARM.....	10
6. Antibiothérapie.....	10
6.1. Voie d'administration.....	10
Chapitre 3: Etiologie	
1. Etiologie	12
1.1 Cocci à Gram positif	12
1.1.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	12
1.1.2. <i>Streptococcus</i>	12
1.2. Les bacilles à Gram négatif	13
1.2.1. <i>Klebsiella</i>	13
1.2.2. <i>E. coli</i>	13
1.2.3. <i>Proteus</i>	14

1.2.4. <i>Morganella</i>	14
1.2.5. <i>Providencia</i>	15
1.2.6. <i>Enterobacter</i>	15
1.2.7. <i>Serratia</i>	15
1.2.8. <i>Citrobacter freundii</i>	16
1.3. Bacille non fermentaire	16
1.3.1. <i>Acinetobacter</i>	16
1.3.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16
1.4.1. <i>Clostridium</i>	17

Matériel et méthodes

Matériel

1. centre de l'étude	18
2. durée de l'étude	18
3. Matériel biologique	18

Méthodes

1. Prélèvement et transport	18
1.1. Prélèvement de pus pour la recherche de bactéries pathogènes	18
1.2. Examen direct après colorations	20
1.2.1. Coloration au bleu de méthylène	20
1.2.2. Culture et isolement	20
2. Identification	20
2.2. Identification biochimique pour entérobactéries	21
2.2.1. Oxoid RapiD ONE	21
2.2.2. Galerie API 20 ^E	23
3. Tests complémentaire	23
3.1. Recherche de la Catalase	23
3.2. Test d'oxydase	24
3.3. Test de coagulase	25
3.4. Test de l'esculine	26
3.5. Le milieu TSI	27
3.6. Antibiogramme par diffusion des disques	28
4. Méthodes de détection de la BLSE	30
4.1. Définition d'une BSLE	30
4.2. Test de synergie	30
4.2.1. Chez les entérobactéries	31

Résultats

1. Profil clinique.....	33
1.1. Répartition des patients selon les tranches d'âge	33
1.2. Répartition des patients selon le sexe.....	33
1.3. Répartition selon la durée d'Hospitalisation	34
1.4. Répartition selon le type du diabète	34
1.5. Répartition selon l'ancienneté du diabète	35
1.6. Répartition selon le type de traitement médical instauré	36
1.7. Répartition selon le pied atteint.....	36
1.8. Répartition des patients selon le type et le siège de la lésion.....	36
1.9. Répartition selon la présence d'antécédent d'amputation.....	37
1.10. Répartitions des patients selon le type et nature d'amputation	38
2. Profil bactériologique	39
2.1. Répartition des cultures	39
2.2. Répartition des prélèvements selon le caractère poly ou mono-bactérien de la flore identifiée.....	39
2.3. Répartition des souches en fonction de la nature de la flore bactérienne identifiée	40
2.4. Répartition des prélèvements du pied diabétique en fonction des souches bactériennes identifiées	40
2.5. Profil de résistance des <i>Staphylooccus aureus</i>	41
2.6. Profil de résistance des bacilles non fermentaires.....	42
2.7. Profil de résistance des entérobactéries aux β -lactamines.....	42
3. Identification macroscopique	43
4. Identification microscopique.....	44
5. Identification biochimique	44
5.1 Test de l'oxydase.....	44
5.2 Test de catalase.....	45
5.3 Test de caogulase	45
5.4 Test de l'esculine.....	45
5.5 Milieu T.S.I.....	45
6. Galeries biochimiques	46
7. Profil de résistance des entérobactéries.....	46
7.1. Profil de résistance des souches isolées de <i>Proteus mirabilis</i>	47
7.2. Profil de résistance des souches d' <i>E.coli</i>	48
7.3. Profil de résistance des souches de <i>Proteus vulgaris</i>	48
7.4. Profil de résistance des souches de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	49

7.5. Profil de résistance des souches isolées d' <i>Enterobacter cloacae</i>	49
7.6. Profil de résistance des souches isolées de <i>Morganella morganii</i>	50
7.7. Profil de résistance des souches isolées de <i>Citrobacter freundii</i>	51
7.8. Profil de résistance des souches isolées de <i>Serratia marcescens</i>	51
7.9. Profil de résistance des souches isolées de <i>Citrobacter diversus</i>	52
7.10. Profil de résistance des souches isolées d' <i>Enterobacter Spp</i>	52
7.12. Profil de résistance des souches isolées de <i>Klebsiella oxytoca</i>	53
7.13. Profil de résistance des souches isolées de <i>Proteus spp</i>	53
7.14. Profil de résistance des souches isolées de <i>Citrobacter Spp</i>	53
7.15. Profil de résistance des souches isolées de <i>Serratia liquifaciens</i>	54
7.16. Profil de résistance des souches d' <i>Enterobacteries Spp</i>	54
7.17. Profil de résistance des souches de <i>Providencia stuartii</i>	54
7.18. Comparaison des taux de résistance des différentes espèces d'entérobactéries isolées..	54
8. Profil de résistance des bacilles non fermentaires isolés :	55
8.1. Profil de résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	56
8.2. Profil de résistance des souches isolées d' <i>Acinetobacter calcoceticus</i>	57
8.3. Profil de résistance d' <i>Acinetobacter Spp</i>	57
8.4. Comparaison des taux de résistance des différentes espèces des bacilles non fermentaire	57
9. Profil de résistance des cocci à Gram positif.....	59
9.1. Profil de résistance des souches isolées de <i>Staphylococcus aureus</i>	59
9.2. Profil de résistance des souches isolées d' <i>Enterococcus Spp</i>	60
9.3 Profil de résistance des souches isolées de <i>Streptococcus</i> du groupe B.....	60
9.4. Profil de résistance de la souche isolée de <i>Streptococcus</i> non groupable	60
9.5. Comparaison des taux de résistances des différentes espèces de à cocci à Gram positif .	61
10. Répartition globale des BLSE selon les espèces	62
10.1. Profil de résistance des souches BLSE.....	64
10.2. Profil de résistance des souches BLSE d' <i>E.coli</i>	64
10.3. Profil de résistance des souches de <i>Klebsiella pneumoniae</i> BLSE.....	65
10.4. Profil de résistance des souches d' <i>Enterobacter cloacae</i> BLSE.....	65
10.5. Profil de résistance des souches de <i>Proteus mirabilis</i> BLSE.....	66
10.6. Profil de résistance des souches <i>Citrobacter freundii</i> BLSE	67
10.7. Profil de résistance des souches de <i>Klebsiella oxytoca</i> BLSE.....	67
10.8 Profil de résistance des souches d' <i>Enterobacter Spp</i> BLSE	67
10.9. Profil de résistance des souches de <i>Citrobacter diversus</i> BLSE.....	67
10.10. Profil de résistance des souches de <i>Morganella morganii</i> , <i>Proteus Spp</i> , <i>Proteus vulgaris</i> BLSE	68

10.11. Profil de résistance des souches <i>d'Enterobacterie spp</i> BLSE.....	68
Discussion.....	69
Conclusion.....	78
Perspective.....	79
Références bibliographiques.....	80
Annexes	
Résumé	

Introduction

Introduction

Le diabète sucré augmente dans des proportions épidémiques, c'est la seconde cause de mortalité en Algérie et la cinquième dans le monde, il entraîne des dommages aux organes cibles dus à de nombreuses années d'hyperglycémie, et représente un lourd fardeau pour les soins de santé (**Haris et al., 2007**).

Parmi les nombreuses complications associées au diabète, les problèmes liés à la maladie du pied représentent un problème clinique important et souvent difficile (**Andrew et al., 2010**).

L'ulcération et l'infection du pied diabétique constituent un problème médical, social et économique majeur et une cause majeure de morbidité et de mortalité, en particulier dans les pays en voie de développement (**Zubair et al., 2010**).

L'infection du pied diabétique représente la cause d'environ un quart des hospitalisations des patients diabétiques (**Senneville, 2008**).

Le taux d'amputation des membres inférieurs chez les diabétiques est plus de 40 fois plus élevé que chez les non diabétiques (**Matthew et al., 2003**).

Les infections diabétiques du pied sont des problèmes de santé publique majeurs et la connaissance des microbes responsables des infections est utile pour déterminer le bon traitement antibiotique (**Sekhar, 2014**).

La connaissance des différents germes infectant les lésions du pied diabétique ainsi que leurs profils de sensibilités aux antibiotiques est importante afin de permettre une prescription adaptée d'antibiotiques (**Hannat, 2010**).

Dans cette optique, notre étude réalisée au niveau de l'unité de microbiologie-parasitologie de l'hôpital militaire régional universitaire de Constantine pendant la période allant du 01 février au 31 mars 2018, met la lumière sur les objectifs suivants :

L'isolement, l'identification des germes en cause et la détermination de la fréquence des bactéries infectant les ulcérés et leur profil de sensibilité aux antibiotiques au centre de l'étude (HMRUC). Pour atteindre cet objectif une démarche scientifique a été adoptée elle concerne :

- ✓ Echantillonnage
- ✓ Examen directe et mise en culture
- ✓ Identification et antibiogramme

Chapitre 1 :
Le diabète

1. Le diabète

Le diabète est défini comme une affection métabolique, caractérisée par une hyperglycémie (taux de sucre dans le sang trop élevé) liée à une déficience, soit de la sécrétion, soit de l'action de l'insuline, ou des deux.

L'insuline est une hormone produite par le pancréas, indispensable à la pénétration du glucose sanguin dans les cellules. Lorsqu'elle fait défaut le taux de sucre augmente dans le sang (**Durand, 2012**).

1.1. Diabète de type 1

Il s'agit d'une maladie auto-immune dans laquelle notre système immunitaire produit des anticorps qui détruisent les cellules bêta du pancréas productrices de l'insuline. (**Djigui Diakit, 2007**). Il est précédemment connu sous le nom de diabète insulino-dépendant ou juvénile, est caractérisé par une production insuffisante d'insuline et exige une administration quotidienne de cette dernière.

Les symptômes sont les suivants: excrétion excessive d'urine (polyurie), sensation de soif (polydipsie), faim constante, perte de poids, altération de la vision et fatigue. Ces symptômes peuvent apparaître brutalement (**OMS, 2018**).

1.2. Le diabète de type 2

Précédemment appelé diabète non insulino-dépendant ou diabète de la maturité résulte d'une mauvaise utilisation de l'insuline par l'organisme. Le diabète de type 2 représente la majorité des diabètes rencontrés dans le monde. Il est en grande partie le résultat d'une surcharge pondérale et de la sédentarité.

Récemment encore, ce type de diabète n'était observé que chez l'adulte mais on le trouve désormais aussi chez l'enfant (**OMS, 2017**).

1.3. Le diabète gestationnel

Est défini par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme un trouble de la tolérance glucidique conduisant à une hyperglycémie de sévérité variable, débutant ou diagnostiqué pour la première fois pendant la grossesse, quels que soient le traitement nécessaire et l'évolution dans le post-partum (**Vambergue, 2010**)

2. Epidémiologie de diabète

Le diabète sucré est un problème de santé majeur présent partout dans le monde. À l'échelle mondiale, le nombre de patients diabétiques est en augmentation. En 2001, l'IDF évaluait à 177 millions le nombre de patients diabétiques (**Fédération international de diabète, 2005**).

La prévalence mondiale du diabète chez les adultes de plus de 18 ans est passée de 4,7% en 1980 à 8,5% en 2014 (**Mathers, 2006 ; Loncard, 2006**).

Près de la moitié des décès dus à l'hyperglycémie surviennent avant l'âge de 70 ans. L'OMS prévoit qu'en 2030, le diabète sera la 7^e cause de décès dans le monde (**Mathers, 2006 ; Loncard, 2006**). Et prévoit une population de 366 millions de diabétiques pour 2030 (**Wild et al., 2004**).

En 2001, l'Atlas du diabète plaçait l'Arabie Saoudite en tête des pays les plus touchés avec 19.6% de la population versus 9.6% pour l'Algérie (**Keddad, 2017**).

Le diabète est la seconde cause de mortalité en Algérie et la cinquième dans le monde, le nombre de diabétique en Algérie est passé d'un million de personnes en 1993 à plus de 2.5 millions en 2007 (**Keddad, 2017**).

3. Complication

La gravité du diabète est liée à l'apparition et au développement de complications chroniques, qui touchent de nombreux organes.

Les complications à long terme du diabète sont classiquement divisées en deux catégories :

3.1. La microangiopathie

est une atteinte diffuse des petits vaisseaux : artérioles, veinules et capillaires. Elle se manifeste essentiellement par la rétinopathie, la néphropathie et les neuropathies. L'état d'hyperglycémie chronique va engendrer des anomalies fonctionnelles, de ces petits vaisseaux, qui vont progressivement permettre l'installation des différentes maladies annexes (**Abdelkbir, 2014**).

3.2. La macroangiopathie

Il s'agit d'atteintes diffusent des artères de gros et moyens calibres. Les lésions seront à l'origine d'obstructions artérielles qui pourront aboutir à l'ischémie du myocarde, du cerveau et des membres inférieurs. La macroangiopathie résulte de l'hyperglycémie et de

Chapitre 1 : Le diabète

l'hyperinsulinémie. L'hyperglycémie provoque les mêmes modifications que sur les petits vaisseaux (**Abdelkbir, 2014**).

- **Le pied diabétique** : souvent due à une combinaison de la neuropathie et la maladie artérielle, peut provoquer ulcère de la peau et une infection, dans les cas graves, la nécrose et la gangrène. Il s'agit de la cause la plus fréquente d'amputation des adultes (**Abdelkbir, 2014**).

Chapitre : 2
Le pied diabétique

Chapitre 2 : Le pied diabétique

1. Définition du pied diabétique

Le pied diabétique se définit par l'ensemble des lésions cutanées et ostéo-articulaires, localisées au départ au niveau du pied chez le sujet diabétique. En effet, le pied est une région à haut risque chez le diabétique, en raison des atteintes vasculaires, neurologiques et infectieuses qui touchent particulièrement les extrémités distales des membres inférieurs (**Ait Lhaj Ou Said, 2014**).

On regroupe sous le terme « pied diabétique » l'ensemble des manifestations pathologiques atteignant le pied et directement en rapport avec la maladie diabétique sous-jacente (**Mathieu, 2014**).

Le Consensus international sur le pied diabétique (ou IWGDF : International Working Group on Diabetic Foot) de 2007 donne la définition suivante du pied diabétique :

Infection, ulcération ou destruction des tissus profonds du pied, associée à une neuropathie et/ou un artériopathie périphérique des membres inférieurs chez le diabétique.

2. Anatomie du pied diabétique

Le pied est situé à l'extrémité de la jambe, auquel il est relié par la cheville. Il porte le poids du corps en position debout et permet la locomotion. Il a ainsi un rôle d'équilibre, d'amortissement et de propulsion (**El Allali, 2015**).

Le pied, cœur périphérique, joue en quelque sorte le rôle de pompe pour la circulation veineuse. L'écrasement du talon sur le sol chasse le sang vers la cheville et donne une impulsion pour le retour du sang vers le cœur (**El Allali, 2015**).

La plante du pied est, avec le bout des doigts, la région du corps la plus riche en terminaisons nerveuses : c'est pour cela qu'on est tellement chatouilleux des pieds. Pour permettre au cerveau de commander ses mouvements, le pied comprend : 28 os, 16 articulations, 107 ligaments qui tiennent ces dernières, 20 muscles intrinsèques (**El Allali, 2015**).

Chapitre 2 : Le pied diabétique

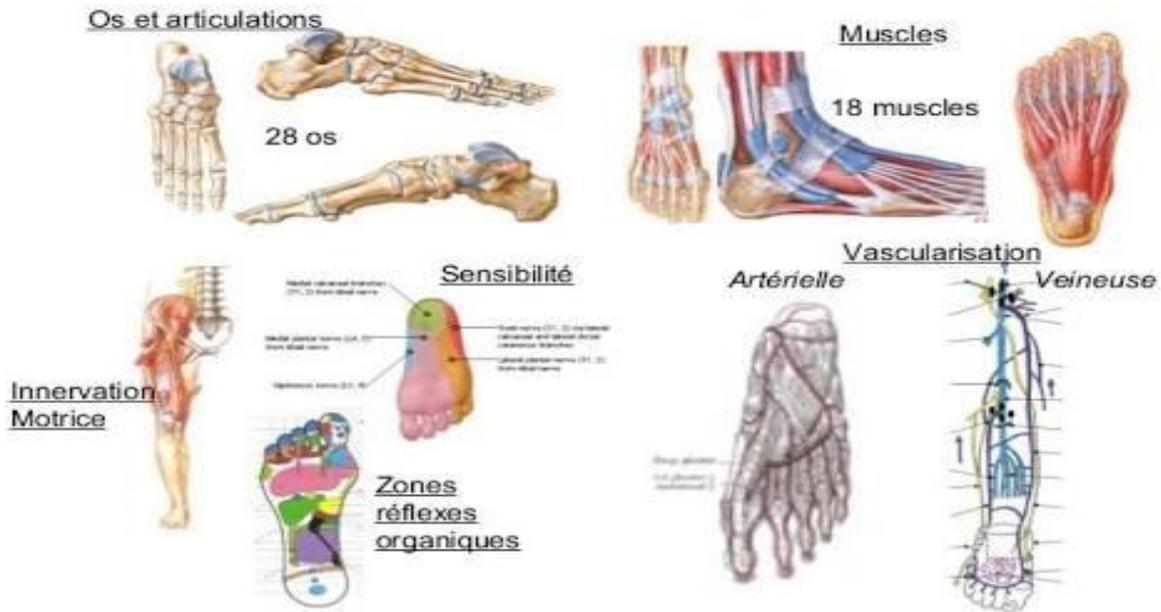


Figure1 : anatomie du pied (Pacôme, 2014).

3. Physiopathologie des lésions du pied diabétique

Les troubles trophiques du pied diabétique résultent de trois processus physiopathologiques :

- la neuropathie périphérique.
- l'artériopathie des membres inférieurs.
- l'infection (Maroselli, 2002).

La neuropathie périphérique et l'artériopathie des membres inférieurs sont deux complications du diabète. L'infection est un phénomène qui peut s'y rajouter. L'intervention de ces trois mécanismes est variable, mais ils sont souvent intriqués (Maroselli, 2002).

3.1. Neuropathie

Selon les études, la neuropathie multiplierait de 8 à 18 fois le risque d'ulcération et de 2 à 15 fois le risque d'amputation. La neuropathie est fortement impliquée dans le mécanisme de pied diabétique, en association avec une ischémie. La présence ou non d'une neuropathie détermine le grade de risque podologique (Mathieu, 2014).

3.2. Artériopathie

L'artériopathie est plus fréquente et plus grave chez le patient diabétique, et représente un facteur d'aggravation très important responsable de retard de cicatrisation et de gangrène à l'origine d'amputation. L'artérite augmente avec l'âge et la durée du diabète. L'artérite

Chapitre 2 : Le pied diabétique

associée à une neuropathie constitue un facteur majeur de risque pour l'apparition des plaies (Mathieu, 2014).

3.3. Infection du pied diabétique

L'infection est définie par une invasion tissulaire avec multiplication de micro-organismes entraînant des dégâts tissulaires avec ou sans réponse inflammatoire de l'organisme (Stahl, 2006).

Les infections du pied sont une complication majeure du diabète et conduisent finalement au développement de la gangrène et de l'amputation des membres inférieurs (Raja, 2007).

Dans le cas du pied diabétique, cette infection est en règle secondaire à une plaie cutanée. Le diagnostic est clinique et non microbiologique puisque la plaie est obligatoirement colonisée par la flore commensale du patient ou par des espèces bactériennes provenant de l'environnement ou des flores endogènes du patient (Stahl, 2006).

La présence de bactéries sur une plaie ne signifie donc pas qu'elle soit infectée. L'infection doit ainsi être distinguée de la colonisation bactérienne. La colonisation est un phénomène physiologique développé sur toute la peau (Stahl, 2006).

3.3.1. Signes de l'infection

Les Signes évoquant l'infection :

Augmentation du volume de l'exsudat, induration, erythème périlésionnel, sensibilité locale ou douleur, chaleur locale, présence de pus, tissu friable, base de l'ulcère devient humide, jaunâtre ou grise, mauvaise odeur (Ait Lhaj Ou Said, 2014).

Les signes habituels de l'infection peuvent être atténués chez le diabétique notamment en cas de neuropathie.

3.3.2. Classification des infections

Plusieurs classifications cliniques orientent la prise en charge du pied diabétique infecté (Dupard, 2016).

Les infections sont classées en légères (superficielles et limitées en taille et en profondeur), modérées (plus profondes ou plus étendues) ou graves (accompagnées de signes systémiques ou de perturbations métaboliques) (Lipsky *et al.*, 2013).

Il existe également d'autres classifications on note

- **Classification de l'infection des plaies du pied selon le Consensus International sur le Pied Diabétique**
- **Classification de l'Université de Texas (UT) voir annexes**

Chapitre 2 : Le pied diabétique

4. Ecologie du pied diabétique

L'infection du pied chez le diabétique est souvent poly-microbiennes incluant les bacilles à Gram positif, à Gram négatif et les anaérobies, surtout dans les cas chroniques. Même s'il est difficile de faire la distinction entre les germes pathogènes et non pathogènes, on peut noter que *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus A* et *B*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* et *Clostridium* sont les plus fréquemment observés.

Ces germes peuvent agir en synergie et entraîner une vaste et rapide destruction tissulaire. Lorsque des bactéries à Gram négatif (*Proteus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*), des entérocoques

et des anaérobies sont mises en causes. Les complications de type nécrose, cellulite ou ostéite sont plus fréquentes qu'avec une prédominance de Gram positif. La survenue de bactériémies, rare, est habituellement le fait d'infections du pied particulièrement sévères, à haut risque d'amputation (Levanic, 2008). Voir tableau 1

Chapitre 2 : Le pied diabétique

Tableau 1 : Corrélation clinicobactériologique entre les types de plaies et les germes impliqués et identifiés (Stahl, 2006).

Type de plaie	Germes pathogènes
Plaie superficielle récente sans antibiothérapie récente.	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>streptococcus bêta hémolytique</i> .
Plaie chronique (> 1 mois) ou déjà traitée par antibiotiques.	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>streptococcus bêta hémolytique</i> , entérobactéries.
Plaie traitée par céphalosporines d'évolution défavorable.	Entérocoques.
Plaie avec macération.	<i>Pseudomonas.Spp</i> (avec d'autres micro-organismes).
Plaie > 6 mois, traitement antérieur par antibiothérapie à large spectre.	Polymicrobisme : Cocci à Gram positif aérobie <i>staphylococcus aureus</i> , <i>streptococcus bêta hémolytique</i> , <i>Staphylococcus</i> à coagulase négative, entérocoques, corynébactéries, entérobactéries, <i>Pseudomonas.Spp</i> . Bacilles à Gram négatifs non fermentatifs ± agents fongiques)
Odeur nauséabonde, nécrose, gangrène.	Cocci à Gram positif aérobie, <i>Pseudomonas.Spp</i> , bacilles à Gram négatif non fermentatifs, anaérobies stricts

5. Résistance aux antibiotiques

5.1. Les bêtalactamases à spectre élargi (BLSE)

Les bêtalactamases à spectre élargi (BLSE) engendrent une résistance à la majorité des bêta-lactamines. Leur apparition dans les bactéries à Gram négatif et leur dissémination coïncident avec l'utilisation d'antibiotiques à large spectre tels que les céphalosporines et les quinolones. Les bactéries productrices de BLSE peuvent occasionner des infections hospitalières et communautaires. Les carbapénèmes restent les molécules de premier choix

Chapitre 2 : Le pied diabétique

pour le traitement des infections par les bactéries productrices de BLSE. L'utilisation rationnelle des antibiotiques pourrait contribuer à ralentir la dissémination des bactéries productrices de BLSE (Vora, 2009).

L'écologie des bactéries multirésistantes est à prendre en compte :

Les souches de *S.aureus* isolées de plaies et résistantes à la méticilline (SARM) constituent actuellement un problème de première importance (Game, 2004 ; Jeffcoate, 2004).

5.2. *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline SARM

Le SARM est, comme son nom l'indique, résistant à un antibiotique de la classe des bêta-lactamines et de la famille de la pénicilline, la méticilline. Le SARM est aussi résistant à d'autres antibiotiques bêta-lactamines comme l'amoxicilline ou la ceftriaxone. Certains SARM sont multi-résistants et résistent à quasiment tous les antibiotiques. Cet épuisement des ressources thérapeutiques est la raison pour laquelle des mesures de prévention doivent être mises en place pour éviter la dissémination du SARM. D'après l'OMS, une personne infectée par un SARM a une probabilité 64 % plus élevée de mourir qu'un patient ayant une forme non-résistante.

6. Antibiothérapie

Le traitement réussi de l'infection dans les pieds des patients atteints de diabète sucré reste un défi. Les patients atteints ont souvent de nombreuses autres comorbidités qui affectent non seulement le choix du traitement antimicrobien approprié, mais empêchent également la guérison (Andrew *et al.*, 2010). L'objectif de l'antibiothérapie n'est pas de stériliser les plaies et elle n'améliore pas l'évolution des plaies non infectées. Lorsqu'une infection à pied diabétique est diagnostiquée, l'antibiothérapie doit souvent être prescrite sans délai en raison du risque d'une évolution rapidement défavorable à tout moment, il s'agit donc dans la plupart des cas d'une antibiothérapie le plus souvent de type probabiliste (Zanella *et al.*, 2016). Voir tableau 2, 3

6.1. Voie d'administration

L'administration parentérale doit être réservée aux infections jugées sévères, en cas d'artériopathie, lorsque les molécules utilisées ne sont pas administrables par voie orale ou que l'état du patient est incompatible avec la prise orale. À l'opposé, les situations d'infections légères à modérées pourraient probablement être traitées par voie orale en ambulatoire dès lors qu'un suivi médical est possible de façon rapprochée (Senneville, 2008).

Chapitre 2 : Le pied diabétique

Tableau 2 : Corrélation entre type de plaies et germes identifiés avec antibiothérapie probabiliste (hors ostéite) (Senneville, 2008).

Infection	Cible bactérienne	Antibiothérapie probabiliste
Plaie infectée superficielle et récente	SASM Streptocoques β -hémolytiques, SARM	cloxacilline ou céfalexine ou amoxicilline/acide clavulanique ou clindamycine, pristinamycine ou linézolide
Plaie infectée extensive superficielle et récente Plaie chronique	SASM Streptocoques β -hémolytiques SARM SASM, Streptocoques β -hémolytiques BGN, anaérobies, SARM	oxacilline IV ou C1G IV \pm AG, pristinamycine ou linézolide ou vancomycine ou téicoplanine (amoxicilline/acide clavulanique) \pm AG \pm pristinamycine ou linézolide ou vancomycine ou téicoplanine
Sepsis sévère Choc septique	SASM, streptocoques β -hémolytiques BGN, anaérobies SARM SASM, streptocoques β -hémolytiques BGN, anaérobies, SARM	[(pipéracilline/tazobactam) ou (ticarcilline/acide clavulanique) ou ertapénème] + AG \pm linézolide ou vancomycine ou téicoplanine imipénème + (linézolide ou vancomycine ou téicoplanine) + AG

Tableau 3 : Spectre d'activité des principaux antibiotiques utilisés dans les infections du pied diabétiques (Stahl, 2006).

Molécules	SAMS	SARM	Streptocoques	Entérocoques	Entérobactéries	<i>P. aeruginosa</i>	Anaérobies
Oxacilline Céfalexine	+++	-	+++	-	\pm	-	-
Amoxicilline Ac. clavulanique	++	-	+++	+++	+++	+++	+++
Piperacilline - tazobactam Ticarcilline Ac. clavulanique	++	-	+++	+++	+++	+++	+++
Imipénème	++	-	+++	+++	+++	+++	+++
Ertapénème	++	-	+++	-	+++	-	+++
C3G	++	-	+++	-	+++	- ceftazidime +++	-
Aminosides	++	++	-(synergie avec BL, GP)	-(synergie avec BL, GP)	+++	+++	-
Clindamycine	++	\pm	++	-	-	-	++
Pristinamycine	+++	++	+++	-	-	-	++
Vancomycine Teicoplanine	++	+++	+++	++	-	-	-
Linézolide	++	+++	+++	+++	-	-	++

BL : bêta lactamines.

GP : glycopeptide (vancomycine, teicoplanine).

C3G : céphalosporines de 3^e génération.

SAMS : staphylocoque doré méticilline sensible.

SAMR : staphylocoque doré méticilline résistant.

Chapitre 3: *Étiologie*

Chapitre 3 : Étiologie

1. Etiologie

1.1 Cocci à Gram positif

1.1.1. *Staphylococcus aureus*

Il a été nommé ainsi par Rosenbach en 1884 en raison de la production de caroténoïdes donnant à la bactérie sa pigmentation de surface caractéristique. *Staphylococcus aureus* est un germe appartenant au groupe des cocci à Gram positif qui poussent en amas aéro-anaérobies facultatives. Cette bactérie non productrice de spores mais très résistante dans les milieux extérieurs et peut survivre longtemps sur des objets inanimés et secs. Elle résiste aussi relativement bien à la chaleur, et peu exigeante en culture. Communément appelé *staphylococcus* doré, est un staphylocoque à coagulase positive (Couderc, 2015).

• Habitat et pouvoir pathogène

Les staphylocoques sont des bactéries commensales de la peau et des muqueuses de l'Homme et de l'animal. L'habitat préférentiel de *S.aureus* chez l'Homme est la muqueuse nasale avec 10 à 40% d'individus porteurs de façon permanente (et environ 60% qui hébergent *S.aureus* de façon intermittente) à une densité de 10^3 à 10^4 CFU/cm² (El-Anzi, 2014).

Bien qu'étant commensal *S.aureus* est également responsable d'un grand nombre d'infection chez l'homme notamment des infections cutanées et des infections de la muqueuse (Couderc, 2015). Ces infections peuvent mener à des bactériémies et faire l'objet de métastases septiques à l'origine de foyers infectieux profonds (Pilly, 2008).

1.1.2. *Streptococcus*

Les streptocoques sont définis comme des cocci à Gram positif disposés, le plus souvent en chaînettes qui ont un métabolisme anaérobie, cependant la plupart des souches tolèrent l'oxygène et peuvent être cultivées in vitro en atmosphère aérobie, exigeants en nombreux facteurs de croissance : le sang ajouté aux géloses permet leur multiplication in vitro. Cette multiplication peut être favorisée par l'apport de CO₂ ou par une atmosphère anaérobie (Bouvet, 2013).

• Habitat

Parmi les streptocoques, les espèces commensales appartiennent à la flore normale des muqueuses de l'homme. Ce sont les *streptococcus* oraux (commenceau de l'oro-pharynx) et les streptocoques du groupe D (commenceau de l'intestin) (Bouvet, 2013).

Chapitre 3 : Étiologie

1.1.3. Les entérocoques

Ils appartiennent à un genre différent des streptocoques, bien qu'ils s'en rapprochent par certains caractères, notamment l'aspect morphologique et le métabolisme de type anaérobie. La présence chez les entérocoques d'un acide teichoïque de la paroi porteur de l'antigène D les rapproche plus particulièrement des streptocoques du groupe D (Bouvet, 2013).

• Habitat Pouvoir pathogène

De même que leur présence dans l'intestin de l'homme et des certains animaux, les entérocoques sont de plus commensaux des muqueuse génito-urinaire (Bouvet, 2013). Ils peuvent être pathogènes opportunistes et sont alors responsable d'infection urinaires, d'infections abdominales d'origine intestinale, de septicémies ou d'endocardites à porte d'entrée urinaire, génitale ou intestinale (Bouvet, 2013).

1.2. Les bacilles à Gram négatif

1.2.1. *Klebsiella*

Le nom du genre *Klebsiella* provient du nom du bactériologiste Klebs, 1877 et l'espèce type dénommée « pneumobacille » par Friedlander qui l'a décrit comme agent de pneumonies mortelles pendant la période 1882- 1884. Actuellement, le genre *Klebsiella* comporte deux espèces principales: *K. oxytoca* et *K. pneumoniae* subdivisée en 3 sous-espèces : *Klebsiella pneumoniae subsp.pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae subsp. rhinoscleromatis*, *Klebsiella pneumoniae subsp. Ozaenae* (Kone, 2010 ; Belbel, 2014).

• Généralités sur *klebsiella pneumoniae*

Il s'agit d'un bacille à Gram négatif toujours immobile et très souvent capsulé poussant sur milieu ordinaire en atmosphère aéro-anaérobie, oxydase négative, fermentant le glucose et le lactose en produisant du gaz, produisant de l'indole et une uréase et fermentant l'acétoïne, réduisant les nitrates en nitrites (Chikhani, 2012 ; Sekhri Arafa *et al.*, 2011)

• Habitat et pouvoir pathogène

K. pneumoniae subsp. pneumoniae est une espèce isolée dans l'environnement à partir d'échantillons de sol, d'eaux de surface, d'eaux usées, de végétaux, et de muqueuses des mammifères, en particulier de la flore fécale. Chez l'homme, cette espèce végète sur la peau, les muqueuses, les voies respiratoires supérieures et elle est isolée des selles chez 30 % des individus. Pour ce qui est des infections nosocomiales, le tube digestif des patients hospitalisés et les mains du personnel sont les deux sources principales (Belbel, 2014 ; Sekhri Arafa *et al.*, 2011).

1.2.2. *E. coli*

Escherichia coli a été décrite pour la première fois en 1885 par Theodore Escherich comme étant *Bacterium coli* commune (Escherich 1885). Le genre *Escherichia* appartient, à la

Chapitre 3 : Étiologie

famille des Enterobacteriaceae. Ce sont des bacilles à coloration de Gram négative, aéro-anaérobies facultatifs qui peuvent fermenter les nitrates. Ces bactéries sont catalase positives et ne possèdent pas d'oxydase, mobile par des flagelles péritriches, non-sporulant, chémo-organotrophe, fermenteur des sucres, produisant du gaz en glucose (**Miszczycha, 2013 ; Francis, 2005**).

• Habitat et Pouvoir pathogène

E. coli est un habitant naturel du tractus intestinal de l'humain et des autres espèces animales mais est souvent associé à divers désordres intestinaux et extra intestinaux (**Francis, 2005**). Chez l'homme, la colonisation par *E. coli* est précoce, et peut être responsable d'un nombre varié de pathologie. Toutefois, trois types de syndromes majeurs résultent de l'infection par de souches *E. coli* pathogènes : infections urinaires (impliqué dans 80 % des infections urinaires), les infections digestives (diarrhées, infections hépatobiliaires et autres), et les méningites néonatales et septicémies (**Jaureguy, 2009**).

1.2.3. *Proteus*

Les *Proteus spp* sont des bacilles à Gram négatif, généralement très mobiles, polymorphes, mesurant de 0,4 à 0,8 µm de diamètre sur 1,0 µm à 80 µm de longueur (**Lamnaouer, 2002**).

• Habitat et Pouvoir pathogène

Les espèces du genre *Proteus* sont largement répandues dans la nature et elles sont isolées du sol, de l'eau, de l'intestin de l'homme et de nombreuses espèces animales (**Lamnaouer, 2002**). Actuellement, le genre *Proteus* rassemble cinq espèces (**Lamnaouer, 2002**) dont 3 espèces importantes pour l'homme, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris* et *Proteus penneri* (**Goubau et Pellegrims, 2000**). *Proteus mirabilis* est l'espèce la plus fréquemment isolée de prélèvements cliniques (**Lamnaouer, 2002**), après *Escherichia coli*, elle est la bactérie la plus souvent isolée des urines et elle est à l'origine aussi d'infections nosocomiales (**Mahrouki et al., 2009**).

1.2.4. *Morganella*

Le genre *Morganella* se compose actuellement d'une seule espèce avec deux sous espèces, *morganii* et *sibonii* (**O'Hara et al., 2000**). *Morganella morganii* est un organisme facultatif, anaérobique et ne fermente pas le lactose (**Sinan Bilgin et al., 2003**).

• Habitat et Pouvoir pathogène

Il se trouve normalement dans le sol, l'eau, les eaux usées, et il fait également partie de flore fécale de l'homme (**Chou et al., 2009**). Ce bacille est reconnu comme étant un

Chapitre 3 : Étiologie

pathogène commun responsable d'infections opportunistes dans les voies respiratoires, urinaires et aussi les infections des plaies (**Kim et al., 2007**).

1.2.5. *Providencia*

Les espèces du genre *Providencia* sont habituellement considérées comme commensaux dans le tube digestif (**Tribe et Rood, 2002; O'Hara et al., 2000**).

• Pouvoir pathogène

Chez le genre *Providencia* Certaines espèces (*Providencia stuartii* et *Providencia alcalifaciens*) ont été associées à des infections nosocomiales et sont considérées comme des pathogènes opportunistes (**Tribe et Rood, 2002; O'Hara et al., 2000**).

1.2.6. *Enterobacter*

Les *Enterobacter* sont des bacilles à Gram négatif généralement mobiles, fermentent ou non le lactose et ils ont une β -galactosidase (**Fauchère et Avril, 2002**).

• Habitat et Pouvoir pathogène

Bactéries telluriques, elles sont fréquemment retrouvées dans les eaux de surface, le sol et les végétaux (**Boudjamaa, 2015**). Différentes espèces constituent ce genre. Certains n'ont jamais été associés à des infections humaines. Les espèces les plus souvent isolés incluent *Enterobacter cloacae* et *Enterobacter aerogenes*, suivie par *Enterobacter sakazakii*. Les espèces du genre *Enterobacter*, en particulier *Enterobacter cloacae* et *Enterobacter aerogenes*, sont des pathogènes responsables d'infections nosocomiales diverses, y compris la bactériémie, les infections des voies respiratoires et urinaires, l'endocardite, les infections intra-abdominales et ophtalmiques, l'arthrite septique et les ostéomyélites (**Fraser et al., 2010**).

1.2.7. *Serratia*

Toutes les *Serratia* possèdent une gélatinase et une DNase sauf (*S. fonticola*) (**Denis et Ploy, 2007**). D'une manière générale, les espèces de ce genre sont isolées des plantes (légumes, champignons, mousses), du tube digestif des rongeurs (40% des petits mammifères sauvages sont porteurs de *Serratia spp.*), des insectes, de l'eau et du sol (**Euzéby, 2003**).

• Pouvoir pathogène

Le genre *Serratia* comprend maintenant dix espèces *Serratia marcescens*, *Serratia liquefaciens*, *Serratia proteomaculans*, *Serratia grimesii*, *Serratia polymuthica*, *Serratia rubidaea*, *Serratia odorifera*, *Serratia ficaria*, *Serratia fonticola*, et *Serratia entomophila* (**Sekhsokh et al., 2007**). La principale espèce pathogène du genre est *Serratia marcescens* qui

Chapitre 3 : Étiologie

provoque habituellement des infections nosocomiales. Toutefois, des souches de *S. plymuthica*, *S. liquefaciens*, *S. rubidaea* et *S. odorifera* ont causé des maladies à travers des infections (Basilio, J.A. 2009).

1.2.8. *Citrobacter freundii*

Les *Citrobacter freundii* sont de bacilles ou de coccobacilles Gram négatif, font partie de du genre *Citrobacter*, facultativement anaérobiques, de 0,3 à 1 µm de diamètre et de 0,6 à 6 µm de long dont la mobilité est assurée par des flagelles péritriches (Abbott. 2007).

• Habitat et pouvoir pathogène

Largement distribués dans l'eau, le sol, la nourriture et le tractus intestinal de l'homme et des animaux (Basavaraj *et al.*, 2013). Les *Citrobacter freundii* sont des agents pathogènes nosocomiaux opportunistes rares (Ryan. 2004), qui entraînent normalement des infections des voies urinaires, des bactériémies, des sepsis abdominaux et des abcès cérébraux ainsi que des pneumonies et d'autres infections néonatales (Pepperell *et al.* 2002)

1.3. Bacille non fermentaire

1.3.1. *Acinetobacter*

Acinetobacter sont des bacilles aérobies à Gram négatif qui appartiennent à la famille des Neisseriaceae, strictement aérobies, non fermentantes, non motiles, catalase positive, oxydase négative avec une teneur en ADN G + C de 39% à 47%. (O'donoghe *et al.*, 2012).

• Habitat

Ils sont omniprésents étant donné qu'ils peuvent être récupérés dans presque tous les échantillons d'eau de surface et de sol et peuvent survivre sur des surfaces sèches jusqu'à un mois, sont fréquemment transportés par la peau des travailleurs du secteur de la santé, augmentant la probabilité que des patients soient colonisés et que des équipements médicaux soient contaminés (Larry *et al.*, 2018).

1.3.2. *Pseudomonas aeruginosa*

P.aeruginosa est une bactérie à Gram négatif appartenant à la famille des Pseudomonadaceae, bactéries non sporulant de forme droite ou légèrement courbée, pathogène, ayant un métabolisme oxydatif, non fermentaire, aérobie stricte. C'est une bactérie mobile grâce à la présence d'un flagelle monotriche polaire (Euzéby, 2011).

• Habitat et pouvoir pathogène

Bactérie ubiquitaire présente notamment dans le sol et dans les milieux aquatiques, c'est une bactérie de l'environnement mais peut être commensal du tube digestif. Pour les sujets en bonne santé, elle est peu présente, avec seulement 2 à 10 % de porteurs tandis que chez les sujets hospitalisés ce taux peut atteindre 50 %, voire 60 % sur les plaies de brûlures ou

Chapitre 3 : Étiologie

d'escarres (Elmeskini, 2011). *P.aeruginosa* est responsable de 16% des infections pulmonaires, de 12% des infections du tractus urinaires, de 8% des infections touchant les grands brûlés et de 10% des infections de sangs (bactériémie et /ou septicémie). Cette bactérie est également une des causes majeures de mortalité et de morbidité chez les personnes atteintes de mucoviscidose (Rassignol, 2007).

1.4. Cocci à Gram positif

1.4.1. *Clostridium*

Les *Clostridium Spp* sont des bacilles sporulés, anaérobies stricts voire aéro-tolérants pour certaines espèces, apparaissant habituellement Gram positif et généralement mobiles. Certaines espèces ne sporulent que très difficilement comme *Clostridium ramosum* (Allen, 2018). La coloration de Gram est le plus souvent positive mais il existe de rares exceptions, certaines espèces pouvant apparaître Gram négatif ou variable (Robert, 2007).

• Habitat et pouvoir pathogène

Les bactéries appartenant au genre *Clostridium* sont largement répandues dans l'environnement où elles survivent grâce à leurs spores; on les retrouve dans le sol, les eaux, les sédiments marins, les végétaux et les cadavres d'animaux en décomposition. Certaines espèces sont rencontrées dans la flore digestive normale des animaux et de l'homme (10³ à 10⁹ bactéries par gramme de selles) (Robert, 2007).

Les infections à *Clostridium Spp*, les mieux caractérisées sont celles pour lesquelles le rôle pathogène est engendré par la présence de toxines. Les *Clostridium spp* sont alors à l'origine de deux principaux tableaux cliniques selon la voie d'entrée de la bactérie dans l'organisme ; les complications de plaies (gangrènes, tétanos, botulisme) et les infections digestives (toxi-intoxications alimentaires à *C. perfringens*, intoxications à *C. botulinum*, colites pseudo-membraneuses à *C. difficile* ...) (Robert, 2007).

Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

Matériel

1. Centre de l'étude

L'étude a été réalisée à l'unité de microbiologie –parasitologie de l'hôpital militaire régional universitaire de Constantine (HMRUC).

2. Durée de l'étude

Il s'agit d'un travail de paillasse de deux mois (1fevrier- 31mars 2018), et d'une étude rétrospective des deux années 2016 et 2017, basée sur l'interprétation des résultats de l'examen cytobactériologique du pus à partir des registres et des antibiogrammes des archives du laboratoire de microbiologie de l'(HMRUC).

3. Matériel biologique

278 prélèvements à visée diagnostique de pus du pied diabétique ont été pris en considération à partir de 146 patients hospitalisés.

Méthodes

1. Prélèvement et transport

1.1. Prélèvement de pus pour la recherche de bactéries pathogènes

❖ Pus superficiel

Réalisation d'un écouvillonnage

Passer un écouvillon stérile de coton sur une surface de 1 cm² dans un mouvement de zigzag combiné à un mouvement de rotation.

Placer de préférence l'écouvillon dans un milieu de transport.

❖ Lésion superficielle fermée

Nettoyer la surface de la lésion avec une solution antiseptique afin d'éliminer la flore commensale. Essuyer avec une compresse imbibée d'eau physiologique pour éliminer toute trace d'antiseptique. Laisser sécher.

Le prélèvement peut être réalisé de 2 façons

Aspirer le pus au travers de la peau à la seringue avec une aiguille introduite dans le foyer infectieux et si le volume du prélèvement est faible, ajouter quelques gouttes de sérum physiologique stérile à l'aiguille.

Matériel et méthodes

Identifier la seringue

Ouvrir la lésion avec la pointe d'un vaccinostyle. Imbiber un écouvillon avec quelques gouttes de sérum physiologique et prélever la sécrétion

à l'aide de l'écouvillon

Réaliser 2 écouvillonnages, le premier est destiné pour l'examen direct et le deuxième pour la culture bactériologique.

❖ Lésion superficielle ouverte

Enlever le pansement

Nettoyer avec la solution antiseptique le pourtour de la lésion à prélever afin d'éliminer la flore commensale.

Débarrasser la plaie des souillures superficielles avec des compresses stériles humidifiées avec de l'eau physiologique

Procéder à l'écouvillonnage de la lésion en essayant de prélever les sécrétions les plus purulentes et en évitant de contaminer le prélèvement par des bactéries colonisant les alentours de la lésion.

Procéder à l'identique avec un deuxième écouvillon.

En présence de particules purulentes au bord de la lésion : prélever à la curette.

En cas de traitement antibiotique topique (local) : le traitement sera stoppé 48 heures avant le prélèvement pour éviter les faux résultats.

Le prélèvement doit être acheminé dans 2 heures qui suivent à température ambiante au laboratoire. Si le transport doit durer plus de 2 heures ou que la prise en charge de l'analyse est différée, l'échantillon doit être transporté dans un milieu de transport (**Ramparany, 2016**).

Matériel et méthodes



Figure 2 : Aspects de l'infection du pied diabétique

1.2. Examen direct après colorations

Deux écouvillons sont prélevés, le premier est servi à la coloration de bleu de méthylène et le deuxième pour effectuer la culture.

1.2.1. Coloration au bleu de méthylène

Cet examen permet d'observer la nature des éléments cellulaires, leur état et d'observer éventuellement les bactéries, leurs forme et leurs disposition.

1.2.2. Culture et isolement

Divers milieux sont utilisés qui doivent satisfaire les besoins nutritifs et énergétiques des bactéries à cultiver (Physiologie-Croissance). En pratique, on a utilisé plusieurs milieux solides (gélés) avec une technique particulière d'ensemencement (isolement orthogonal ou en cadran) sur Gélose au Sang Cuit incubée sous CO_2 , Gélose au Sang Frais incubée sous CO_2 , Gélose Chapman, Gélose Hecktoen, incubée en aérobiose 18 à 24 heures. **Voir annexes**

2. Identification

2.1 Coloration de Gram

Coloration de Gram a été réalisée selon la méthode conventionnelle.

Matériel et méthodes

2.2. Identification biochimique pour entérobactéries

2.2.1. Oxiud RapiD ONE

❖ Procédure

Préparation de l'inoculum

-Cultiver les organismes à tester en culture pure et effectuer une coloration de Gram et un test d'oxydase avant de les utiliser dans le système.

-A l'aide d'un porte-coton ou d'une anse d'inoculation, suspendre une quantité suffisante de croissance bactérienne prélevée sur la boîte de culture sur gélose dans le liquide d'inoculation (2ml) RaiD afin d'obtenir une suspension d'une turbidité comparable à l'échelle de 2 McFarland ou équivalent.

-Mélanger les suspensions de façon homogène en utilisant, le cas échéant, un agitateur-mélangeur vortex.

-Prélever éventuellement une pleine anse de la suspension à tester et inoculer une boîte de culture sur gélose pour en vérifier la pureté et effectuer tout test supplémentaire.

-Incuber la boîte de culture pendant 18 à 24 heures à une température comprise entre 35 et 37°C (**Murray *et al.*, 2007**).

Inoculation des plaquettes RapiD ONE

-Retirer la membrane de la plaquette recouvrant le port d'inoculation en tirant vers le haut et vers la gauche la languette portant la mention « peel to inoculate »

-A l'aide d'une pipette, transférer doucement l'intégralité du contenu du tube de liquide d'inoculation dans l'angle inférieur droit de la plaquette. Reboucher le port d'inoculation en remettant en place la languette précédemment retirée.

-Après avoir ajouté la suspension, tout en maintenant la plaquette en contact avec une surface plane, écarter la plaquette des cavités réactives en plaçant à un angle d'environ 45 degrés.

-Alors qu'elle est toujours penchée, agiter doucement la plaquette pour obtenir une distribution homogène de l'inoculum le long des déflecteurs arrières.

-Tout en stabilisant la plaquette en position horizontale, faire basculer doucement la plaquette vers les cavités réactives jusqu'à ce que l'inoculum s'y écoule depuis les déflecteurs. Tout l'inoculum doit s'évacuer de la partie arrière de la plaquette.

-Remettre la plaquette en position horizontale (**Murray *et al.*, 2007**).

Matériel et méthodes

Incubation des plaquettes RapiD ONE

Mettre à incuber les plaquettes inoculées entre 35 et 37°C dans un incubateur sans CO₂ pendant 4 heures. Pour faciliter la manipulation, les plaquettes peuvent être mises à incuber dans les boîtes d'incubation en aggloméré fournies avec le kit (Murray *et al.*, 2007).

Evaluation de plaquettes RapiD ONE

Les plaquettes RapiD ONE contiennent 18 cavités réactives permettant d'enregistrer 19 résultats de tests. La cavité 18 est fonctionnelle ; elle peut accueillir deux tests différents

Les tests bi-fonctionnels sont interprétés une première fois avant l'ajout de réactif, ce qui donne un premier résultat, puis la même cavité est examinée à nouveau après l'ajout de réactif pour obtenir un second résultat. Un cadre dessiné autour des cavités 15 à 17 indique quels sont les tests nécessitant le réactif RapiD ONE. Le test bi-fonctionnel 18, qui utilise le réactif spot indol RapiD ONE, est indiqué par un cadre tracé autour du test nécessitant le réactif.

-Tout en maintenant fermement la plaquette RapiD ONE sur la paillasse, retirer la membrane recouvrant les cavités réactives en tirant vers le haut et vers la gauche la languette située en bas à droite.

-Ajouter deux gouttes de réactif RapiD ONE dans la cavité 15 (PRO) à 17 (PYR).

-Lire et interpréter les résultats des cavités 1 urée (URE) à 18(ADON), de gauche à droite, conformément au guide d'interprétation. consigner les résultats dans la case du formulaire prévu à cet effet, en utilisant le code indiqué au-dessus de la barre pour les tests bi-fonctionnels.

- Ajouter deux gouttes de réactif spot indol RapiD ONE dans la cavité n°18(ADON/IND)

-Patienter au moins 10 secondes et au plus 2 min pour permettre le développement de la couleur

-Evaluer le résultat de la cavité n°18 (IND). Consigner les résultats dans la case prévue à cet effet sur le formulaire de rapport.

-Identifier le microcode obtenu sur le formulaire de rapport à l'aide ERIC (Murray *et al.*, 2007).

❖ Lecture

Voir annexes.

Matériel et méthodes

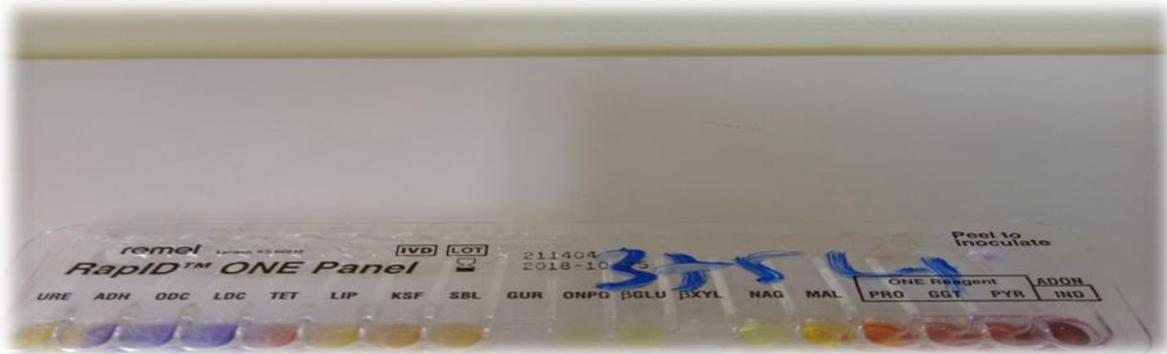


Figure 3 : Galerie Oxoid Rapid One

2.2.2. Galerie API 20^E

Dans notre étude nous avons également utilisé les galeries API 20^E

Préparation de la galerie API 20^E selon la méthode conventionnelle. (Voir annexes)



Figure 4 : Galerie API 20^E

3. Tests complémentaire

3.1. Recherche de la Catalase

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), produit toxique du métabolisme aérobie de nombreuses bactéries, en H₂O et 1/2 O₂.



La recherche de la catalase est un test fondamental pour l'identification des bactéries à Gram positif

Matériel et méthodes

❖ Technique en tube à hémolyse

On dépose quelques colonies de la souche à tester dans un tube à hémolyse contenant 0,5 à 1 ml d'eau oxygénée, sur la paroi du tube, à la limite de l'eau oxygénée

❖ Résultat

-Dégagement gazeux : Production d'O₂ provenant de la dégradation d'H₂O₂, souche catalase positive.

-Absence de dégagement gazeux : Absence de production d'O₂ provenant de la dégradation d'H₂O₂, souche catalase négative.



Figure 5 : Test de la catalase

3.2. Test d'oxydase

La recherche d'oxydase est une technique d'identification en bactériologie concernant les bactéries à Gram négatif : la détection de l'enzyme oxydase permet d'orienter la recherche vers les genres *Pseudomonas* et vers la famille Vibrionaceae.

❖ Principe

Le test consiste à mettre en évidence la capacité que possède la bactérie à oxyder un réactif incolore (la NN-diméthyl-paraphénylène diamine) en un dérivé rose violacé.

❖ Technique

- Placer un morceau de papier imprégné de la NN-diméthyl-paraphénylène diamine sur une lame à l'aide d'une pince flambée
- Avec une pipette Pasteur prélever une colonie sur milieu solide et la déposer doucement sur le papier

❖ Résultats

- Si la colonie prend une teinte rose, violette, le germe possède une oxydase : le test est positif.
- Si la colonie reste incolore, le germe ne possède pas d'oxydase, le test est négatif.

Matériel et méthodes



Figure 6 : Test de l'oxydase

3.3. Test de coagulase

Ce test est réalisé pour l'identification de *Staphylococcus aureus* (Guillaume, 2004).

❖ Technique

-Dans un tube à hémolyse stérile, introduire 0,5 ml de plasma oxalaté + 0,5 ml d'une culture de 18 h de la souche à étudier.

-Placer le mélange à 37°C.

-Des lectures doivent être effectuées toutes les heures au moins pendant les cinq premières heures (Guillaume, 2004).

❖ Lecture

- Coagulation du plasma => Coagulase positive => *Staphylococcus aureus*.

- Pas de coagulation du plasma => Coagulase négative => *Staphylococcus* à coagulase négative (Guillaume, 2004).



Figure 7 : Test de la coagulase

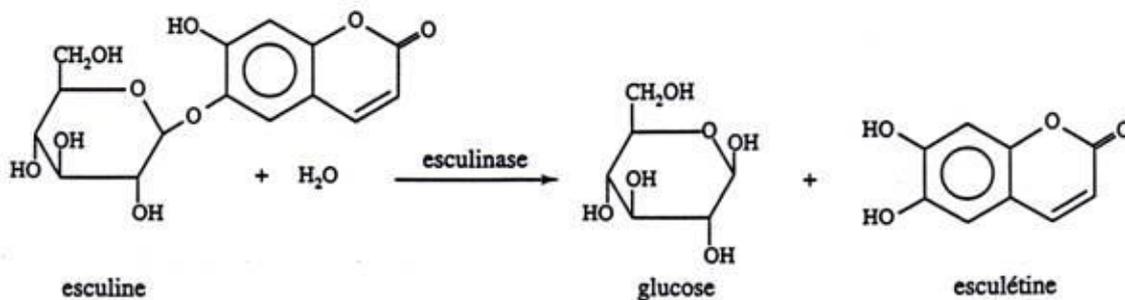
Matériel et méthodes

3.4. Test de l'esculine

La gélose bile-esculine est un milieu destiné à l'isolement sélectif et à la différenciation des Streptocoques du groupe D et des *Enterococcus* qui tolèrent la bile et hydrolysent l'esculine en glucose et esculetine (esculetine + citrate de fer : coloration noire).

La bile inhibe les bactéries à Gram positif autres que les Streptocoques du groupe D et les *Enterococcus*.

L'azide de sodium éventuellement présent inhibe les bactéries à Gram négatif.



❖ Technique

Ensemencer la gélose inclinée esculine avec 2 gouttes de suspension de la culture à étudier.

Incuber **24h** à 37°C.

❖ Lecture

Culture ou absence de culture

Culture : résistance à la bile, orientation vers les Streptocoques du groupe D et le genre *Enterococcus*.

Absence de culture : sensibilité à la bile, orientation vers d'autres genres bactériens.

- coloration noire : hydrolyse de l'esculine et production d'esculetine qui réagit avec le fer

- absence de coloration noire : absence de production d'esculetine donc souche esculinase négative.

Matériel et méthodes



Figure 8 : Test de l'esculine

3.5. Le milieu TSI

❖ Principe

La gélose TSI est utilisée pour l'identification présomptive des entérobactéries basée sur la fermentation du glucose, du lactose, du saccharose et sur la production de gaz et d' H_2S .

❖ Technique

Effectuer des subcultures à partir de colonies suspectes par piqûre centrale et stries sur la pente de la gélose. Laisser les bouchons légèrement dévissés. Incuber 24 à 48 heures à 35-37°C.

❖ Lecture

Le milieu de départ est translucide et rouge.

Rouge : pas de fermentation, la bactérie est aérobie

Jaune : une fermentation s'est produite ; de l'acide a été produit, la bactérie est anaérobie facultative.

Gaz formé : dû à une fermentation

Couleur noire : H_2S a été produit.

Matériel et méthodes



Figure 9 : Test de TSI

3.6. Antibiogramme par diffusion des disques

L'antibiogramme est réalisé selon la méthode préconisée par le CLSI (Clinical Laboratory Standardisation Institute).

❖ Milieu pour antibiogramme

Le milieu Mueller- Hinton (MH) doit être coulé en boîte de Pétri sur une épaisseur de 4 mm.

Les géloses doivent être séchées avant l'emploi (**Rahal et al., 2014**).

❖ Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture pure de 18 à 24 h sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. Dans le cas de *Streptococcus Spp.* et d'*Haemophilus spp.* Utiliser un écouvillon pour prélever plus facilement les colonies bactériennes.

Bien décharger l'anse ou l'écouvillon dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.

Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 MF ou à une D.O de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm. L'utilisation d'un densitomètre est fortement souhaitable (**Rahal et al., 2014**).

❖ Ensemencement

-Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum.

-L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum.

-Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.

Matériel et méthodes

-Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

-Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois (**Rahal et al., 2014**).

❖ Application des disques d'antibiotiques

-Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotique sur une boîte de Pétri de 90 mm.

-Pour les bactéries exigeantes (*Streptococcus spp.*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus spp*), ne pas mettre plus de 4 disques par boîte de 90 mm.

-Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces bactériologiques stériles et ne pas déplacer les disques après application (**Rahal et al., 2014**).

❖ Conditions d'incubation

Respecter la température, l'atmosphère et la durée d'incubation recommandée pour chaque bactérie (**Rahal et al., 2014**).

❖ Lecture

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

-Pour les bactéries testées sur Mueller-Hinton simple, les mesures seront prises en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de Pétri fermée.

-Pour les bactéries testées sur Mueller-Hinton au sang, les mesures de diamètre de zones d'inhibition seront prises, boîte de Pétri ouverte et bien éclairée.

-Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes.

-Classer la bactérie dans l'une des catégories Résistant (R), Sensible (S) ou Intermédiaire (I). (**Rahal et al., 2014**).

Matériel et méthodes

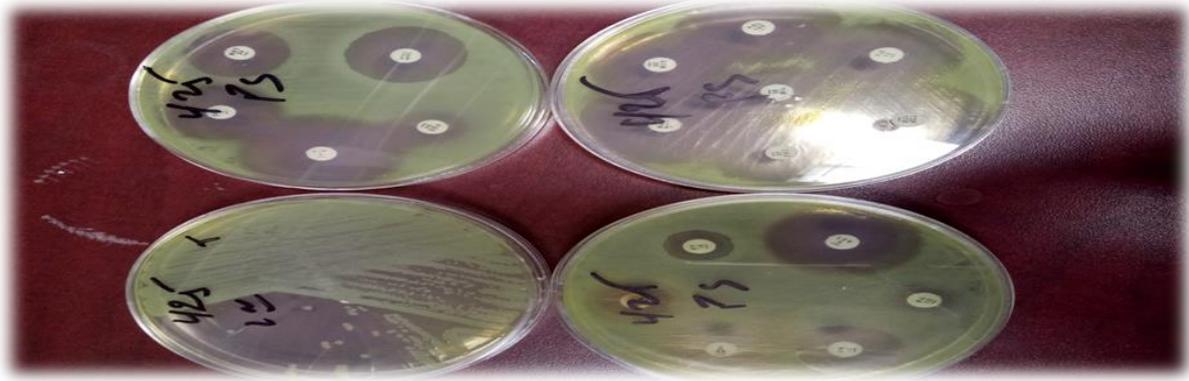


Figure 10: AntibioGramme réalisé pour *Pseudomonas aeruginosa*

4. Méthodes de détection de la BLSE

4.1. Définition d'une BSLE

Les BSLE désignent des enzymes « β -lactamases » produits par les entérobactéries *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter Spp.* Entraînant une diminution de l'activité des céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G) (céfotaxime, céftriaxone, céftazidime ou céftiofur pour les vétérinaires) et des monobactames (aztréonam), mais n'ayant aucune activité vis-à-vis des céphamycines (céfoxitine, moxalactam) ni des carbapénèmes (imipénème) (Rahal *et al.*, 2014).

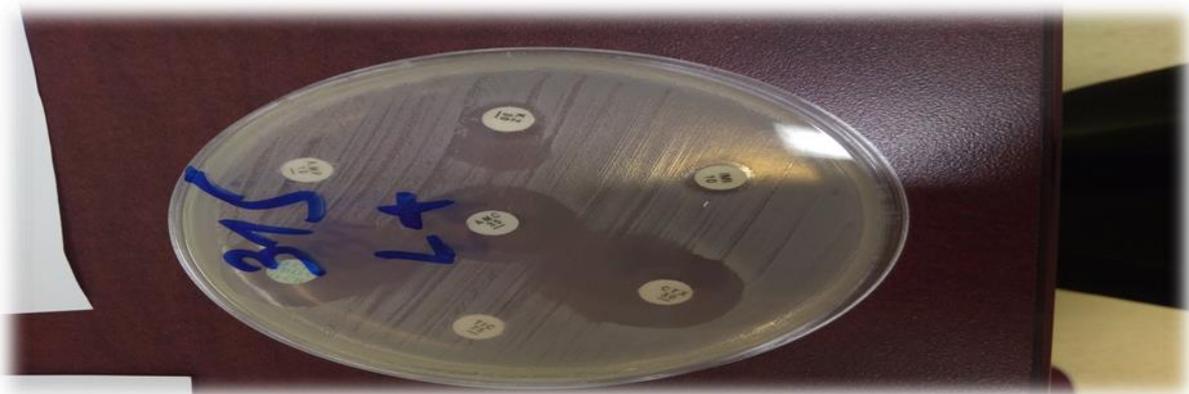


Figure 11 : Aspect en bouchon en champagne des BLSE

4.2. Test de synergie

Les BLSE dérivées des enzymes de classe A (ambler) sont inhibées par les inhibiteurs de β -lactamases (acide clavulanique, sulbactam et tazobactam) (Rahal *et al.*, 2014).

Matériel et méthodes

4.2.1. Chez les entérobactéries

❖ Technique

La recherche de BLSE se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme en déposant un disque d'amoxicilline + acide clavulanique (AMC20/10 μ g) à 30mm centre à centre d'un disque de C3G [CTX (30 μ g)]. Incuber 18H à 35°C.

Le teste de synergie doit être fait selon les mêmes conditions standard de l'antibiogramme en déposant un disque d'AMC à 30mm centre à centre d'un disque de CAZ, CTX ou CRO et ATM (Rahal *et al.*, 2014).

❖ Lecture

La production d'enzyme peut se traduire par l'apparition d'une image de synergie entre les disques :

-AMC et CTX (AMC et TIO)

-AMC et CAZ

-AMC et ATM.



Figure 12 : Test de synergie

4.2.2. *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter Spp.*

La détection est plus difficile en raison de l'association avec d'autres mécanismes de résistance tels : hyperproduction de céphalosporinase (Rahal *et al.*, 2014).

❖ Technique

La recherche de la BLSE se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme en déposant un disque de ticarcilline+acide clavulanique (TCC 75/10 μ g) à 30mm (centre à centre) d'un disque de C3G : céftazidime (CAZ 30 μ g), aztréonam (ATM 30 μ g), céfépime (FEP 30 μ g) (Rahal *et al.*, 2014).

Matériel et méthodes

❖ Incubation

Incuber 18 H à 35°C

❖ Lecture

Le test est positif s'il y a apparition d'une image synergie entre les disques :

-TCC et CAZ

-TCC et ATM

-TCC et FEP (**Rahal *et al.*, 2014**).

Résultats

Résultats

1. Profil clinique

1.1. Répartition des patients selon les tranches d'âge

L'âge moyen de nos patients était de 65 ans.

La répartition des malades, représentée par la figure 13, montre une prédominance des classes d'âge de [60-70[ans et [70-80[ans. Ces classes d'âge correspondent respectivement à 33.56 % et 24.65 % de la population étudiée.

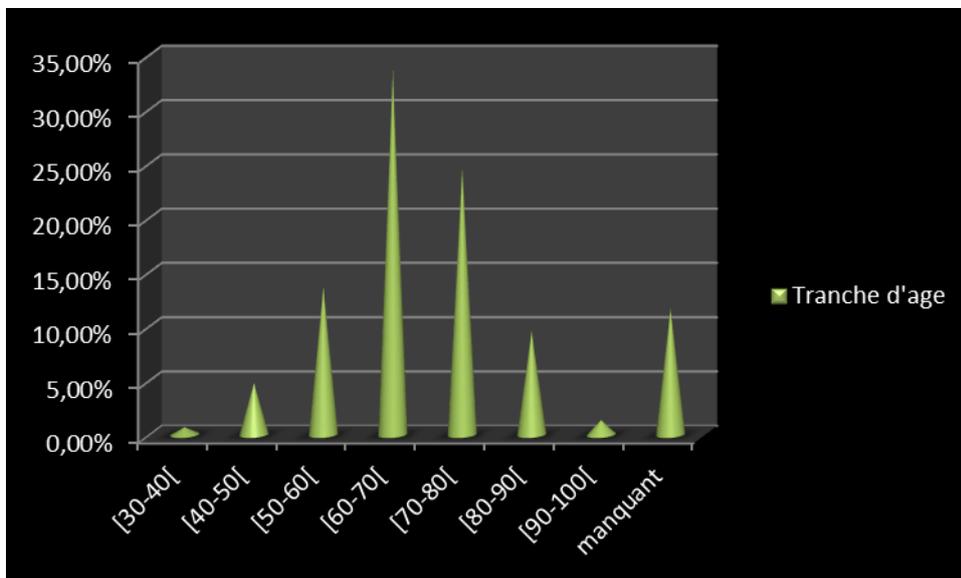


Figure 13 : Répartition des patients selon les tranches d'âge n= 146

1.2. Répartition des patients selon le sexe

La majorité de nos patients sont de sexe masculin, soit 86% contre 14% de sexe féminin.

Le sexe ratio est 5.95.

Résultats

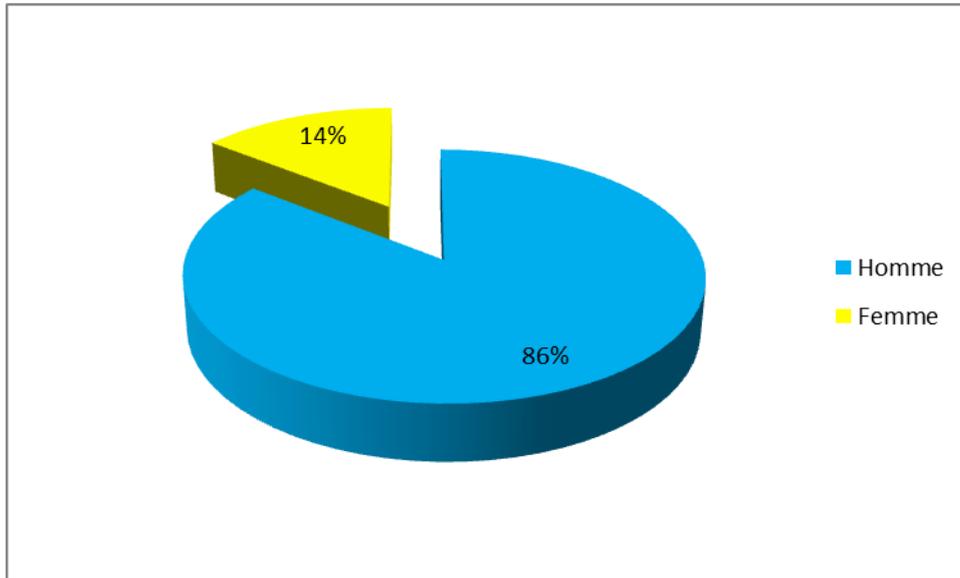


Figure 14: Répartition des patients selon le sexe n= 146

1.3. Répartition selon la durée d'Hospitalisation

La moitié de nos malades étaient hospitalisés pendant une durée médiane d'un mois avec des extrêmes de 4 à 240 jours.

1.4. Répartition selon le type du diabète

Les diabétiques de type 2 représentaient par 54 patients de notre effectif, Contre 11 patients de type 1, avec manque d'information concernant le type de diabète chez 64 patients. 17 dossiers médicaux non documentés regroupés sous manquants.

Résultats

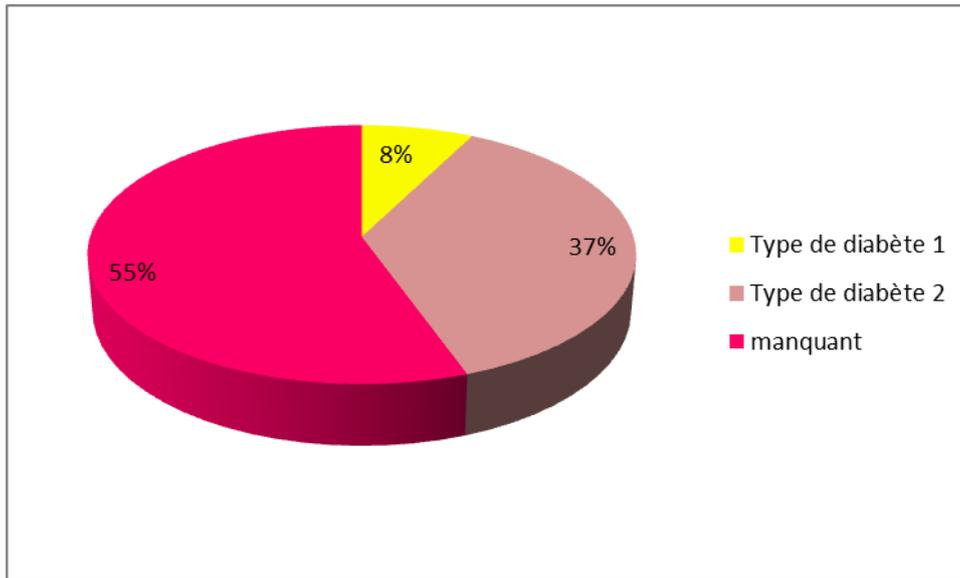


Figure 15 : Répartition des patients selon le type du diabète n= 146

1.5. Répartition selon l'ancienneté du diabète

Les complications dégénératives du diabète font souvent la gravité de cette maladie et elles révèlent surtout d'une évolution prolongée de celle-ci.

Les patients dont l'ancienneté reste inconnue sont les prédominants, suivis de ceux dont l'atteinte par le diabète remonte à [20-25[ans ; suivis par les diabétiques de [10-15[ans.

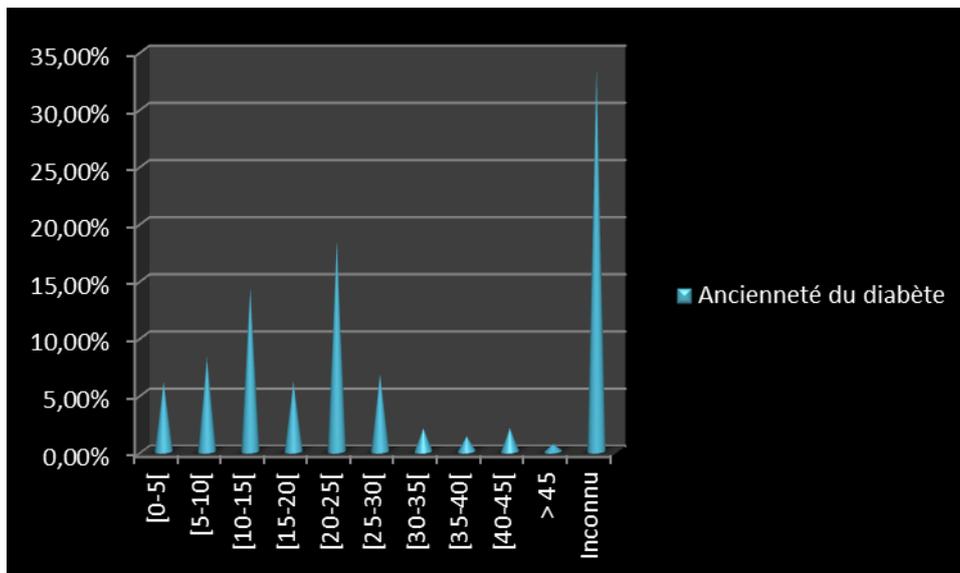


Figure 16 : Répartition des patients selon l'ancienneté du diabète n= 146

Résultats

1.6. Répartition selon le type du traitement médical instauré

Parmi 146 patients 86 étaient sous insuline, 28 patients étaient sous antidiabétiques oraux (ADO), 15 patients étaient sous traitement mixte (Insuline et ADO), alors que 17 patients, leurs dossiers médicaux sont non documentés.

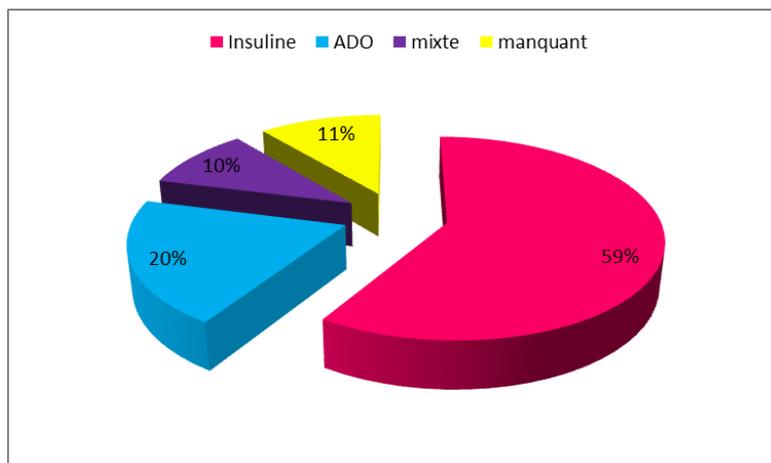


Figure 17 : Répartition des patients selon le type du traitement médical suivi n= 146

1.7. Répartition selon le pied atteint

Dans notre étude la lésion était localisée au niveau du pied droit chez 62 patients alors qu'elle était localisée au niveau du pied gauche chez 46 patients. Il est à noter une atteinte bilatérale chez 9 cas, avec manque d'information concernant le pied atteint chez 12 patients, en plus 17 dossiers médicaux sans documentation regroupés sous inconnus.

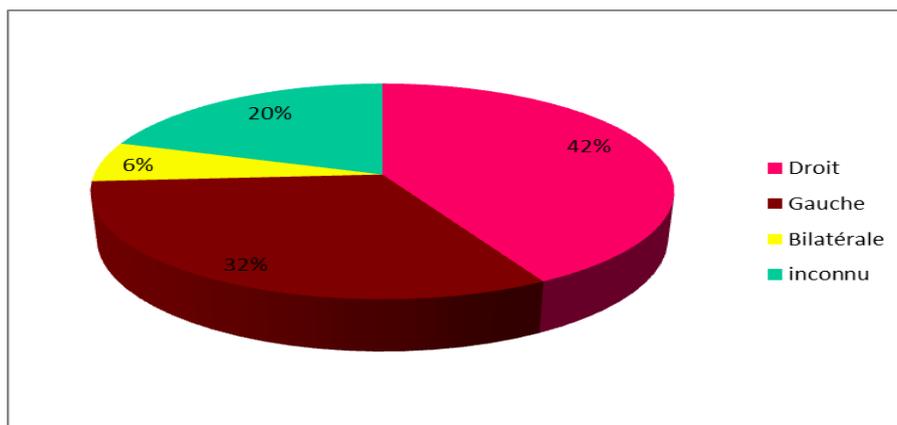


Figure 18 : Répartition selon le pied atteint n= 146

1.8. Répartition des patients selon le type et le siège de la lésion

Le tableau suivant illustre le nombre de cas des différentes localisations des lésions chez nos patients. La majorité des lésions étaient localisées au niveau des orteils et l'avant pied.

Résultats

Tableau 4 : Niveaux des lésions chez les patients

Siège de lésion	Nombre de cas
1^{er} Orteil (gros)	25
2^{ème} Orteil	14
3^{ème} Orteil	10
4^{ème} Orteil	17
5^{ème} Orteil	15
Moignon (pied amputé)	17
Avant pied	25
Espace inter	1
Plante du pied	7
Dos du pied	9
Mal perforant plantaire	10
Talon	10
Jambe	3
Face dorsale	2

1.9. Répartition selon la présence d'antécédent d'amputation

Sur 146 patients 52 ont eu au moins un antécédent d'amputation, contre 74 patients non amputés ; avec manque d'information de 3 cas. 17 dossiers médicaux non documentés.

Résultats

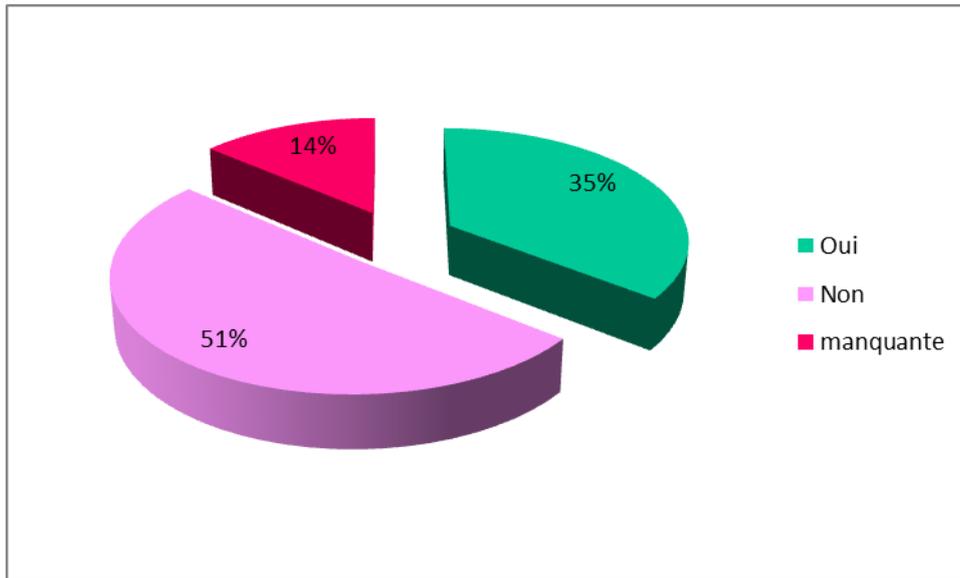


Figure 19 : Répartition des patients selon la présence d'antécédent d'amputation n= 146

1.10. Répartitions des patients selon le type et nature d'amputation

Parmi 146 patient 33 ont subi une amputation majeure (amputation de jambe et cuisse), alors que 19 patients ont subi une amputation mineure. 77 cas présentés un manque d'information, en plus de 17 dossiers non documentés l'ensemble (94 cas) a été regroupés sous la nature d'amputation manquante équivalent à 64,38%.

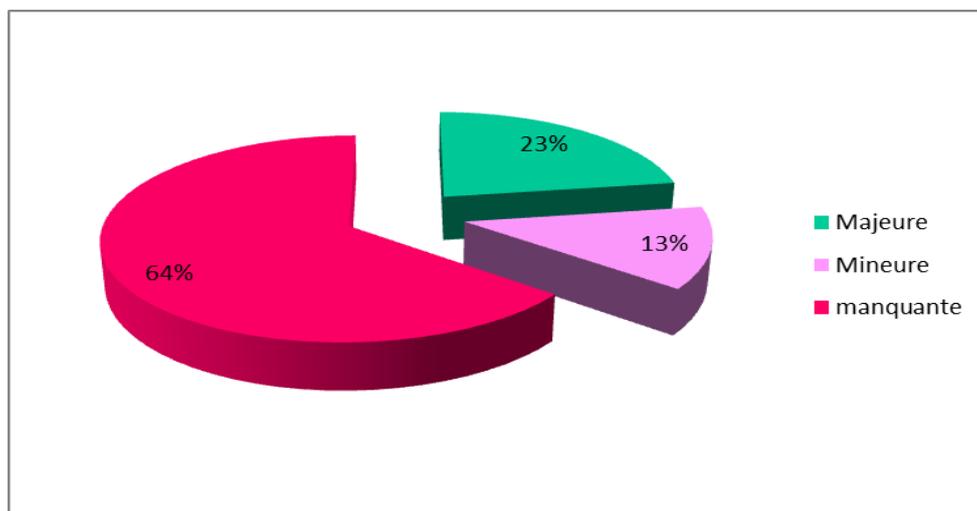


Figure 20 : Répartitions des patients selon le type d'amputation n= 146

Résultats

2. Profil bactériologique

2.1. Répartition des cultures

Sur 278 prélèvements réalisés, 197(70,86%) sont positifs et 15(5,39%) prélèvements sont négatifs.

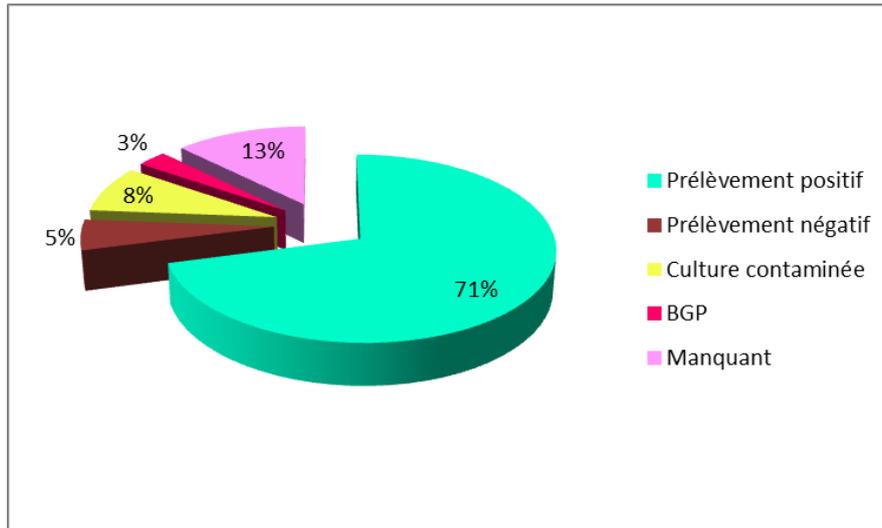


Figure 21 : Répartition des cultures n= 278

2.2. Répartition des prélèvements selon le caractère poly ou mono-bactérien de la flore identifiée

Parmi 197 prélèvements positifs ; 142 de nos prélèvements (72,08%) sont mono-bactériens contre 55 sont poly-bactériens.

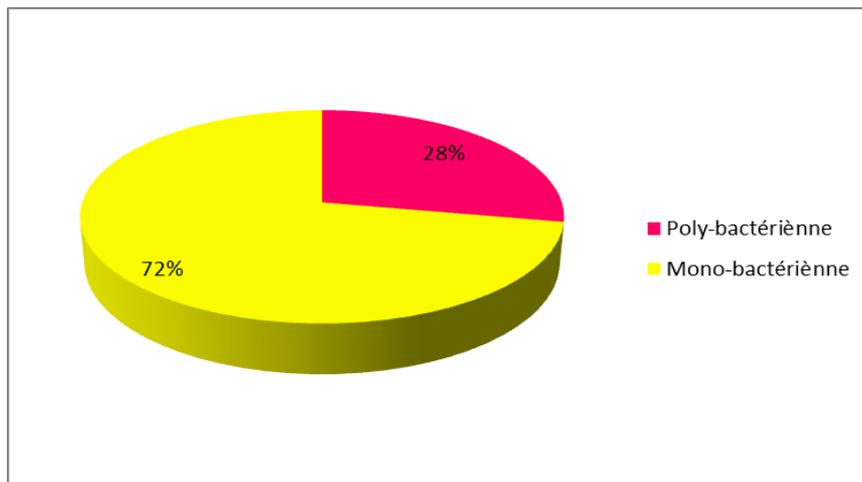


Figure 22: Répartition selon le caractère poly ou mono-bactérien de la flore identifiée

n = 197

Résultats

2.3. Répartition des souches en fonction de la nature de la flore bactérienne identifiée

Parmi 273 germes identifiés ; les bacilles à Gram négatif (BGN) prédominaient avec 181 (66.30%) contre 92 (33.69%) cocci à Gram Positif.

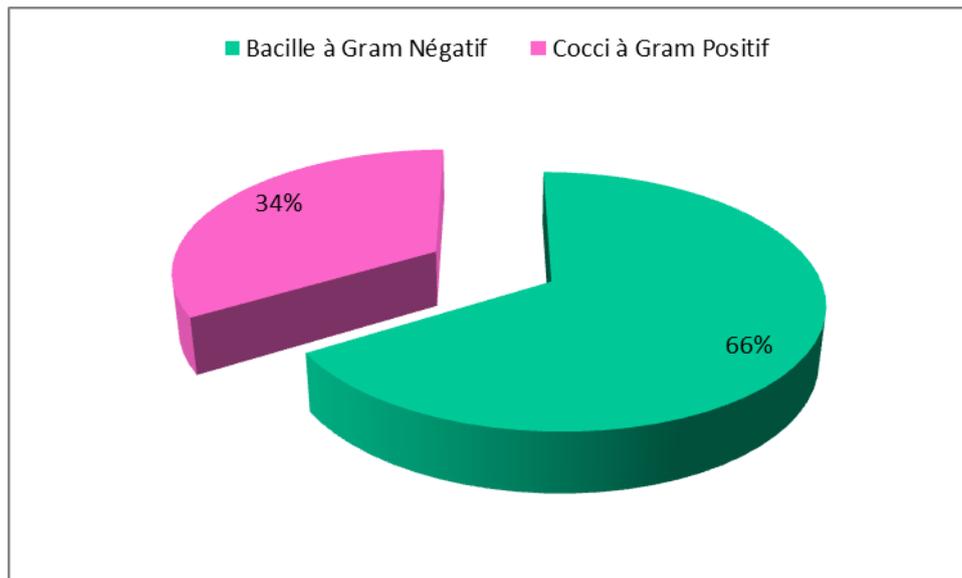


Figure 23 : Répartition selon la nature de la flore bactérienne identifiée n= 273

2.4. Répartition des prélèvements du pied diabétique en fonction des souches bactériennes identifiées

Le tableau ci-dessous montre la répartition des principales souches bactériennes par ordre décroissant. Chez les bacilles à Gram négatif, *Proteus mirabilis* est en tête de liste avec 14,65%, suivi d'*Escherichia coli* avec 9,52%. Les cocci à Gram positif sont prédominés par *Staphylococcus aureus* à 17,94%, suivi d'*Enterococcus Spp* avec 9,15%

Tableau 5 : Répartition des prélèvements du pied diabétique en fonction des souches bactériennes n =273

Résultats

Forme et Gram	Souche bactérienne	Nombre et Pourcentage
Bacilles Gram Négatif	<i>Proteus mirabilis</i>	40 (14,65%)
	<i>Escherichia coli</i>	26 (9,52%)
	<i>Proteus vulgaris</i>	21 (7,69%)
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	20 (7,32%)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16 (5,86%)
	<i>Enterobacter cloacae</i>	15 (5,49%)
	<i>Morganella morganii</i>	9 (3,29%)
	<i>Citrobacter freundii</i>	6 (2,19%)
	<i>Serratia marcescens</i>	4 (1,46%)
	<i>Citrobacter diversus</i>	4 (1,46%)
	<i>Enterobacter spp.</i>	3 (1,09%)
	<i>Providencia rettgeri</i>	3 (1,09%)
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	2 (0,73%)
	<i>Proteus spp.</i>	2 (0,73%)
	<i>Citrobacter spp.</i>	2 (0,73%)
	<i>Acinetobacter spp.</i>	2 (0,73%)
	<i>Serratia liquefaciens</i>	2 (0,73%)
	Entérobactérie	2 (0,73%)
	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	1 (0,36%)
	<i>Providencia stuartii</i>	1 (0,36%)
Cocci Gram Positif	<i>Staphylococcus aureus</i>	49 (17,94%)
	<i>Enterococcus spp.</i>	25 (9,15%)
	<i>Staphylococcus Coagulase Négatif</i>	15 (5,49%)
	<i>Streptococcus groupe B</i>	2 (0,73%)
	<i>Streptococcus Non Groupable</i>	1 (0,36%)
Total		273 (100%)

2.5. Profil de résistance des *Staphylococcus aureus*

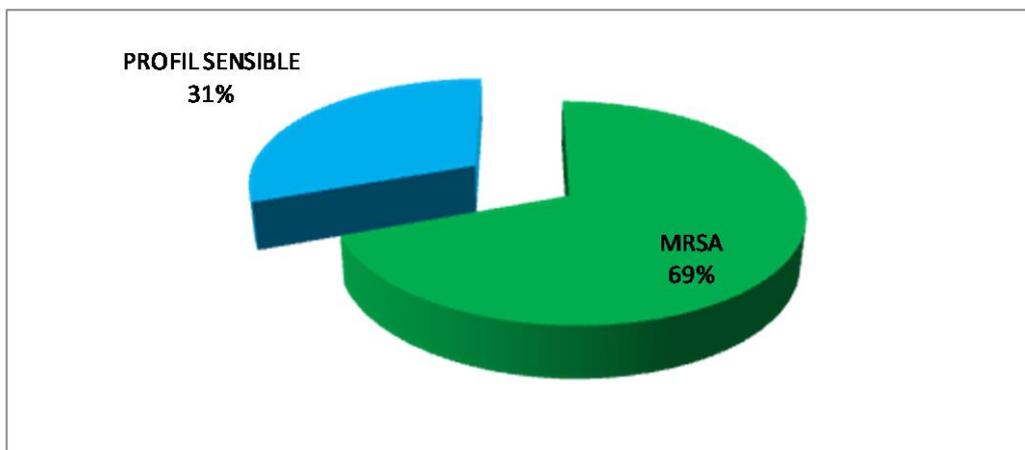


Figure 24 : Profil de résistance des *staphylococcus aureus* n= 49

Sur l'ensemble des souches de *staphylococcus aureus* isolées, (49) 69% présentaient le phénotype de résistance MRSA (*staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline).

Résultats

2.6. Profil de résistance des bacilles non fermentaires

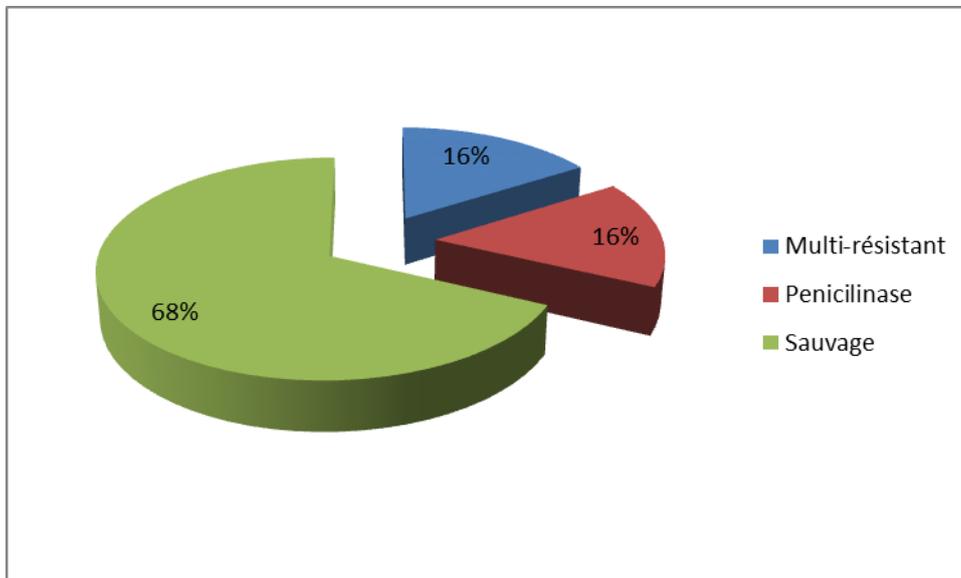


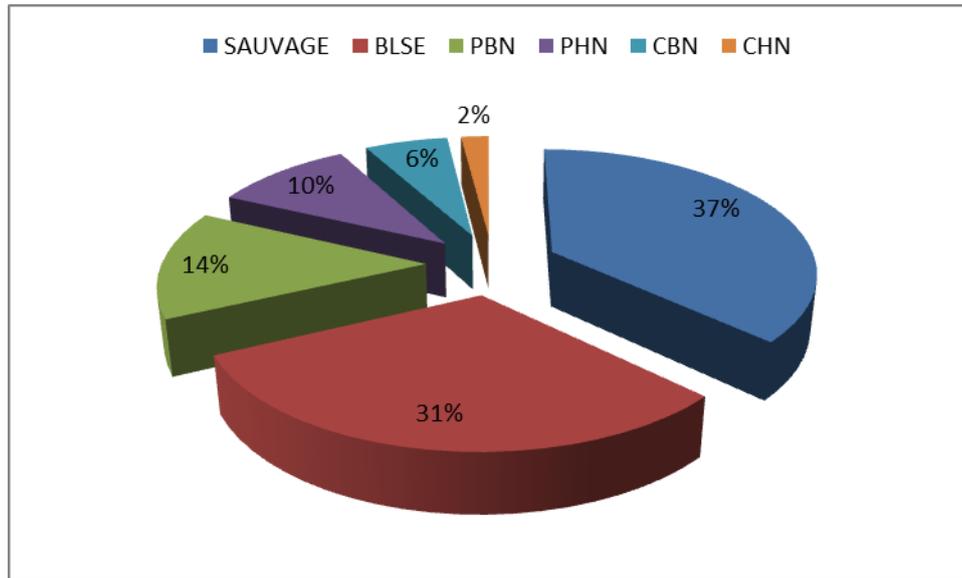
Figure 25 : Profil de résistance des bacilles non fermentaires n= 19

Sur l'ensemble des isolats des bacilles non fermentaires : 68% présentent un phénotype sensible, les souches pénicillinases et multi résistantes sont à part égale (16%).

2.7. Profil de résistance des entérobactéries aux β -lactamines

L'analyse phénotypique des souches des entérobactéries isolées montre six phénotypes de résistance aux β -lactamines dont 37 % de souches sauvages sont représentées. Les BLSE dominant dans 31% des cas, suivi de celui de PBN dans 14% ,10% du PHN ,6% de CBN, 2% de CHN.

Résultats



BLSE= Béta lactames à spectre élargie

CHN= Céphalosporinase de haut niveau

CBN= Céphalosporinase de bas niveau

PBN= Pénicillinase de bas niveau

PHN= Pénicillinase de haut niveau

Figure 26 : Profil de résistance des entérobactéries aux β -lactamines n= 162

3. Identification macroscopique

L'aspect macroscopique des colonies observées sur milieux de culture :

- *Proteus mirabilis* et *Proteus vulgaris* peuvent envahir la surface du milieu en formant des ondes concentriques (culture en nappe) à partir du point d'inoculation, présentent une odeur désagréable caractéristique.
- *Klebsiella pneumoniae* et *Klebsiella oxytoca* : grosse colonies lactose positive, bombées, muqueuse, lissent parfois filante à l'anse de platines d'un diamètre de 3 à 4 mm en 18 à 24H à 37°C
- *E coli* : les colonies sont de forme circulaire de taille irrégulière de couleur blanc opaque l'élévation est bossue surface brillante la consistance est gluante.
- *Streptococcus* : caractère de culture
 - Aspect sur gélose ordinant : petit colonies translucides aux diamètres variables
 - Sur gélose au sang : la présence de colonies de certains streptococcus Se traduit par un halo : c'est le caractère hémolytique (2 types)
 - Alpha : halo verdâtre
 - Beta : halo claire.

Résultats

- *Staphylococcus* : donne sur gélose des colonies rondes lisses blanche (*staphylococcus* blanc) ou doré des colonies opaques atteignent 2 à 3 mm de diamètre.
- *Pseudomonas aeruginosa* : les colonies sont facilement distinctives grâce à la production de la pyocyanine, un pigment bleu-vert diffusible dans le milieu extracellulaire

4. Identification microscopique

Après coloration, l'observation sous microscope permet d'obtenir les résultats suivants :

- *Citrobacter* : bacilles droits
- *Proteus* : bacille à Gram négative de 2 à 3µm de long sur 0.6 de large très polymorphe, ils peuvent prendre des formes longues et filamenteuses ou petits bacilles droits dans des cultures jeunes.
- *Staphylococcus* : présente comme des cocci de 0.1 à 1µm isolé, en diplocoque ou en amas (grappe de raisin) dépourvue de spore .
- *Klebsiella pneumoniae*: dimension comparable à celle d'E coli (0.3 à 10µm de diamètre sur 0.6 à 6µm de longueur) très souvent encapsulé.
- *Pseudomonas aerogenosa* : bacille à Gram négative de forme bâtonnet de 0.5 à 0.8µm de diamètre sur 1 à 3µm de long, dépourvue de spore.
- *Enterococcus* : sont des cocci Gram positive se prouvent sous forme de chainettes
- *Streptococcus* : cocci Gram positive de 0.5 à 1µm de diamètre présentant un groupement en diplocoque (2 coques) ou en chainettes de longueur variable dépourvue de spore et rarement capsulé
- *Acinetobacter* : bacille cocoïde généralement en diplocoque ou diplobacille à Gram négative.
- *E.coli* : bacilles à Gram négatif droits à bout arrondi, mesurant 0.3 à 1 µm de diamètre sur 1 à 6 µm de long, non sporulés, parfois capsulés, ils possèdent une ciliature péritriche pour les espèces mobiles.
- *Corynebacterium* : bacilles a Gram positif, immobile, sans spore ni capsule. Il est légèrement incurvé, avec des extrémités arrondies, en masse et donne des groupements caractéristiques en paquets d'épingles, en palissades.
- *Pseudomonas aeruginosa* : bacille a gram négatif, non sporulant de forme droite ou légèrement courbée. Il mesure de 1 à 5 µm de long et de 0.5 à 1 µm de large, mobile grâce à la présence d'un flagelle monotriche polaire.

5. Identification biochimique

5.1 Test de l'oxydase

En fonction de l'apparition de la coloration on a :

Résultats

Enterobactéries (oxydase négative).

Acinetobacter (oxydase négative).

Pseudomonas aeruginosa (oxydase positive).

5.2 Test de catalase

Enterobactérie (catalase positive).

Staphylococcus aureus (catalase positive).

Streptococcus Spp (catalase négative).

5.3 Test de caogulase

Staphylococcus aureus : (coagulase positive).

Staphylococcus à coagulase négative (blanc) : (coagulase négative)

5.4 Test de l'esculine

Enterococcus (esculine positive).

5.5 Milieu T.S.I

Bacilles non fermentaires (*Pseudomonas /Acinetobacter*) **pas de fermentation des sucres** (glucose, lactose, saccharose)

Entérobactéries **fermentation des sucres** (glucose, lactose, saccharose) **avec production de gaz et de l'H₂S** chez certaines espèces.

Tableau 6 : Identification présumptive des entérobactéries basée sur la fermentation des sucres

la souche	Culot	Pente	Gaz	Production d'H ₂ S
<i>E.coli</i>	Jaune	Jaune	+	-
<i>P.mirabilis</i>	Jaune	/	+	+
<i>P.vulgaris</i>	Jaune	Jaune	+	+
<i>K.pneumoniae</i>	Jaune	Jaune	+	-

Résultats

6. Galeries biochimiques

L'étude des réactions biochimiques nous permet l'identification de différentes espèces

Tableau 7 : caractère biochimique des entérobactéries

	Mobilité	LACtose	ONPG	ADH	LDC	ODC	CITrate (Simmons)	H ₂ S	URÉE (uréase)	PDA ou TDA	INDole	VP	GéLatimase	MANititol	SACcharose	RM	DNAse
<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	(-)	(+)	V	-	-	-	-	+	-	-	+	V	+	-
<i>Citrobacter freundii</i>	+	V	+	V	-	(-)	+	(+)	-	-	(-)	-	-	+	V	+	-
<i>Citrobacter diversus</i>	+	V	+	V	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	V	+	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	(-)	-
<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	+	+	-	+	-	+	-	(+)	-	+	+	-	+	+	(-)	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	+	(+)	+	+	-	+	+	-	V	-	-	+	-	+	+	(-)	-
<i>Serratia marcescens</i>	+	-	+	-	+	+	+	-	(-)	-	-	+	(+)	+	+	(-)	+
<i>Proteus mirabilis</i>	+	-	-	-	-	+	V	+	+	+	-	V	(+)	-	(-)	+	V
<i>Proteus vulgaris</i>	+	-	-	-	-	-	(-)	+	+	+	+	-	(+)	-	+	+	(+)
<i>Providencia rettgeri</i>	(+)	(-)	(-)	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	(-)	(+)	-
<i>Providencia stuartii</i>	(+)	-	(-)	-	-	-	(+)	-	V	+	+	-	-	(-)	V	+	(-)
<i>Providencia alcalifaciens</i>	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	(-)	+	-
<i>Morganella morganii</i>	+	-	(-)	-	-	+	-	(-)	+	+	+	-	-	-	-	+	-

Dans notre étude 197 antibiogrammes ont été analysés à partir d'un travail de pailleuse de deux mois et de la consultation des registres du premier février au 31 mars de l'année en cours.

7. Profil de résistance des entérobactéries

D'une façon générale nous assistons à des taux de résistance élevée pour les β -lactamines ampicilline (AMP) 88.88%, la TIC 59.87%, le céfotaxime (CTX) (marqueur de BLSE) 30.36%, le céfazolin (CZ) 72.83%, amoxicilline+ acide clavulanique (AMC) 73.45%), 1.34% à l'IPM. Pour les aminosides 32.09% résistent à la gentamycine (GEN). Concernant les fluoroquinolones les entérobactéries résistent à la ciprofloxacine (CIP) dans 29.62% de cas et 51.85% sont résistants à la colistine (CT).

Résultats

Tableau 8 : Profil de résistance des entérobactéries n= 162

ATB	R + I		S	
	Nombre	(%)	nombre	(%)
AMP	144	88,88%	18	11,11%
AMC	119	73.45%	43	26.54%
TIC	97	59.87%	65	40,12%
CZ	118	72.83%	44	27.16%
CTX	50	30,86%	112	69,13%
IPM	2	1.34%	160	98.76%
GEN	52	32.09%	110	67.90%
CIP	48	29.62%	114	70.37%
CT	84	51.85%	78	48.14%

7.1. Profil de résistance des souches isolées de *Proteus mirabilis*

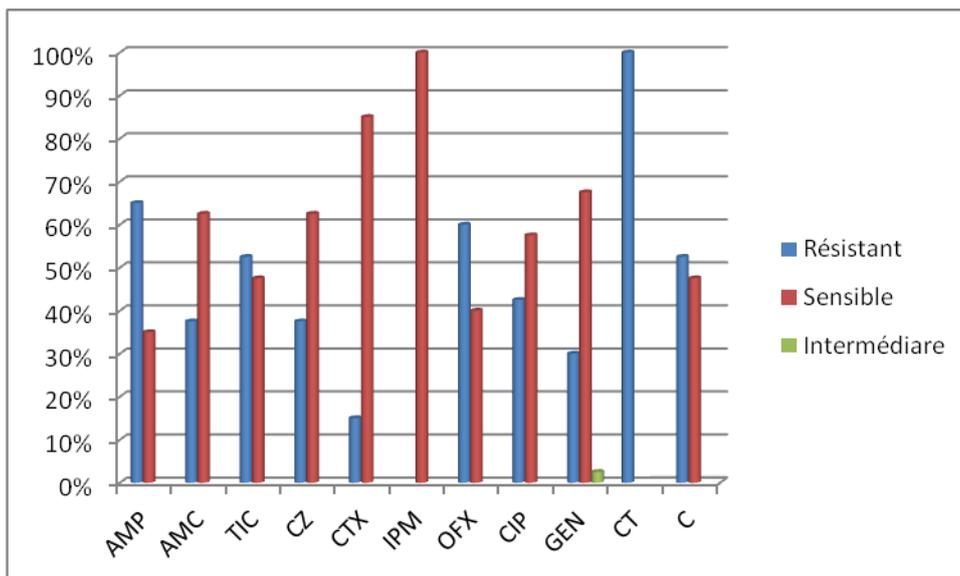


Figure 27 : Profil de résistance de *Proteus mirabilis* n= 40

Les souches de *Proteus mirabilis* présentent le taux d'isolement le plus important. Une résistance naturelle totale à 100% à la CT est observée, un taux de résistance de 65% à

Résultats

l'AMP, TIC 52.5%, 37.5% AMC et CZ, 30% à la GEN, 60% à OFX, 42.50% à la CIP, 52.5% pour le C. Une faible résistance au CTX à 15%. L'IPM garde une activité totale sur les souches de *Proteus mirabilis*.

7.2. Profil de résistance des souches d'*E.coli*

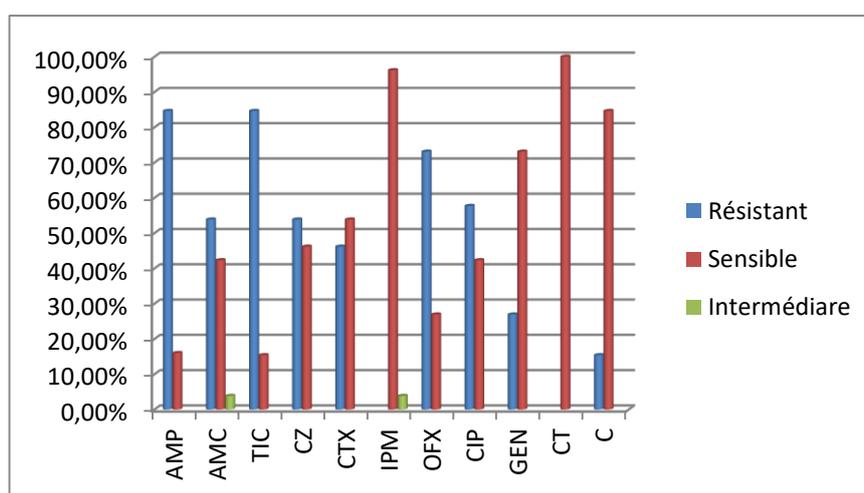


Figure 28 : Profil de résistance d'*E.coli* n= 26

La figure ci-dessus indique que les souches identifiées dans notre étude présentent un taux de résistance élevé à l'AMP 84.61%, TIC à 84.61%, un taux de résistance assez faible pour AMC 53.84%, CTX 46.15%. Pour les fluoroquinolones 73.09% des souches isolées sont résistantes à l'ofloxacin (OFX) et 57.09% à la CIP. Une sensibilité élevée est notée pour la GEN 73.07%, CT 100%, le chloramphénicol(C) 84.61%, et enfin IPM 96.15%.

7.3. Profil de résistance des souches de *Proteus vulgaris*

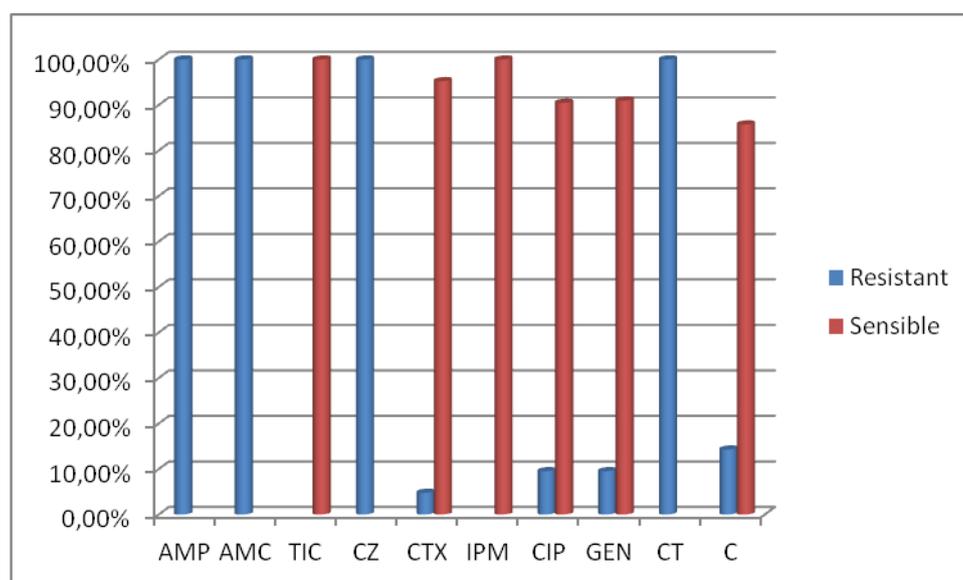


Figure 29 : Profil de résistance de *Proteus vulgaris* n= 21

Résultats

La figure ci-dessus montre que les *Protus vulgaris* présentent une résistance totale à l'AMP, CZ, AMC, CT (résistance naturelle). Une sensibilité élevée pour la CTX 95.23%, GEN 90.47%, CIP 90.47%, C 85.71%, et une sensibilité totale à l'IPM et TIC.

7.4. Profil de résistance des souches de *Klebsiella pneumoniae*

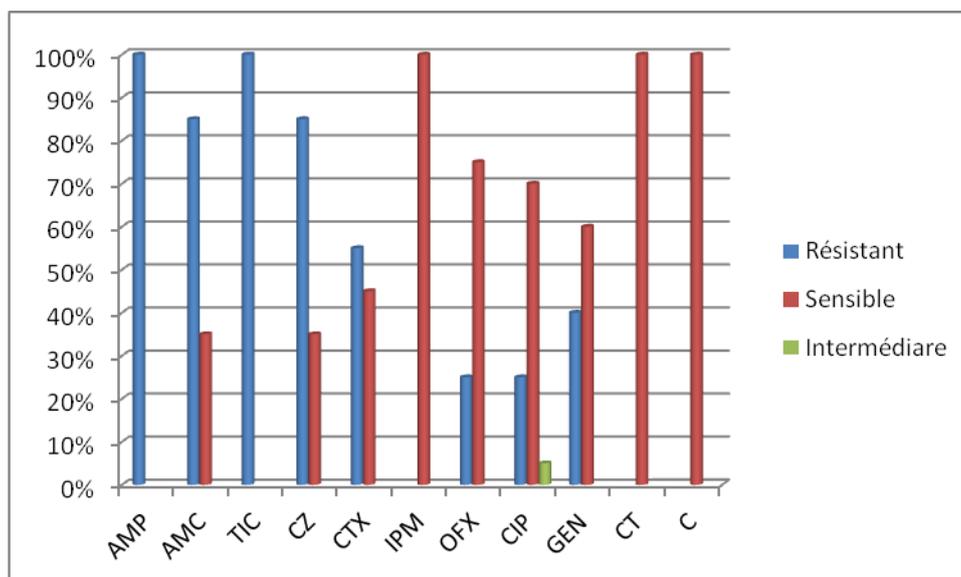


Figure 30 : Profil de résistance de *Klebsiella pneumoniae* n= 20

La figure ci-dessus montre une résistance totale 100% à l'AMP et la TIC (résistance naturelle). Un taux de résistance élevé de 85% pour l'AMC et CZ, CTX à 55% (marqueur de BLSE). On note également une sensibilité élevée vis-à-vis de l'OFX 75%, la CIP 70%, GEN 60% et une résistance nulle pour l'IPM, C et la CT.

7.5. Profil de résistance des souches isolées d'*Enterobacter cloacae*

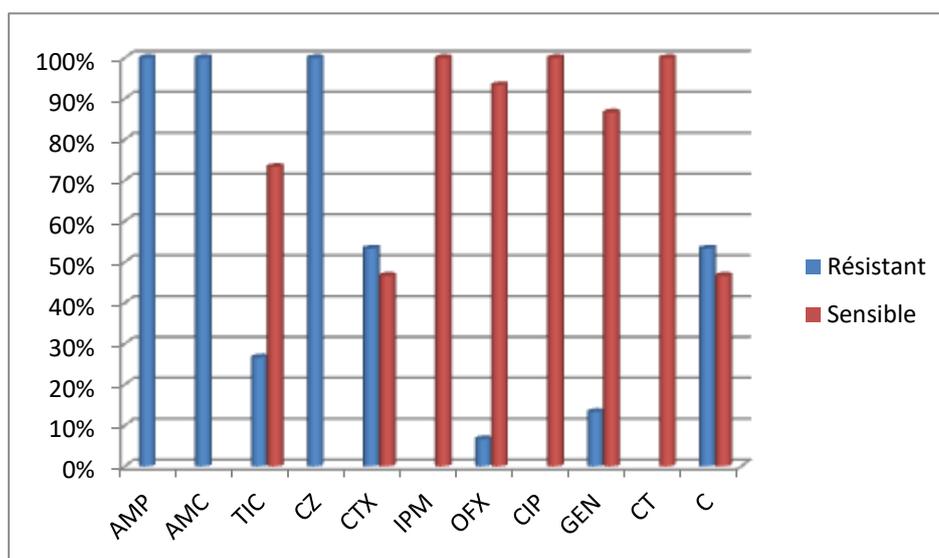


Figure 31 : Profil de résistance d'*Enterobacter cloacae* n= 15

Résultats

La figure ci-dessus indique que les souches d'*enterobacter cloacae* résistent à 100% l'AMP, CZ et l'AMC, 53.33% pour Le C et la CTX (marqueur de BLSE). Sensible à 100% à la CT, IPM. En revanche elles présentent une grande sensibilité vis-à-vis de l'OFX 93.33% et la GEN 86.66%.

7.6. Profil de résistance des souches isolées de *Morganella morganii*

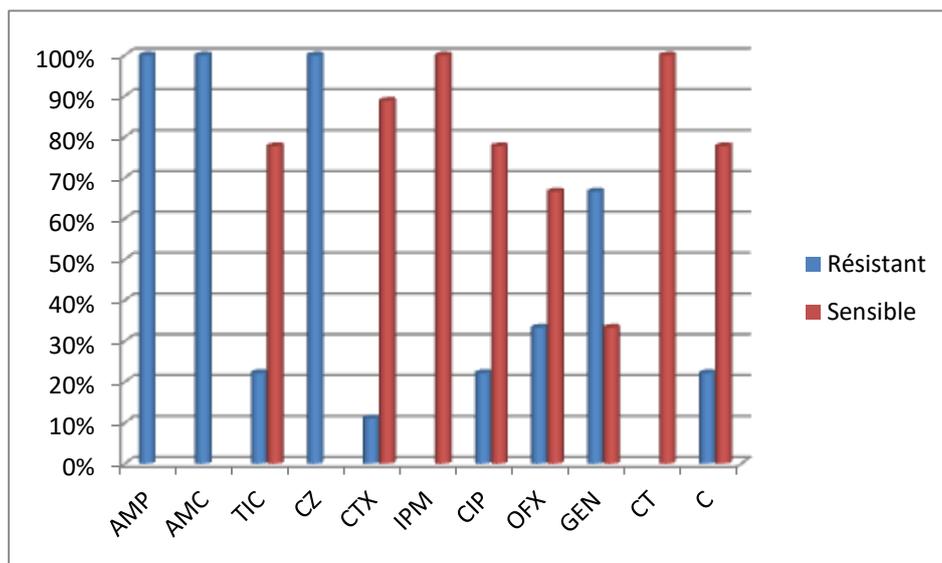


Figure 32 : Profil de résistance de *Morganella morganii* n= 9

La figure ci-dessus montre que les souches isolées de *Morganella morganii* présentent une résistance totale à AMP, AMC, CZ, également une résistance à la TIC, elles présentent donc une CBN naturelle. Une grande sensibilité vis-à-vis de CTX 88.88%, CIP 77.77%, OFX 66.66% et une grande activité à 100% concernant IPM et GEN.

Résultats

7.7. Profil de résistance des souches isolées de *Citrobacter freundii*

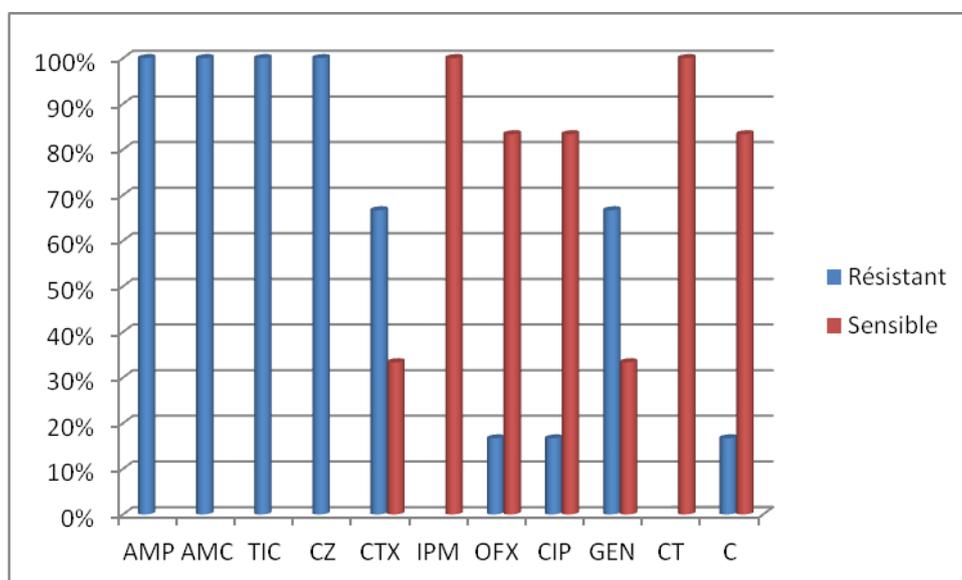


Figure 33 : Profil de résistance de *Citrobacter freundii* n= 6

Citrobacter freundii présente une résistance totale (100%) à AMP, AMC, TIC, CZ. Une résistance élevée de 65% aussi bien pour la CTX (BLSE) et la GEN 65%. Un taux de résistance faible (16.66%) à OFX, CIP, C, et une résistance nulle à IPM et la CT.

7.8. Profil de résistance des souches isolées de *Serratia marcescens*

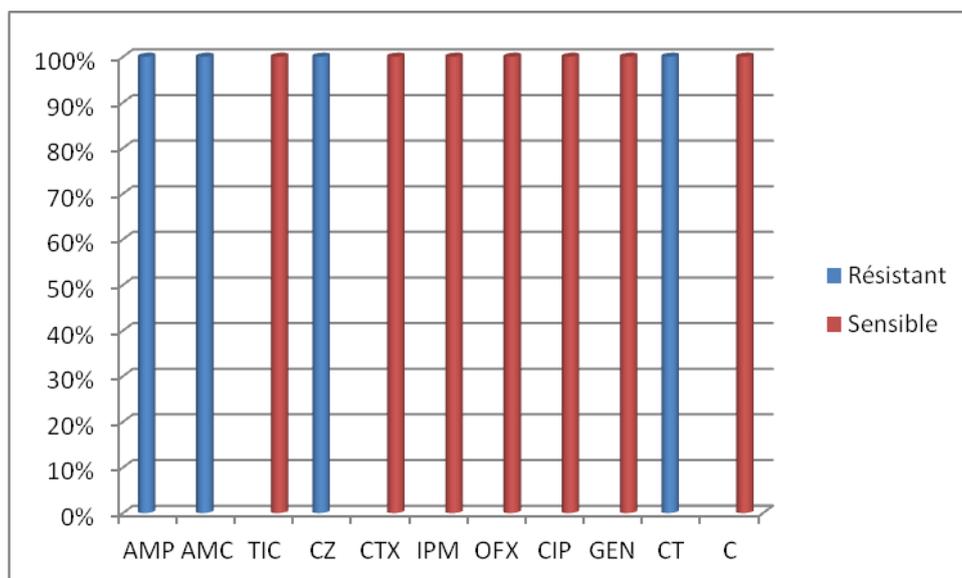


Figure 34 : Profil de résistance de *Serratia marcescens* n= 4

La figure ci-dessus montre que les souches isolées de *Serratia marcescens* présentent une résistance totale et naturelle à AMP, AMC, CZ contre une sensibilité totale vis-à-vis de la

Résultats

TIC (CBN). Une résistance totale à 100% est observée également pour la CT ainsi que pour CTX, IMP, GEN, OFX et le C.

7.9. Profil de résistance des souches isolées de *Citrobacter diversus*

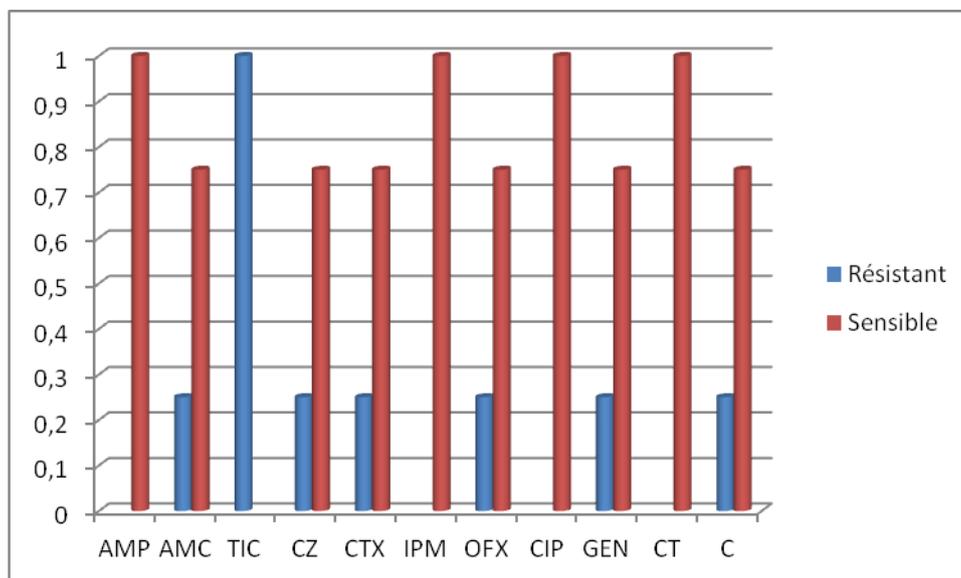


Figure 35 : Profil de résistance de *Citrobacter diversus* n= 4

La figure ci-dessus indique que les souches identifiées présentent une résistance totale à 100% AMP, TIC, une sensibilité élevée de 75% vis-à-vis de la CZ, CTX, AMC, GEN, OFX. Une excellente sensibilité en ce qui concerne la CIP, CT, et IMP.

7.10. Profil de résistance des souches isolées d'*Enterobacter Spp*

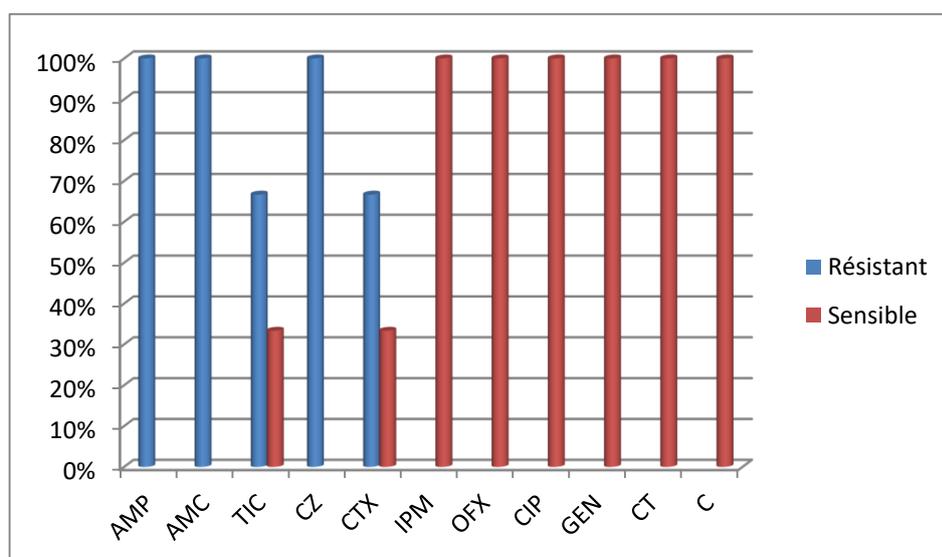


Figure 36 : Profil de résistance d'*Enterobacter Spp* n=03

Résultats

La figure ci-dessus indique que les souches identifiées résistent à 100% à l'AMP, AMC, CZ. Un taux de résistance de 66.66% pour la TIC, CTX et une excellente activité à 100% est observée à l'IPM, GEN, OFX, CIP, CT, C.

7.11. Profil de résistance des souches de *Providencia rettgerii*

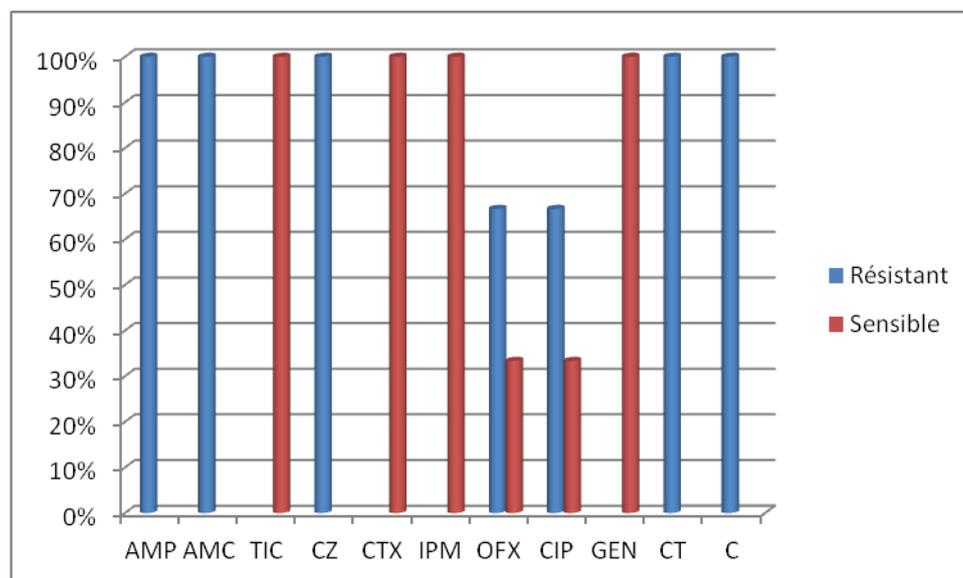


Figure 37 : Profil de résistance de *Providencia rettgerii* n=03

On assiste une résistance totale vis-à-vis de l'AMP, AMC, CZ et une sensibilité totale à la TIC. Les souches présentent un profil de CBN naturelle. Autre que les pénicillines. Les souches sont résistantes à 100% au GEN et C. Résistantes à 66.66% à la CIP et OFX. La GEN, IPM restés très actifs avec une sensibilité totale.

7.12. Profil de résistance des souches isolées de *Klebsiella oxytoca*

Les deux souches isolées de *Klebsiella oxytoca* présentent une résistance totale 100% à AMP, TIC, CZ, CTX, AMC, CIP, OFX, GEN. Cependant l'IPM, CT, C restent très actifs avec une sensibilité totale.

7.13. Profil de résistance des souches isolées de *Proteus spp*

Les deux souches isolées de *proteus Spp* présentent une résistance à l'AMP, TIC, OFX, C ainsi que la CT (résistance naturelle). L'une des deux est résistante à la CTX, CZ, AMC, GEN. L'IPM reste très actif avec une sensibilité totale.

7.14. Profil de résistance des souches isolées de *Citrobacter Spp*

Les deux souches isolées de *Citrobacter Spp* présentent une résistance à 100% à l'AMP, AMC, TIC, CZ. Une souche résistante pour La GEN a été isolée. En revanche une sensibilité totale est observée vis-à-vis de CTX, IPM, OFX, CIP, CT et le C.

Résultats

7.15. Profil de résistance des souches isolées de *Serratia liquifaciens*

Les deux souches isolées de *Serratia liquifaciens* présentent une résistance naturelle à l'AMP, AMC, CZ, CT. Une sensibilité de 100% pour la TIC (CBN), ainsi que pour la CTX, IMP, GEN, OFX et la CIP.

7.16. Profil de résistance des souches d'*Enterobacteries Spp*

Les deux souches d'*enterobacteries Spp* isolées sont résistantes à l'AMP, AMC, CT. Par contre elles sont sensibles à la TIC, CIP, C, OFX. Pour le reste des antibiotiques c'est-à-dire CZ, CTX, GEN, IPM une souche sauvage contre une souche résistante.

7.17. Profil de résistance des souches de *Providencia stuartii*

La seule souche isolée de *Providencia stuartii* marque une résistance à l'AMP, AMC, CZ, CT. Le reste des antibiotiques sont très actifs à 100 %.

7.18. Comparaison des taux de résistance des différentes espèces

d'entérobactéries isolées

Tableau 9 : Comparaison des taux de résistance des différentes espèces d'entérobactéries isolées n=162

	AMP	AMC	TIC	CZ	CTX	IPM	GEN	CIP	CT
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	100%	85%	100%	85%	55%	0%	40%	25%	0%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	100%	100%	100%	100%	100%	0%	100%	100%	0%
<i>Proteus vulgaris</i>	100%	100%	14%	100%	5%	0%	10%	10%	100%
<i>E. coli</i>	84.61%	54%	85%	54%	46%	0%	27%	58%	0%
<i>Proteus Spp</i>	100%	50%	100%	50%	50%	0%	50%	50%	100%
<i>Proteus mirabilis</i>	65%	38%	53%	38%	15%	0%	30%	43%	100%
<i>Enterobacter Spp</i>	100%	100%	67%	100%	67%	0%	0%	0%	0%
<i>Citrobacter spp</i>	100%	100%	100%	100%	0%	0%	50%	0%	0%
<i>Citrobacter freundii</i>	100%	100%	100%	100%	67%	0%	67%	17%	0%
<i>Citrobacter diversus</i>	100%	25%	73%	0%	53%	0%	14%	0%	0%
<i>Enterobacter cloacae</i>	100%	100%	73%	100%	53%	0%	13%	0%	0%
<i>Serratia liquifaciens</i>	100%	100%	100%	100%	0%	0%	0%	0%	100%
<i>Serratia marcescens</i>	100%	100%	0%	100%	0%	0%	0%	0%	100%
<i>Morganella morganii</i>	100%	100%	22%	100%	11%	0%	67%	22%	100%
<i>Providencia rettgerii</i>	100%	100%	0%	100%	0%	0%	0%	67%	100%
<i>Providencia stuartii</i>	100%	100%	0%	100%	0%	0%	0%	100%	100%
<i>Enterobacterie Spp</i>	100%	100%	0%	100%	50%	50%	50%	0%	100%

Résultats

La comparaison des taux de résistance au niveau des différentes espèces d'entérobactéries nous permet d'émettre les remarques suivantes :

Les fréquences de résistance les plus élevées sont observées chez les différentes espèces d'entérobactéries vis-à-vis de l'ampicilline, l'ampicilline + acide clavulanique, ticarcilline et le céfotaxime.

Le profil de résistance des *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter Spp*, *Citrobacter freundii*, *Serratia liquifaciens* montre une résistance totale à l'AMP, AMC, TIC, CZ.

L'imipénème reste la molécule qui présente la sensibilité la plus importante de l'ordre de 100% pour la majorité des souches identifiées excepté l'*Enterobacteries Spp* à 50%.

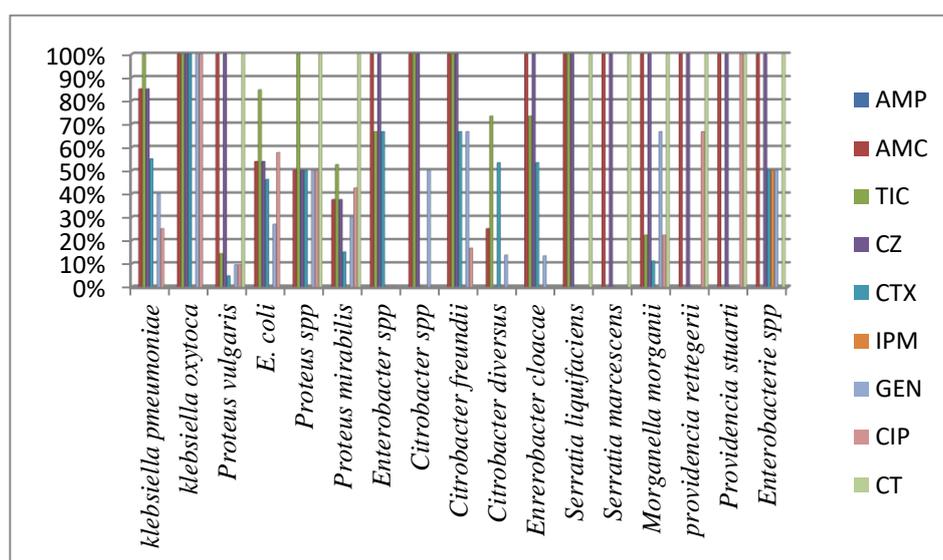


Figure 38 : Comparaison des taux de résistance des différentes espèces d'entérobactéries isolées n= 162

8. Profil de résistance des bacilles non fermentaires isolés :

D'une façon générale pour les BNF on assiste à des taux de sensibilité très élevés aussi bien pour les β -lactamines (TIC 68.42%, TCC 73.68%, pipéracilline PIP 68.42% pipéracilline + acide clavulanique PRL 73.68 %), les céphalosporines : céftazidime (CAZ 84.21%) ainsi que pour les aminosides (GEN 73.68%), et également pour les fluoroquinolones (CIP 84.21%), carbapénème (IPM 68.49%), monobactam : azteonam (84.21% ATM), en revanche les souches restent sensibles à la CT avec un taux de 100%.

Résultats

Tableau 10 : Profil de résistance des bacilles non fermentaires isolés n=19

ATB	R + I		S	
	Nombre	(%)	nombre	(%)
TIC	6	31,57%	13	68,42%
TCC	5	26,31%	14	73,68%
PIP	6	31,57%	13	68,42%
PRL	5	26,31%	14	73,68%
CAZ	3	15,78%	16	84,21%
GEN	5	26,31%	14	73,68%
CT	0	0%	19	100%
CIP	3	15,78%	16	84,21%
ATM	3	15,78%	16	84,21%
IPM	6	31,57%	13	68,42%

8.1 Profil de résistance des souches isolées de *Pseudomonas aeruginosa*

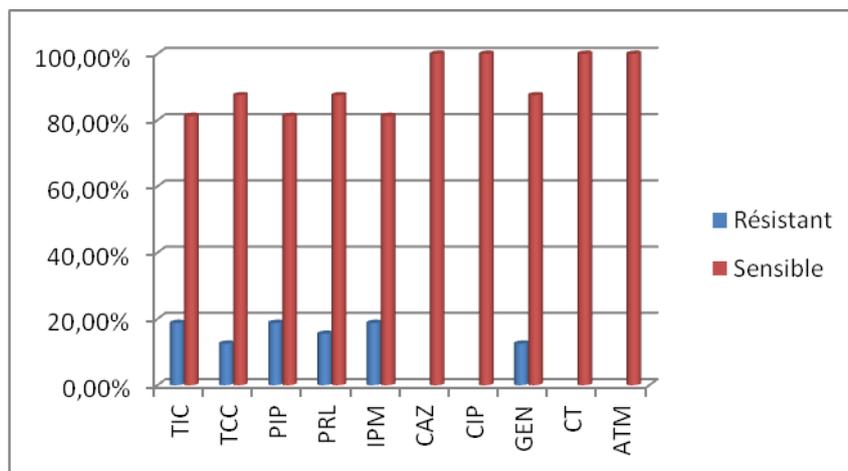


Figure 39 : Profil de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* n=16

Résultats

La fréquence des souches sauvages isolées de *Pseudomonas aeruginosa* est élevée, présentant un profil sensible total à CAZ, CIP, CT, ATM. Une sensibilité élevée à TIC 81.25%, TCC 87.50%, PIP 81.25%, PRL 87.50%, IPM 81.25%, GEN 87.5%.

8.2. Profil de résistance des souches isolées d'*Acinetobacter calcoeticus*

Les deux souches isolées d'*Acinetobacter calcoeticus* sont multi résistantes vis-à-vis de la plus part des antibiotiques testés (TIC, TCC, PIP, PRL, IPM, CAZ, GEN, CIP,

(triméthoprime+ sulfaméthoxazol(SXT), ATM). La CT et la rifampicine (RD) restent les molécules les plus actives.

8.3. Profil de résistance d'*Acinetobacter Spp*

La seule souche appartenant au genre d'*Acinetobacter Spp* est une souche multi résistante. On note une résistance à la majorité des antibiotiques TIC, TCC, PIP, PRL, IPM, CAZ, GEN, CIP, SXT, ATM. Seules la CT et RD gardent une activité totale.

8.4. Comparaison des taux de résistance des différentes espèces des bacilles non fermentaires

La comparaison des taux de résistance au niveau des différentes espèces des bacilles non fermentaires (BNF) nous permet d'émettre les remarques suivantes :

La fréquence des résistances les plus élevées sont observées chez les différentes espèces de BNF vis-à-vis de la piperacilline, la ticarcilline et la gentamycines. En revanche les souches appartenant au genre *Acinetobacter* sont les germes les plus résistants, ils acquièrent une résistance aux différents antibiotiques, par contre *Pseudomonas aeruginosa* présente une résistance faible vis-à-vis de la majorité des antibiotiques testés (TIC, TCC, PIP, PRL, IPM, GEN) excepté (CAZ, ATT, CIP, CT).

Tableau 11 : Comparaison des taux de résistance des différentes espèces des bacilles non fermentaires n=19

	TIC %	TCC%	PIP%	PRL%	CAZ%	IPM%	CT%	CIP%	ATM%	GEN%
<i>Acinetobacter Spp</i>	100	100	100	100	100	100	0	100	100	100
<i>Acinetobacter calcoeticus</i>	100	100	100	100	100	100	0	100	100	100
<i>P. aeruginosa</i>	18,75	12,50	18,75	12,50	0	18.75	0	0	0	12.5

Résultats

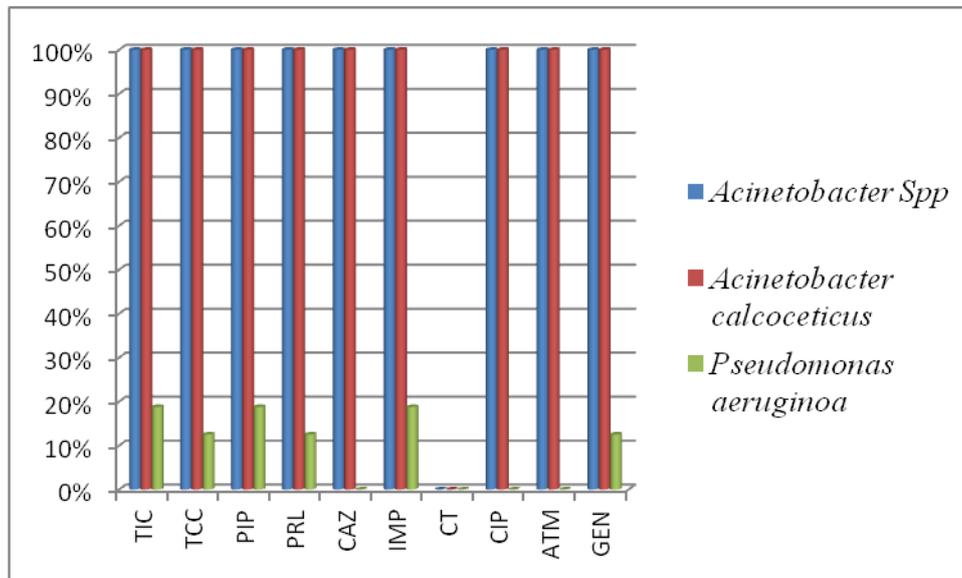


Figure 40 : Comparaison des taux de résistance des différentes espèces des bacilles non fermentaires n= 19

Le tableau ci-dessous indique que parmi les souches identifiées 72.72% résistent à la pénicilline G (P), 45.45% à l'érythromycine (ERY). En ce qui concerne les aminosides, 46.75% résistent à la clindamycine (CLI), 25.97% à la pristinaamycine (PS). Les souches sont sensibles aux glycopéptides, 100% sensible à la vancomycine (VA), 61.03% résistent à la tétracycline (TET) et 3.89% sont résistants au chloramphénicol (C).

9. Profil de résistance des cocci à Gram positif

Résultats

Tableau 12 : Profil de résistance des cocci à Gram positif n=77

ATB	R + I		S	
	Nombre	(%)	Nombre	(%)
p	56	72,72%	21	27,27%
ERY	35	45,45%	42	54,54%
CLI	36	46,75%	41	53,24%
Va	0	0%	77	100%
TET	47	61,03%	30	38,96%
PS	20	25,97%	57	74,02%
C	3	3,89%	74	96,10%

9.1. Profil de résistance des souches isolées de *Staphylococcus aureus*

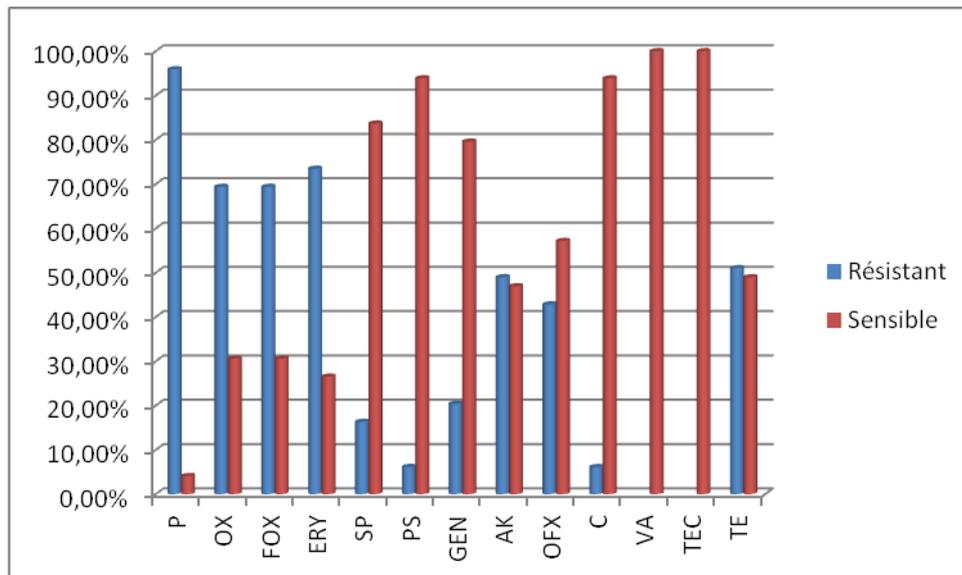


Figure 41 : Profil de résistance de *Staphylococcus aureus* n= 49

Résultats

Les souches de *Staphylococcus aureus* acquièrent le profil de résistance SARM, une résistance élevée vis-à-vis des β -lactamines : P 95.91%, OXA 69.38%, FOX 69.38%. Un taux de résistance à ERY à 73.76%, amikacine (AK) à 48.97%, tétracycline TET à 51.02%. Les souches sont sensibles à la spiramycine (SP) 83.67%, CLI 79.59%, pristinamycine (PS) 93.87%, C 93.81%, OFX 57.14%. En revanche les glycopéptides restent très actifs avec une sensibilité totale des souches (TEC, VA)

9.2. Profil de résistance des souches isolées d'*Enterococcus Spp*

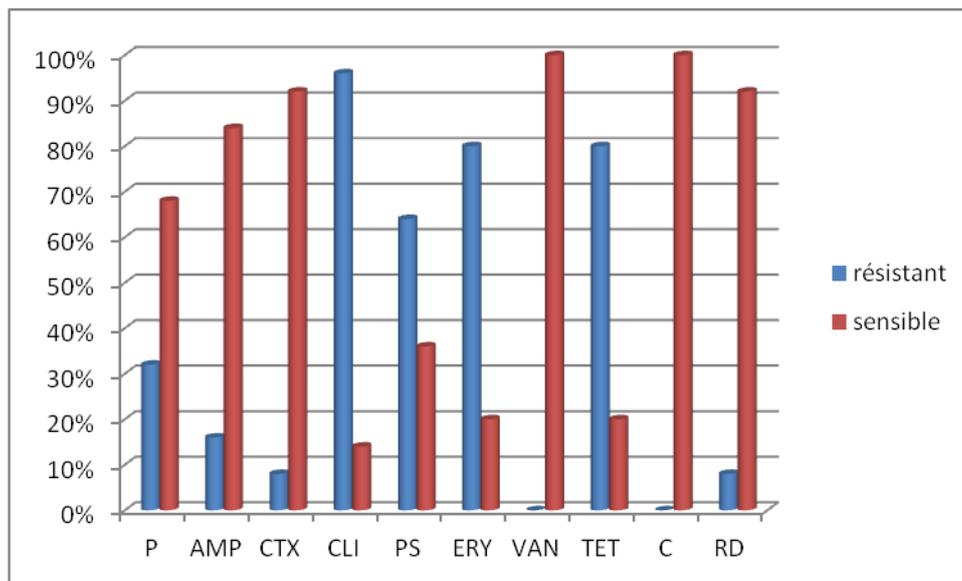


Figure 42 : Profil de résistance d'*Enterococcus Spp* n=25

L'*Enterococcus Spp* présente une sensibilité vis-à-vis de la P à 68%, AMP 84%, CTX 92%, RD 95%. Une sensibilité totale à VA et C. Un taux élevé de résistance vis-à-vis de TET 80%, PS 64%, CLI 95%.

9.3 Profil de résistance des souches isolées de *Streptococcus* du groupe B

Sur les deux souches isolées de *Streptococcus B*, l'une des souches présente une résistance vis-à-vis de ERY, CLI, SP, TET, et une résistance nulle est notée pour P, AMP, CTX, C, RD, VA.

9.4. Profil de résistance de la souche isolée de *Streptococcus* non groupable

La seule souche identifiée de *Streptococcus* non groupable est sensible au C, VA, TET, et résistante au P, AMP, CTX, ERY, CLI, PS, SP, RD.

Résultats

9.5. Comparaison des taux de résistances des différentes espèces de cocci à Gram positif

La comparaison des taux de résistance au niveau des différentes espèces de cocci à Gram positif nous permet d'émettre les remarques suivantes :

Les fréquences de résistances les plus élevées sont observées chez les différentes espèces de cocci à Gram positif vis-à-vis de la pénicilline G, l'érythromycine et la clindamycine, contre une résistance nulle à la vancomycine chez toutes les souches identifiées. Une résistance moyenne à la pristinaamycine, tetracycline et une résistance faible vis-à-vis du chloramphénicol.

Tableau : 13 Comparaison des taux de résistances des différentes espèces de cocci à Gram positif n= 77

	P	ERY	CLI	PS	TET	C	VA
<i>Staphylococcus aureus</i>	95,91%	73,46%	20,40%	6,12%	51,02%	6,12%	0%
<i>Enterococcus Spp</i>	32%	80%	95%	75%	80%	0%	0%
<i>Streptococcus B</i>	0%	50%	50%	0%	50%	0%	0%
<i>Sreptococcus non groupable</i>	100%	100%	100%	100%	0%	0%	0%

Résultats

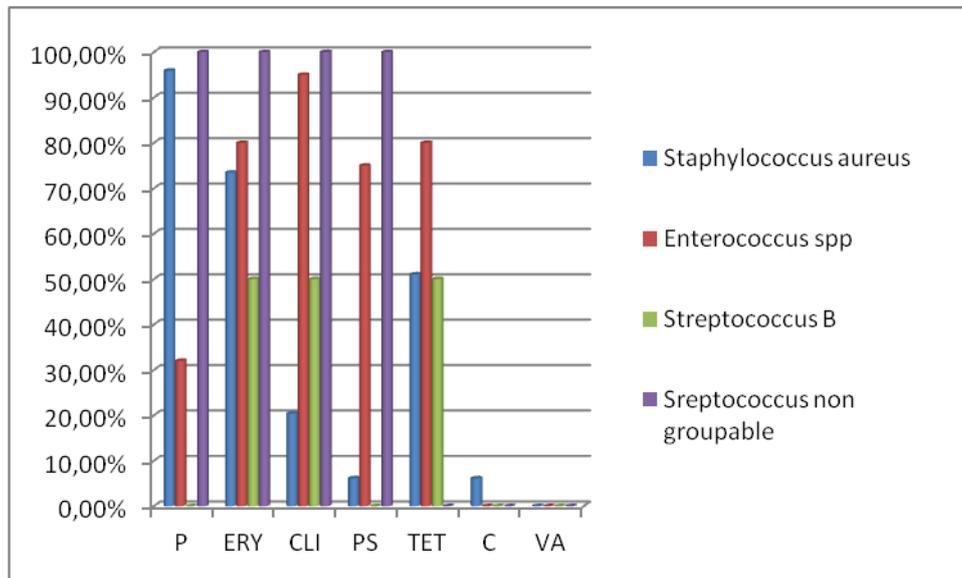


Figure 43 : Comparaison des taux de résistances des différentes espèces de cocci à Gram positif n= 77

10. Répartition globale des BLSE selon les espèces

Le tableau ci-dessous montre la répartition des BLSE selon les espèces, qui sont par ordre décroissant :

E.coli (24%), *K.p* (22%), *Enterobacter cloacae* (16%), *Proteus mirabilis* (12%), *Citrobacter freundii* (8%), *K.oxytoca* (4%), *Enterobacter spp* (4%), *Citrobacter diversus* (2%), *Proteus spp* (2%), *Proteus vulgaris* (2%), *Morganella morganii* (2%), *Enterobacterie Spp* (2%), donc *E.coli* enregistre le taux le plus élevé de BLSE suivie par *K.pneumoniae*.

Résultats

Tableau 14 : Répartition globale des BLSE selon les espèces n= 50

Espèce	Nombre de BLSE	BLSE(%)
<i>E.coli</i>	12	24%
<i>K.p</i>	11	22%
<i>Enterobacter cloacae</i>	8	16%
<i>Proteus mirabilis</i>	6	12%
<i>Citrobacter freundii</i>	4	8%
<i>K.oxytoca</i>	2	4%
<i>Enterobacter Spp</i>	2	4%
<i>Citrobacter diversus</i>	1	2%
<i>Proteus Spp</i>	1	2%
<i>Proteus vulgaris</i>	1	2%
<i>Morganella morganii</i>	1	2%
<i>Enterobacteries Spp</i>	1	2%
totale	50	100%

Résultats

10.1. Profil de résistance des souches BLSE

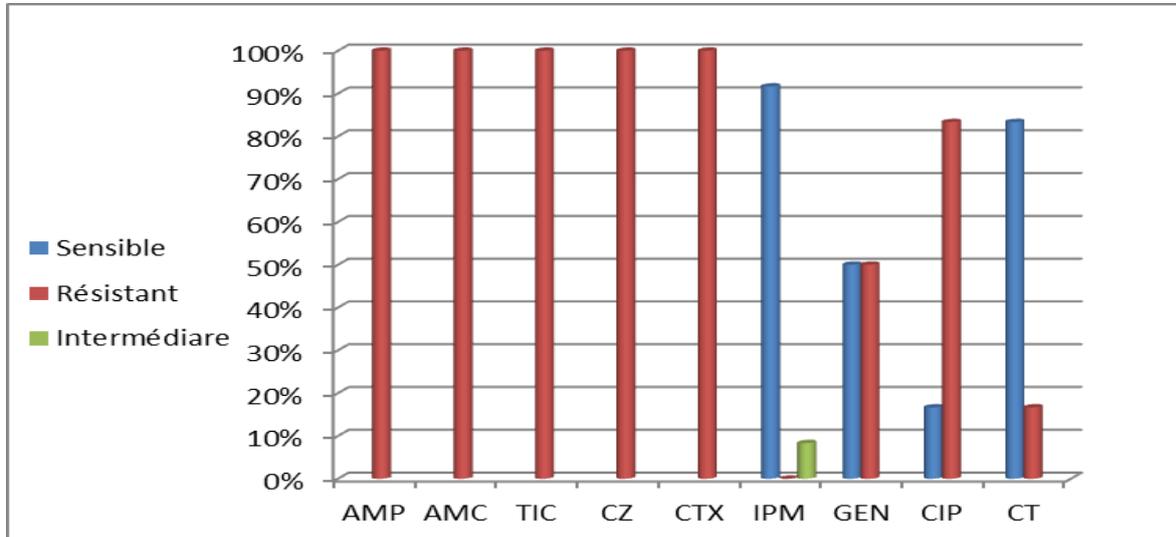


Figure 44 : Profil de résistance des souches BLSE n= 50

La figure ci-dessus montre un taux de résistance total des BLSE au TIC, AMP, AMC, CZ, CTX. Le taux de résistance est de 60% à GEN, 50% CIP, 26% CT. L'imipénème garde une activité élevée à 96%.

10.2. Profil de résistance des souches BLSE d'*E.coli*

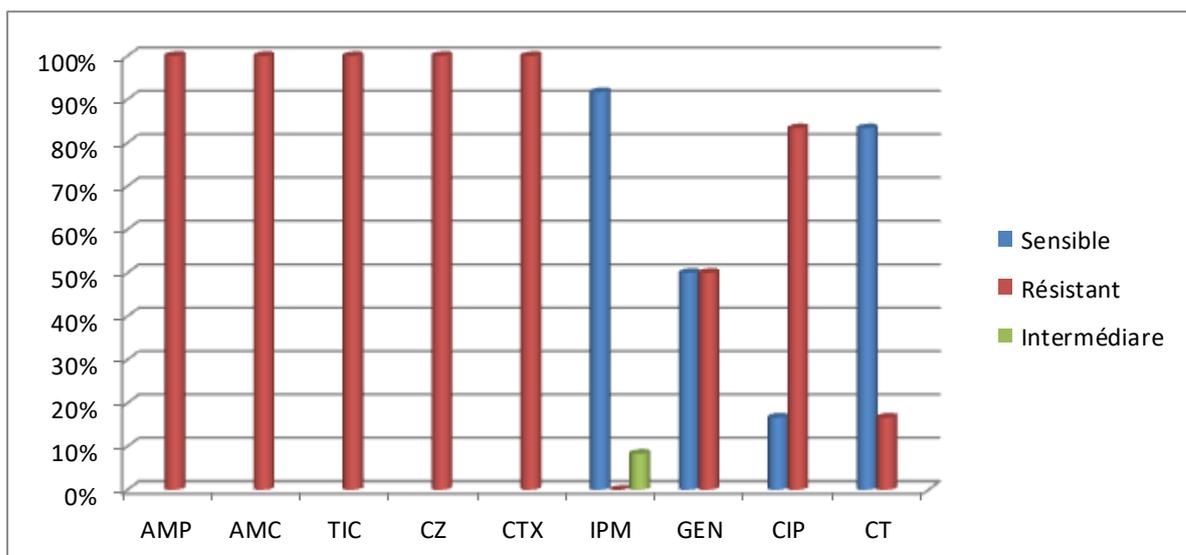


Figure 45 : Profil de résistance des souches BLSE d'*E.coli* n= 12

Résultats

La figure ci-dessus montre que les souches d' *E.coli* BLSE présentent une résistance totale à l'AMP, AMC, TIC, CZ, CTX, une résistance moyenne à la GEN 50%, une résistance importante de 83.33% à la CIP, cette résistance élevée est une indication de l'utilisation abusive de cet antibiotique dans les infections à *E.coli*, et une forte sensibilité vis-à-vis de l'IPM et CT.

10.3. Profil de résistance des souches de *Klebsiella pneumoniae* BLSE

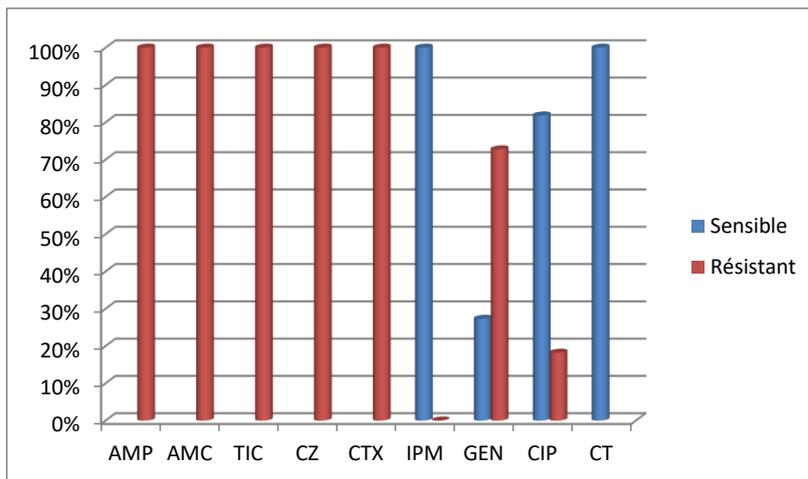


Figure 46 : Profil de résistance des souches *Klebsiella pneumoniae* BLSE n= 11

La figure ci-dessus indique que les isolats de *Klebsiella pneumoniae* expriment une résistance totale à l'AMP, AMC, TIC, CZ, CTX. Une résistance associée de 73% à la GEN, 18% à la CIP et une sensibilité totale est notée pour l'IPM.

Résultats

10.4. Profil de résistance des souches d'*Enterobacter cloacae* BLSE

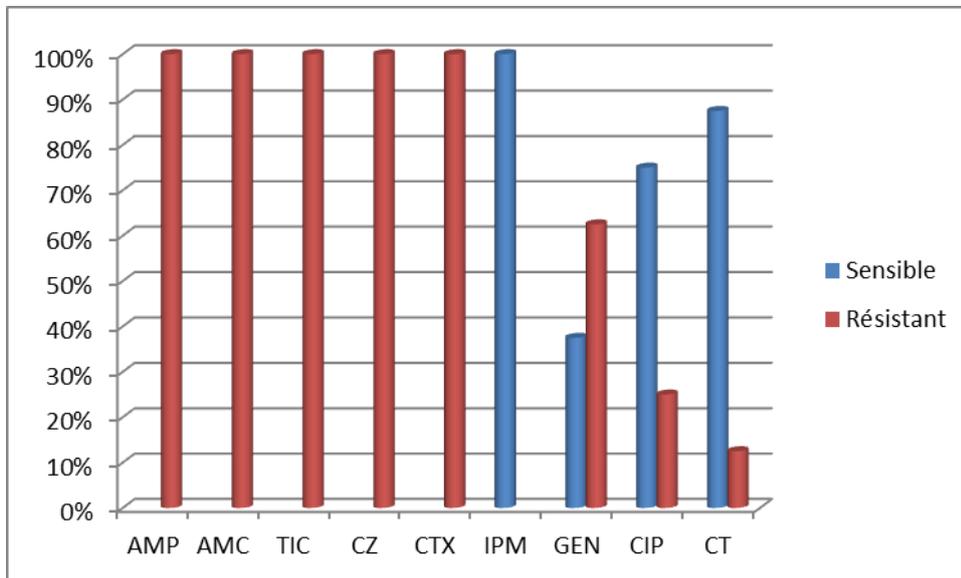


Figure 47 : Profil de résistance des souches d'*Enterobacter cloacae* BLSE n= 8

La figure ci-dessus montre que les souches d'*Enterobacter cloacae* présentent une résistance totale à l'AMP, AMC, TIC, CZ, CTX. 75% sont résistant à la CIP, 88% à la CT, 38% à la GEN et sensible à 100% seulement à l'IPM.

10.5. Profil de résistance des souches de *Proteus mirabilis* BLSE

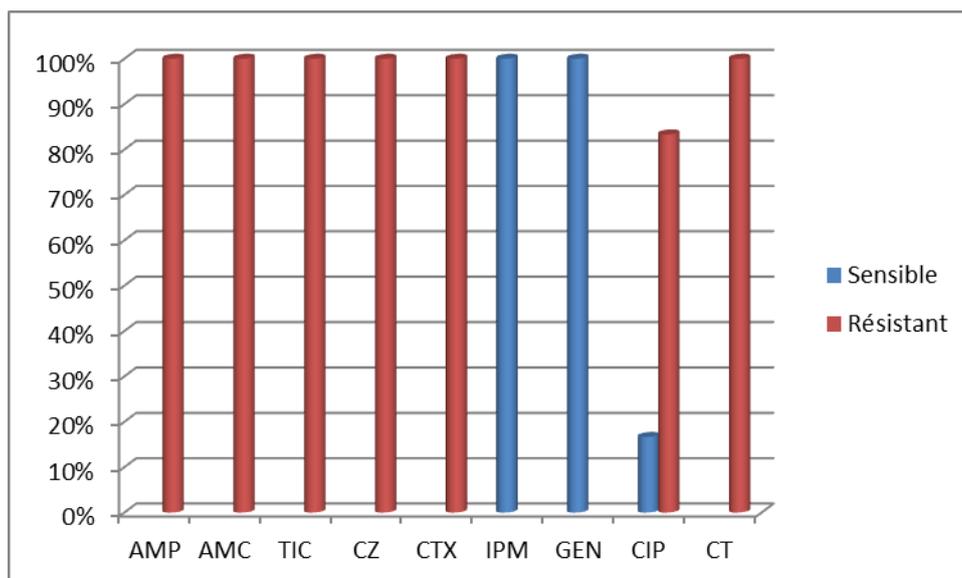


Figure 48 : Profil de résistance des souches de *Proteus mirabilis* BLSE n= 6

Résultats

La figure ci-dessous indique que les isolats expriment une forte résistance à l'AMP, AMC, TIC, CZ, CTX, CT. 83% résistent à la CIP. L'ensemble des isolats présentent une sensibilité totale vis-à-vis de l'imipenème.

10.6. Profil de résistance des souches *Citrobacter freundii* BLSE

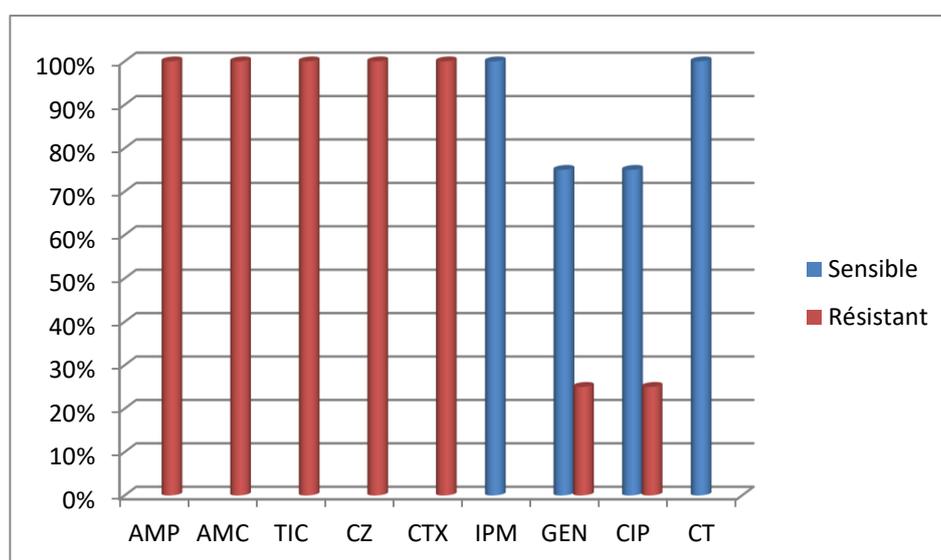


Figure 49 : Profil de résistance des souches *Citrobacter freundii* BLSE n= 4

La figure ci-dessus indique que les isolats de *Citrobacter freundii* BLSE présentent une résistance totale à l'AMP, AMC, TIC, CZ, CTX. 75% résistent à la CIP et la GEN. Une sensibilité totale à la CT et l'IPM.

10.7. Profil de résistance des souches de *Klebsiella oxytoca* BLSE

Les deux souches isolées de *Klebsiella oxytoca* présentent une résistance totale à l'AMP, AMC, TIC, CZ, CTX et une sensibilité totale vis-à-vis de la CT et l'IPM.

10.8 Profil de résistance des souches d'*Enterobacter Spp* BLSE

Les deux isolats BLSE d'*Enterobacter Spp* expriment une résistance totale à l'AMP, AMC, TIC, CZ, CTX. Une sensibilité totale à vis-à-vis de l'IPM, GEN, CIP et CT.

10.9. Profil de résistance des souches de *Citrobacter diversus* BLSE

Une seule souche de *Citrobacter diversus* BLSE a été identifiée présente une résistance à l'AMP, AMC, TIC, CZ, CTX. Une sensibilité vis-à-vis de la CT, GEN, CIP ainsi qu'à l'IPM.

Résultats

10.10. Profil de résistance des souches de *Morganella morganii*, *Proteus Spp*, *Proteus vulgaris* BLSE

Une seule souche BLSE a été identifiée pour chaque espèce de (*Morganella morganii*, *Proteus spp*, *Proteus vulgaris*), Ces souches expriment une résistance à l'AMP, AMC, TIC, CZ, CTX, GEN, CIP et CT. Une sensibilité et unique vis-à-vis de l'IPM.

10.11. Profil de résistance des souches d'*Enterobacterie spp* BLSE

Une seule souche d'*Enterobacteris Spp* BLSE a été identifié et présente une résistance à l'AMP, AMC, TIC, CZ, CTX, GEN, CT, ainsi que l'IPM .Seule la CIP reste active à 100%

Discussion

Discussion

Discussion

Les infections du pied diabétique constituent un problème majeur et croissant dans le monde entier (**Diane, 2006**). Ces infections sont fréquentes, graves et variées. Les stratégies de diagnostic et de traitement sont par conséquent diverses (**Finche et al., 2010**). Les ulcères du PD nécessitent donc un bilan étiologique précis puisque c'est la cause de 85% de l'amputation de membre inférieur (**Ha Van, 2008**).

Dans notre étude la tranche d'âge qui occupe le nombre des patients le plus important est celle de [60-70[avec 33,56%. Ce résultat est identique à celui réalisé au niveau de CHU de Tlemcen 2008 avec une dominance de la tranche d'âge ≥ 60 ans avec 57,54% des cas (**Yahia-Berouiquet, 2008**).

A l'échelle Maghrébine ; ce résultat est similaire à celui obtenu au service de Chirurgie Traumatologie-Orthopédie 1 de l'Hôpital Militaire d'instruction Mohamed V de Rabat 2014 dont l'âge moyen était de 62,04 ans ($\pm 8,36$) (**Amarir, 2014**).

Dans notre étude sur un total de 146 patients, le sexe masculin a été majoritaire avec un pourcentage de 86% contre 14% de femmes. En comparant avec l'étude réalisée au niveau du CHU d'Oran le sexe masculin reste toujours prédominant avec 57.60% (**Faraoun et al., 2013**). Ce taux reste confirmé par l'étude réalisée au service de médecine interne au CHU de Tlemcen avec 56.55%. Notre pourcentage est plus élevé par rapport à ces deux études, ceci s'explique par le fait que la structure est militaire et que le recrutement est presque exclusivement masculin (**Yahia-Berouiquet, 2008**).

Le sexe ratio est de 5,95 ; ceci s'explique par le fait que le centre hospitalier est militaire et que le recrutement majoritaire est masculin. Ce résultat est plus grand par rapport à l'étude réalisée par Ben Moussa *et al* en Tunisie qui montrent que le sexe ratio est de 2,4 (**Ben Moussa et al., 2016**).

Ce résultat reste très éloigné de celui enregistré par Guira *et al* à Ouagadougou qui indiquent que le sexe ratio calculé est de 1,37 (**Guira et al., 2015**). Par contre le sexe ratio montré par Qassimi au Maroc en 2015 est de 4,44 ; il est très proche de notre résultat (**Qassimi, 2015**).

Discussion

Dans notre étude la durée moyenne de séjour est de trois mois ; cette période d'hospitalisation est supérieure à celle enregistrée par Yahia-Berouiquet à Tlemcen qui montre que la durée moyenne est de 30 jours (**Yahia-Berouiquet, 2008**). D'après Matthew *et al* en 2003, le séjour hospitalier moyen est de plus d'un mois et 44% de ces patients sont hospitalisés pendant plus de trois mois (**Matthew *et al.*, 2003**).

Dans notre étude le type de traitement instauré est prédominé par l'insulinothérapie avec 59%, suivi par les ADO avec 20%, 10% correspond à un traitement mixte entre les deux.

Ces résultats concernent les deux sexes. En comparant avec les résultats obtenus par l'étude réalisée au niveau du CHU d'Oran, les résultats sont très proches avec un traitement antérieur : insulinothérapie 57, 69% des femmes contre 54,71%, ADO 28,20% contre 31, 60%, mixte 10,89% contre 9,43% (**Faraoun *et al.*,2013**).

Ces résultats sont éloignés de ceux enregistrés durant l'étude réalisée au service de dermatologie à l'Hôpital Militaire Moulay Ismail de Meknès 2015 ; où la fréquence du traitement par les ADO est de 61,22%, suivi par l'insulinothérapie avec 26,53% et 8,17% pour le traitement mixte (**Qassimi, 2015**).

Dans notre série en ce qui concerne le pied atteint, la fréquence d'atteinte du pied droit était importante avec 42% contre 32% du pied gauche, une minorité de 6% pour l'atteinte bilatérale et 20% de cas non documentés.

Ces résultats sont comparables à ceux du service de Chirurgie Traumatologie-Orthopédie 1 de l'Hôpital Militaire d'instruction Mohamed V de Rabat 2014 qui enregistre un pourcentage de 52% de l'atteinte du pied droit, 44,20% pour le pied gauche et 3,80% pour l'atteinte bilatérale (**Amarir, 2014**). Ces résultats restent différents de ceux rapportés par Yahia - Berouiquet, 2008 en 2007 qui a indiqué une atteinte ischémique bilatérale à prédominance distale de 64,65% (**Yahia-Berouiquet, 2008**).

Dans notre étude le taux du diabète de type 1 et de 8% contre 37% pour le diabète de type2, les résultats correspondent aux 2 sexes. Ces résultats sont confirmés par l'étude réalisée au niveau de service d'endocrinologie CHU d'Oran en 2013 et le service de dermatologie à l'hôpital militaire Moulay Ismail de Meknès 2015 respectivement où le diabète de type2 prédominant chez les deux sexes, 93.58% contre 91.03%, ainsi que 87.76% de diabète 2 contre 6% de diabète 1 (**Faraoun *et al.*, 2013 ; Quassimi, 2015**).

Discussion

Dans notre étude la durée d'évolution du diabète est comprise entre [20-25]ans. Ce résultat est éloigné de celui trouvé dans une étude rétrospective au CHU d'Oran, une durée moyenne d'ancienneté du diabète de 14,48 ans (**Faraoun *et al.*,2013**).

Dans notre étude l'amputation antérieure pour les lésions du pied diabétique était retrouvée chez 35% de nos patients. 51% n'ayant pas subi une amputation. Ces résultats sont comparables à ceux du CHU de Tizi Ouzou qui indique 41% des patients ont subi une amputation (**Sadi *et al.*, 2012**).

Dans notre étude l'amputation majeure est la plus fréquente avec un pourcentage de 23% chez nos patients, 13% d'amputations mineures sont enregistrées. En comparant avec le service de chirurgie traumatologie orthopédie 1 de l'Hôpital Militaire d'Instruction Med V de Rabat 2014 un pourcentage éloigné est notée de 61.5% pour l'amputation mineure contre 28.8% pour l'amputation majeure (**Amarir, 2014**).

Parmi 273 germes identifiés les bacilles à Gram négatif prédominent avec 66.30% contre 33.69% de cocci à Gram positif. Selon l'étude de Hatpoglu *et al* 2014 en Turquie le pourcentage total de bactéries à Gram négatif et à Gram positif étaient similaire dans chacune des périodes évaluées de l'étude (les 5 dernières années « 2007-2011 » avec ceux des 20 dernières années « 1989-2004 ») (**Hatpoglu *et al.*, 2014**).

Selon l'étude du Tiwari *et al* en Inde du nord en 2012 les bactéries à Gram négatif étaient les plus répondues dans l'infection du pied diabétique. Ce résultat est comparable à celui de notre série (**Tiwari *et al.*, 2012**). Par contre Sharma *et al* en 2006 indiquent que les bactéries à Gram positif ont été isolées plus souvent que les bactéries à Gram négatif chez les patients dépistés (**Sharma *et al.*, 2006**).

Dans notre étude sur 278 prélèvements réalisés 71% sont positifs, 5% sont négatifs ,8% de cultures contaminées et 3% pour les BGP. Ces résultats sont éloignés de ceux rapportés par Oztem 2006 en Turquie où le pourcentage des prélèvements positifs et négatifs est de 35.2% et 28.2% respectivement (**Oztem, 2006**).

Dans notre étude parmi 197 prélèvements positifs 72,08% sont mono-bactériens contre 28% poly-bactériens. Ce résultat est confirmé par Hannat *et al* en 2010 où les prélèvements sont souvent poly-bactériens (**Hannat *et al.*, 2010**). Par contre d'après Diam *et al* en 2007, Ramkant *et al* en 2010 les cultures poly-microbiennes sont prépondérantes avec un

Discussion

pourcentage de 83.3% et 66% respectivement pour chacune. Cette divergence pourrait être due à des différences dans les organismes pathogènes se produisant au fil du temps aux variations géographiques, ou au type de la gravité de l'infection incluse dans l'étude. En outre certaines études ont utilisé un nombre relativement faible de spécimens ne permettait pas de s'assurer que les techniques de prélèvement des échantillons excluait les organismes superficiels ou colonisateurs, ni même de préciser si la plaie était cliniquement infectée ou non (**Diam et al., 2007 ; Ramkant et al., 2010**).

Dans notre étude les prélèvements positifs sont prédominés par *Staphylococcus aureus* avec 17,94% des germes isolés, suivi par *Proteus mirabilis* avec 14,65% ; 9,52% d'*E. coli* ; enfin *Enterococcus Spp.* avec 9.15%. Cette étude est confirmée par l'étude réalisée par Akhi et al en 2015 en Iran qui indique que la bactérie aérobie prédominante isolée était *S.aureus* à 28% ; suivie de la famille des enterobacteriaceae à 24%, y compris *E. coli* à 15% (**Akhi et al., 2015**).

Selon l'étude réalisée par Saseedharan et al en 2018 en Inde, la bactérie la plus fréquemment isolée était *S.aureus* ; ce résultat est également identique à celui de notre étude (**Saseedharn et al., 2018**).

Contrairement à nos résultats ; l'étude réalisée par Al Benwan et al en 2012 montre que les organismes prédominants isolés étaient les membres de la famille des enterobacteriaceae à 28,5%, *Pseudomonas aeruginosa*, suivi par *S.aureus* à 11,8% (**Al Benwan et al., 2012**).

Du fait de leur diversité, faible toxicité, activité bactéricide et large spectre d'action, les β -lactamines font partie des antibiotiques les plus utilisés dans le traitement des infections causées par les enterobacteriaceae (**Courvalin, 2006**).

Les isolats d'enterobactéries ont présenté un taux de résistance élevé vis-à-vis de l'AMP (88.88%), TIC (59.87%), AMC (73.45%), ces résultats sont similaires à d'autres travaux de Youness au Maroc et Badri et al à Tébessa en 2016 (**Badri, 2016 ; Youness, 2016**).

L'imipénème était l'antibiotique le plus efficace sur les isolats des entérobactéries où on note une faible résistance de 1.34%. Ce résultat est confirmé par une étude Américaine où le profil de sensibilité à l'imipénème avant et après 1999 était 77% et 85% respectivement

Discussion

(Diane *et al.*, 2007). Une autre étude en Iran 2015 confirme que toutes les entérobactéries présentaient une sensibilité à l'imipénème (Akhi *et al.*, 2015).

On distingue un phénotype sauvage de résistance aux β -lactamines et un phénotype de résistance acquise cette dernière s'explique par l'apparition des mutations ou à l'acquisition du matériel génétique tel que les plasmides, les transposons ou les intégrons. Les entérobactéries produisent naturellement divers β -lactamases (Courvalin, 2006

A la résistance naturelle aux β -lactamines peuvent s'ajouter un ou plusieurs mécanismes de résistance acquise. La résistance acquise par production de β -lactamase est le mécanisme prépondérant.

Le phénotype « β -lactamase à spectre étendu » (BLSE) comprend une résistance aux pénicillines et aux céphalosporines à l'exception de la « céfoxitine » (Courvalin, 2006).

Les β -lactamases sont généralement spécifiées par des plasmides conjugatifs ce qui facilite leur diffusion, et sont observées chez toutes les entérobactéries d'intérêt clinique (Bertrand *et al.*, 2003).

Dans notre étude la production de BLSE a été notée et domine dans 31% des isolats bactériens, ce résultat est proche de celui de Zubair *et al* en 2010 qui présente un pourcentage de 43.2% (Zubair *et al.*, 2010).

Dans notre étude les souches d'*E.coli* présentant le phénotype BLSE occupent la première place parmi les entérobactéries BLSE avec un pourcentage de 24%. Ce résultat est proche de celui de Ramkant *et al* en 2010 où *E.coli* étant BLSE est présente dans 25% des isolats (Ramkant *et al.*, 2010). Par contre d'après Guira en 2015 à Burkina-Faso aucune BLSE n'a été isolée (Guira, 2015).

Dans notre étude on note la présence des *Pseudomonas aeruginosa* résistants aux carbapénèmes avec un faible pourcentage 18,75%. Ce résultat est proche de celui de Sassedharn *et al* en Inde qui rapporte une résistance de 18.6% (Sassedharn *et al.*, 2018).

La pipéracilline et l'imipénème conservent des niveaux élevés d'activité anti-Pseudomonale dans les infections à pied diabétique, selon l'étude de Muthu *et al* en 2006 en Inde, ce résultat est confirmé par notre étude où un taux de sensibilité élevé est enregistré vis-à-vis la Pip 81,25% et 81.25% à l'imipénème (Muthu *et al.*, 2006).

Discussion

Selon l'étude de Rahim *et al* en 2016 *P.aeruginosa* présente une sensibilité variable à la céftazidime, en comparant avec notre étude le taux de sensibilité enregistré est de 100% **(Rahim, 2016)**.

P.aeruginosa produit naturellement une céphalosporinase synthétisée à un niveau relativement faible, mais qui participe fortement à la résistance naturelle de cette espèce et exprime naturellement plusieurs systèmes d'efflux. Il est résistant à de nombreuses β -lactamines hydrophobes (impermeabilité), comme l'oxacilline, aux aminopénicillines, aux céphalosporines de 1^{er} et 2^{ème} génération **(Hocquet *et al.*, 2004)**.

P.aeruginosa est naturellement sensible aux carbapénicillines, comme la ticarcilline, aux uréidopénicillines comme la pipéracilline, à certains céphalosporines comme céftazidime, aux monobactames comme l'aztréonam et aux carbapénèmes comme l'imipénème **(Courvalin, 2006)**.

En plus de la résistance naturelle ; *P.aeruginosa* a développé une résistance acquise soit enzymatique par hyperproduction des β -lactamases suite à des mutations chromosomiques, soit non enzymatique par une modification qualitative ou une diminution de la production de la porine qui joue un rôle important dans la pénétration transmembranaire des β -lactamines, cette modification entraîne une résistance sélective à l'imipénème ou par un système d'efflux associée à d'autres mécanismes de résistance **(Courvalin, 2006)**.

Dans notre étude les souches isolées d'*Acinetobacter* sont multi-résistantes à 100% vis-à-vis de la TIC, TCC, PIP, PRL, IMP, CAZ, GEN, CIP, SXT et ATM. Par contre ces souches sont sensibles à 100% aux CT et RD. Les résultats pour la PIP et la CAZ sont proches de ceux rapportés par Jones *et al* en 2004 et Jones *et al* en 2003. Par contre notre résultat en ce qui concerne l'IMP est très éloigné avec un faible taux de résistance enregistré aux USA, Canada, Italie, Allemagne et la France **(Jones *et al.*, 2004 ; Jones *et al.*, 2003)**.

Les souches d'*Acinetobacter* isolées avant les années 70 étaient sensibles à toutes les β -lactamines à l'exception de la pénicilline G, ce phénotype sauvage est encore fréquemment observé chez les espèces « non *baumanii* » **(Courvalin, 2006)**.

La résistance acquise aux β -lactamines peut être également due à la production de pénicillinase plasmidiques **(Poriel *et al.*, 2005)**.

Discussion

L'imipénème est le traitement de référence des infections à *Acinetobacter*. Il s'agit de résistance acquise, relativement récente, qui est exprimée par l'intermédiaire de deux types d'enzymes :Oxacillinases et les Métalloenzymes (**Vila et al., 1997**).

Les enzymes inactivent de façon variable les carbapénèmes, les pénicillines et les céphalosporines, donnant parfois des souches dites « pan-résistantes » aboutissant à une impasse thérapeutique (**Dasilva et al., 2002**).

La résistance aux aminosides est due à l'acquisition de plasmides ou de transposons porteurs de gènes de structure d'enzymes modificatrices (**Seward et al., 1998**). *Acinetobacter* produit fréquemment des acétylases, des adénylylases et des phosphotransférases (**Courvalin, 2006**).

Dans notre étude le germe prépondérant est *S.aureus* avec un pourcentage 17,94% de nos prélèvements dont 31% ayant un profil sensible (SAMS) contre 69% qui sont méticilline résistants (SARM).

Ce résultat constitue un problème de première importance et cette répartition est très éloignée par rapport à d'autres études réalisées au Maroc qui présentent un profil sensible majoritaire avec 91% de SAMS (**Zemmouri et al., 2015**).

Ce résultat reste différent de celui rapporté dans l'étude réalisée à Ouagadougou Burkina Faso où aucune souche résistante à la méticilline n'a été isolée (**Guira et al., 2015**).

Dans notre étude le *S.aureus* ayant un profil de résistance important SARM vis-à-vis les β -lactamines avec un pourcentage de résistance de l'OXA 69%.

Ce résultat est proche de celui mentionné par une étude enregistrée au CHU de Sétif avec 67,44% de résistance (**Hannat et al., 2010**).

La souche sauvage *Staphylococcus aureus* sensible vis-à-vis les β -lactamines actuellement est rare (**Courvalin, 2006**). Elle est très sensible à la pénicilline G.

Cette sensibilité reste de courte durée à cause de l'apparition des souches pénicillinase suivie par des souches qui résistent à la méticilline (**Lowy, 2003**).

Dans le monde, jusqu'à 30% des patients souffrant d'infection du pied diabétique(IFD) sont colonisés par *S.aureus* résistant à la méticilline(SARM) (**Omar et al.,2008**).

Discussion

Ce phénomène est expliqué par la production de β -lactamase et la modification de la cible, cette dernière est expliquée par deux mécanismes : l'acquisition d'une PLP exogène (Protéine Liant à la Pénicilline) et/ou la modification des PLP endogènes (**Courvalin, 2006**).

Les *Enterococcus* sont responsables d'infection graves communautaires et hospitalières. Les souches sauvages apprécient d'une multi-résistance naturelle aux antibiotiques dont les aminosides, les céphalosporines à haut niveau et les fluoroquinolones.

A côté de la résistance naturelle, l'apparition de résistance acquise aux trois grandes classes d'antibiotiques (utilisés en association avec les pénicillines et les glycopeptides) pose de réels problèmes en thérapeutique et a nécessité la recherche d'alternative thérapeutiques. La sensibilité aux β -lactamines des *Enterocoques* est liée à la capacité qu'ont les PLP à fixer ces antibiotiques (**Courvalin, 2006**).

Selon Hannat *et al* de l'unité de microbiologie de laboratoire central CHU de Sétif la résistance des *Enterococcus Spp.* sont de 18.86% à l'AMP, 50% PS, 0% VAN, 52% RD (**Hannat et al., 2010**). Ces résultats sont proches de ceux de notre étude à l'exception de la RD où les *Enterococcus* présentent une résistance de 16 % à AMP, 64% PS ,5%RD et 0% A la Van.

Le streptocoque non groupable étant naturellement un peu moins sensible que les pneumocoques. La résistance acquise chez les Streptocoques est également liée à des modifications des PLP (**Courvalin, 2006**).

Il est noté dans notre étude que la seule souche identifiée présente une résistance totale vis-à-vis des β -lactamines.

La souche Streptocoque du groupe B appartient au Streptocoque β -hemolytique ; cette souche représente une sensibilité moindre vis-à-vis de la pénicilline G (**Courvalin, 2006**).

Dans notre série les deux souches isolées donnent un profil sensible aux β -lactamines testés y compris la pénicilline G.

Nos résultats sont proches de ceux indiqués par **Youness** en 2016 où les isolats de *Streptococcus Spp.* représentent un faible taux de résistance vis-à-vis de la pénicilline G (**Youness, 2016**).

Discussion

La vancomycine est le traitement le plus efficace pour les bactéries à Gram positif y compris le *S.aureus*, ce résultat est confirmé par l'étude réalisée à Sétif et une autre rapportée par Al Bewan *et al* en 2012 (**Hannat *et al.*, 2010 ; Al Benwan *et al.*, 2012**).

L'identification de la flore bactérienne infectieuse est l'une des principales règles à suivre pour assurer le succès de l'antibiothérapie dans le traitement du pied diabétique infecté (**Ben Moussa *et al.*, 2016**).

Les infections du pied diabétique sont une cause non négligeable d'antibiothérapie non justifiée et participent à ce titre à l'aggravation de la résistance bactérienne et à son extension au travers des soins (**Senneville, 2008**).

Conclusion

Conclusion

En raison de l'allure épidémique que prend le diabète sucré dans le monde entier, la prévalence de ses complications est amenée à s'accroître significativement. Le pied diabétique responsable d'une grande morbidité et de graves incapacités, pèse lourdement sur la société, devenant un véritable problème de santé publique, l'enjeu majeur de ce problème est la perte d'un membre inférieur.

Il est donc primordial de connaître l'écologie bactérienne des infections du pied diabétique dans les institutions de santé pour permettre une prise en charge adéquate et un usage optimale des antibiotiques, à l'aide de prélèvements bactériologiques de qualité, avec l'espoir de réduire le risque d'amputation et d'émergence de bactéries multi-résistantes.

Dans notre étude, les infections du pied diabétique étaient dominées par les bacilles à Gram négatif et l'espèce la plus fréquemment isolée était *Staphylococcus aureus*. Les bactéries isolées avaient exprimé un taux élevé de résistance aux antibiotiques. En outre, une prévalence élevée de bactéries multi-résistantes était constatée.

L'émergence de bactéries multi-résistantes est un problème mondial de santé publique. En absence de nouveaux agents antibactériens, ceci risque de conduire à des impasses thérapeutiques. La lutte contre ce phénomène nécessite une approche multidisciplinaire qui devrait intégrer la rationalisation de la prescription des antibiotiques.

L'éducation spécifique revêt une importance fondamentale il faut tout d'abord apprendre à éliminer les facteurs déclenchant ainsi que le dépistage précoce des lésions d'une part et promouvoir des programmes d'éducation sanitaires d'une autre part.

Perspective

Perspective

Les infections du pied diabétique peuvent être l'évènement pivot menant à une amputation mineure ou majeure du membre inférieur.

Le traitement des infections du pied diabétique en particulier celles qui sont profondes, reste difficile, en partie parce qu'une altération de la perfusion sanguine et la présence de biofilms peuvent nuire à l'efficacité des antibiotiques systémiques. L'application locale d'antibiotiques est un domaine émergent dans le traitement des infections du pied diabétique, avec des avantages démontrables. Celles-ci comprennent

L'administration de fortes concentrations d'antibiotiques dans la zone affectée, une absorption systémique limitée et donc des effets secondaires négligeables.

Les véhicules biodégradables, tels que les billes de sulfate de calcium, sont le système prototypique, fournir un bon profil d'élution et la capacité d'être imprégné d'une variété d'antibiotiques. Ceux-ci ont largement remplacé les véhicules non biodégradables, mais les preuves les plus solides disponibles sont pour l'implantation de billes de calcium pour la gestion de l'ostéomyélite.

Les polymères naturels, tels que l'éponge de collagène, constituent une classe émergente de systèmes d'administration, bien que, jusqu'à présent, les données sur les infections du pied diabétique soient limitées.

Il y a un intérêt récent pour le nouveau peptide antimicrobien pexiganan sous la forme de crème, qui est active contre la plupart des microorganismes isolés dans les infections du pied diabétique. Ce sont des développements prometteurs, mais des essais randomisés sont nécessaires pour vérifier l'efficacité de ces systèmes et définir les indications pour leur utilisation.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

- 1) **Abdelkbir Kh** (2014). Les marqueurs biologiques des complications du diabète sucré. Mémoire de magister en physiologie cellulaire et moléculaire. Département de biologie animale université Constantine, Algerie.p.24-28.
- 2) **Abbott SL**. (2007). *Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas, and Other Enterobacteriaceae. Manual of Clinical Microbiology*. Washington, DC: ASM press. 9: 698-715.
- 3) **Ait Lhaj Ou Said Z**. (2014). Prise en charge en milieu d'urgence du pied diabétique [En ligne]. Thèse de doctorat en médecine. Université de Médecine et de Pharmacie Marrakech.p.2-38.
- 4) **Akhi MT, Ghotaslou R, Asgharzadeh M, Varshochi M, Pirzadeh T, Memar MY, Zahedi Bialvaei A, Seifi Yarijan Sofla H, Alizadeh N**. (2015). Etiologie bactérienne et modèle de susceptibilité aux antibiotiques des infections du pied diabétique à Tabriz,Iran.*GMS Hyg Infect Control* [Pub med].
- 5) **Al Benwan K, Al Mulla A, Rotimi VO**. (2012). Une étude de la microbiologie des infections du pied diabétique dans un hôpital d'enseignement au Koweït. *J Infect Public Health* [Pub med]. 5(1) :1-8
- 6) **Allen SD**. (2003). *Clostridium. Manual of clinical microbiology*. 8 ed .p. 835-856.
- 7) **Amarir M**. (2014). Gestion du pied diabétique en milieu Traumatologique Orthopédique, Analyse et autocritique [En ligne]. Thèse de doctorat en médecine. Université Mohammed V-Soussi-Faculté de Médecine et de Pharmacie Rabat.p.2-14-17-19-32.
- 8) **Andrew S, Powlson and Anthony P.Coll**. (2010).The treatment of diabetic foot infections. *J Antimicrob Chemother* 2010; 65(3).
- 9) **Andrew S, Powlson P, Anthony P**. (2010). The treatment of diabetic foot infections. 65(3) : 3–9.
- 10) **Badri G, Tahri N**. (2016). Aspect bacteriologique des infections du pied diabétique. Mémoire de master. Microbioogie appliqué à la santé de l'environnement. Université de Tebessa.p32.
- 11) **Basavaraj C, Metri P, Joyothi VP**. (2013). Résistance aux antibiotiques chez *Citrobacter spp* isolé de l'infection des voies urinaires.
- 12) **Basilio JA**. (2009). *Serratia*. Medicine Specialties. Infectious Diseases. Bacterial Infections.
- 13) **Belbel Z**. (2014). Evaluation de la résistance aux antibiotiques des souches de *Klebsiella pneumonia* isolées dans les hôpitaux de la ville d'Annaba. [En ligne]. Thèse de doctorat en microbiologie. Université Badji Mokhtar Annaba.p4.
- 14) **Ben Moussa M, Khalfallah M, Boutiba Ben Boubaker I, Nouira R, Slim A, Jerraya H, Dziri C**. (2016). Profil bactériologique et thérapeutique de l'infection du pied diabétique : une étude prospective de 100 patients. *Tunis Med* [en ligne] ,94(2) :95-101
- 15) **Bertrand X, Hocquet D, Boisson K, Siebor E, Plesiat P, Talon D**. (2003). Molecular epidemiology of Enterobacteriaceae producing extented –spectrum β -lactamase in a French university-affiliated hospital.*Int.J.Antimicrob.Agents* 22:128-133.

- 16) Boudjamaa Dj.** (2015). Etude multicentrique de la résistance aux antibiotiques chez *Enterobacter cloacae*. [En ligne]. Thèse de doctorat en microbiologie. Université Abou Bekr Belkaid–Tlemcen.p.24.
- 17) Bouvet A.** (2013). Cours bactériologie médicale streptocoques-entérocoque.
- 18) Chikhani N.** (2012). *Klebsiella pneumoniae* pathogène nosocomial résistance et virulence. [En ligne]. Thèse de doctorat en microbiologie. Université de Louis et Marie Curis.p.9.
- 19) Chou YY, Chiu SK, Lai HC, Chang FY.** (2009). Tubo-ovarian abscess with *Morganella Morganii* bacteremia. *J Microbiol Immunol Infect.* 42: 357- 359.
- 20) Couderc C.** (2015). Impacte des antibiotiques sur l'histoire naturelle de *Staphylococcus aureus*. [En ligne]. Thèse de doctorat en épidémiologie. École doctorale Pierre Louis de santé publique, ED393 Epidémiologie et science de l'information biomédicale. Université Pierre et Marie Curie.p.19.
- 21) Courvalin P.** (2006). *Antibiogramme* Tom 2. Paris: Editons ESKA.p.396.
- 22) Courvalin P.** (2006). *Antibiogramme* Tom1. Paris. Editions ESKA.p.141-133-145-146-147-155-163-117-131-130-149-150.
- 23) DaSilva GJ, Correia M, Vital,C, Ribeiro G, Sousa JC, Leitao R, Peixe L, Duarte A.** (2002). Molecular characterization of bla (IMP-5), a new integr on-borne metallo-isolate in Portugal.FEMS. *Microbiol.Lett.*215:33-39.
- 24) Denis F, Ploy MC.** (2007). Bactériologie médicale: techniques usuelles. *Elsevier Masson*.p.316-318.
- 25) Diane M, Ellie J. Goldstein C, Vreni C, Clin J, Benjamin A. Lipsky A, Abrams A** (2007). Bactériology of moderate-to-sever diabetic foot infections and in vitro activity of antimicrobial agents microbial.2007, 45(9):28, 19.doi:10.1128/jcm.00551.07.
- 26) Djigui Diakit D.** (2007). Complications métaboliques aiguës du diabète en milieu de réanimation au point «g» de janvier 2001 à décembre 2005. Thèse de médecine.p.29.
- 27) Dupard A.** (2016). Prévention et prise en charge des plaies de pieds des patients diabétiques de type 2 par les médecins généralistes de Bearn et Soule [En ligne]. Thèse de doctorat en médecine. Université de Bordeaux U.F.R des sciences médicales France.
- 28) Durand AC.** (2012). La sixième complication du diabète. Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire. [En ligne] Préparée à l'UFR d'odontologie de BREST.
- 29) El Allali B.** (2015). Prise en charge chirurgicale du pied diabétique [En ligne]. Thèse de doctorat en médecine. Université Mohammed V-Rabat Faculté de Médecine et de Pharmacie-Rabat.p.45-46.
- 30) El-Anzi O.** (2014). Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches de *staphylococcus aureus* isolées au centre hospitalière Ibn sina de Rabat. [En ligne]. Thèse de doctorat en médecine. Université de Mohamed v Souissi faculté de médecine et de pharmacie-Rabat.p.5.
- 31) Elmeskini K.** (2011). Etude épidémiologique des infections à *Pseudomonas aeruginosa*. [En ligne]. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Mohamed V faculté de médecine et de pharmacie -Rabat.p4.
- 32) Euzéby JP.** (2003). Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire. *Serratia*.

- 33) **Euzéby JP.** (2011). Abrégé de Bactériologie Générale et Médicale à l'usage des étudiants de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
- 34) **Faraoun k, Benasla L, Tahar-Abbas F, Fazaz I, Sahnine K, Benkhelifa T, Benzian Z, Benghani M, Merad MS, Mohammedi F.** (2013). Pied diabétique : aspects cliniques et facteurs favorisants selon le sexe. [En ligne]. 10.1016/S1262-3636(13)71971-2.
- 35) **Fauchère JL, Avril JL.** (2002). *Bactériologie générale et médicale*. Ellipses Edition Marketing. Paris.p.250-260.
- 36) Fédération international de diabète. (2005). Clinical Guidelines Task Force. Global guideline for type 2 diabetes. Brussels.
- 37) **Finche B, Donald RM, Robin T.** (2010). A classification of diabetic foot infections using I C D-9-CM codes: application to a large computerized medical database. *BMC Health Services Reasearch*.2010.10:192.
- 38) **Francis G.** (2005). Étude de la pathogénèse des infections à *Escherichia coli* de type attachant et effaçant chez le porc. [En ligne]. Thèse de doctorat en microbiologie. Département de pathologie et microbiologie Faculté de médecine vétérinaire.p.6.
- 39) **Fraser SL, Arnett M., Sinave CP.** (2010). *Enterobacter* Infections. Médecine. Specialties. Infectious Diseases. *Bacterial Infections*. Contributor Information and Disclosures.
- 40) **Game F, Jeffcoate W.** (2004). MRSA and osteomyelitis of the foot in diabetes. *Diabet Med*. 21:16–9
- 41) **Goubau P, Pellegrims, E.** (2000). *Repères en microbiologie*. Garant, 3Ed. p.116-117.
- 42) **Guillaume PY.** (2004). Les tests enzymatiques, antibiotiques et immunologiques [En ligne].
- 43) **Guira O, Tiémo H, Traoré S, Diallo L, Ouangré E, Sagna Y, Zabsonré J, Yanago D, Traoré S.** (2015). Etude de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées lors de l'infection du pied diabétique et perspectives d'antibiothérapie à Ouagadougou (Burkina Faso). 25(3) :291-295.
- 44) **Guira O, Tiémo H, Traoré S, Diallo L, Ouangré E, Sagna Y, Zabsonré J, Yanago D, Traoré SS, DraboYJ.** (2015). La microflore bactérienne de l'infection du pied diabétique et les facteurs déterminant son spectre à Ouagadougou (Burkina-Faso). 108(5) :307-11 doi : 10.1007/s13149-015-0442-5.
- 45) **Ha Van G.** (2008).Conduite à tenir face à une plaie du pied chez un diabétique : Management of diabetic foot ulcer. *La revue de médecine interne*. 29(2008) S238-S242.
- 46) **Hannat S, F Sahli, Khettabi S, Chermat R, Mekideche FZ, Malek R.** (2010). Profil bactériologique des lésions trophiques du pied diabétique et leur résistance aux antibiotiques[En ligne]. 34 (53).
- 47) **Haris M, Rathur MR, Andrew JM, Boulton MD.** (2007). The diabetic foot. *Elsevier Clinics in Dermatology* 25, 109 – 120.

- 48) Hatipoglu M, Mutluoglu M, Uzun G, Karabacak E, Turhan V, Lipsky BA.** (2014). Le profil microbiologique des infections du pied diabétique en Turquie [Pub med]. *Eur J clin Microbiol infect dis* : 33 (6) : 871-8.
- 49) Hocquet D, Llanes C, Patry I, Garch F, Plésiat P.** (2004). Two efflux systems expressed simultaneously in clinical *Pseudomonas aeruginosa*. *Pathol. Biol.* 52:465-461.
- 50) Hocquet D.** (2003). Résistance aux antibiotiques par efflux actif chez *Pseudomonas aeruginosa*. Mémoire de Thèse Sciences de la Vie et de la Santé, Université de Franche-Comté, Besançon.
- 51) Jaureguy F.** (2009). Host and bacterial determinants of *Escherichia coli* extra intestinal infections. *Med Sci, Paris.* 25(3): 221-223.
- 52) Jones ME, Draghi DC, Thernsberry C, Karlowky JA, Sahm DF, Wenzel RP.** (2004). Emerging resistance among bacterial pathogens in the intensive care unit-a European and North American Surveillance study (2000-2002). *Ann.Clin. Microbiol. Antimicrob.* 3:14-25.
- 53) Jones RN, Sader HS, Beach ML.** (2003). Contemporary in vitro spectrum of activity summary for antimicrobial agents tested against 18569 strains non fermentative Gram negative bacilli isolated in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2001). *Int.J.Antimicrob. Agents.*22 :551-556.
- 54) Keddad A.** (2017). Epidémiologie du diabète dans le monde et en Algérie. *Uncategorized.*
- 55) Kim JH, Cho, CR, Um, TH, Rhu JY, Kim ES, Jeong JW, Lee HR.** (2007). *Morganella Morganii* Sepsis with Massive Hemolysis. *J Korean Med Sci.* 22: 10821084.
- 56) Kone KD.** (2010). Fréquence d'isolement des *Klebsiella* au laboratoire de bactériologie CVD du CHU Gabriel Toure de 2002 à 2007. [En ligne]. Thèse de doctorat en pharmacie. Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto – Stomatologie.p.19.
- 57) Lamnaouer D.** (2002). Détermination des propriétés biologiques (activités pharmacologiques et toxicologiques) des plantes médicinales et aromatiques du PNT. Programme de l'UICN en Afrique du Nord: Phase III. Etat d'avancement. p. 3-7.
- 58) Larry M, Bush MD.** (2018). Infections par *Acinetobacter*.
- 59) Levanic A.** (2008). Comment améliorer la prise en charge de pied diabétique épidémiologie du recrutement du C.H.U de Grenoble, démographie sanitaire, formation des soignants, à propos de la réalisation d'une vidéo-formation. [En ligne]. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Joseph Fourier faculté de pharmacie de Grenoble.p.29.

- 60) Lipsky BA, Berendt AR, Cornia PB, Pile JC, Peters EJ, Armstrong DG, Deery HG, Embil JM, Joseph WS, Karchmer AW, Pinzur MS, Senneville.** (2013). Société américaine des maladies infectieuses ligne directrice de pratique clinique pour le diagnostic et le traitement des infections du pied diabétique. *J Am Podiatr Med Assoc.* 2013 Janvier-Février. [Pub med] ; 103(1) : 2-7.
- 61) Lipsky BA.** (2004). Medical treatment of diabetic foot infections. *Clin Infect Dis.* 39:S104–14.
- 62) Lowy FD.** (2003). Antimicrobial resistance: The example of *Staphylococcus aureus*. *J.Clin.Invest.* 111 :1265-1273.
- 63) Mahrouki S, Ben-Achour N, Chouchani C, Ben-Moussa M., Belhadj O.** (2009). Identification of plasmid-encoded extended spectrum β -lactamases produced by a clinical strain of *Proteus mirabilis*. *Pathologie Biologie.* 57: 55-59.
- 64) Maroselli C.** (2002). Le pied diabétique physiopathologie, nouvelles thérapeutiques et place du pharmacien d'officine [En ligne]. Thèse de doctorat en Pharmacie. Université Joseph Fourier Faculté de Pharmacie de Grenoble.p.16-17.
- 65) Mathers CD, Loncar D.** (2006). Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS Med*, 2006, 3(11): 442.
- 66) Mathieu J.** (2014). Evaluation de l'apport d'un réseau dans la prévention du pied diabétique : bilan de l'action « Pied diabétique ». [En ligne]. Thèse de doctorat en médecine. Université de Lorraine Faculté de Médecine de Nancy.p.30.
- 67) Matthew C, Wakefield V, Kan SA.** (2003). Nonoperative Management of Diabetic Foot Infections. *Seminars in Vascular Surgery.* 16 (1) : 79-85.
- 68) Matthew C. Wakefield, VirginiaL. Kan, Subodh Arora, Jonathan Weiswasser, and Anton N. Sidawy.** (2003). Nonoperative Management of Diabetic Foot Infections. *Seminars in Vascular Surgery, Vol 16, No 1 (March).*p. 79-85
- 69) Miszczycha S.** (2013). Croissance et survie des *Escherichia coli* producteurs de Shiga Toxines (STEC) en fonction des technologies fromagères mettant en œuvre du lait cru. [En ligne]. Thèse de doctorat en Physiologie et génétique moléculaires. Université Blaise Pascal de Clermont-Ferrand.p.26.
- 70) Murray PR, Baron E J, Jorgensen J H, Landry M L, Pfaller M A.** (2007). *Manual of Clinical Microbiology.* 9th ed. ASM Press, Washington, D.C.
- 71) Muthu SE, Aberna RA, Mohan V, Premalatha G, Sirinivasan RS, Thyagarajan SP, Rao UA** (2006). Phénotype d'isolat de *Pseudomonas aeruginosa* dans un centre de soins du diabète. *Arch Med* [Pub med].37(1) : 95-101.
- 72) O'donoghe M, Fenny A, Sleayor R.** (2012). Virulence: *Acinetobacter baumannii* an emerging opportunistic pathogen.
- 73) O'Hara CM, Brenner FW, Miller M.** (2000). Classification and identification, and clinical significance of *Proteus, Providencia,* and

- Morganella*. *Clinical Microbiology Reviews*. 13: 534-546.
- 74) **Omar NS, El-Nahas MR, Gris J.** (2008). Nouveaux antibiotiques pour la gestion des infections du pied diabétique. *Int J Agents antimicrobiens* [Pub med].31(5) :411-9.
- 75) **OMS.** (2017).Diabète. [En ligne]
- 76) **Oztem K.** (2006). Risk factors for infection of diabetic foot with multi-antibiotique resistant microorganissms.
- 77) **Pacôme L.** (2014). Le pied et la cheville. [Image].In : Google.
- 78) **Pilly E.** (2008). *Maladies infectieuse et tropicales* 21ed.
- 79) **Poriel L, Marque S, Heriier C, Segonds C, Chabanon G, Nordmann P.** (2005). OXA-58, a nouvel class D.β-lactamase involed in résistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii* Antimicrob.Agents Chemother.49:202-208.
- 80) **Qassimi F.** (2015).Le pied diabétique : Expérience du service de dermatologie à l'Hopital Militaire Moulay Ismail de Meknes [En ligne]. Thèse de doctorat en médecine. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah Faculté de Médecine et de Pharmacie Meknes .p.90-92-107.
- 81) **Radji N, Sahli F, Hannat S, Bellal A, Ketfi A, Benchrif BL, Nezar B. Touabti A.** (2010). Souches isolées de lésions trophiques du pied diabétique et leurs résistances aux antibiotiques.
- 82) **Rahal k** (Institut Pasteur d'Algérie-Alger). (2014). *Standarisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale (Médecine Humaine et vétérinaire) 7ème édition* [En ligne],
- 83) **Rahim F.** (2016).Fréquence des bactéries communes et de leur modèle de sensibilité antibiotique chez les diabétiques présentant avec l'ulcère de pied. J Ayub Med Coll Abbottabad [Pub med]
- 84) **Raja NS.** (2007). Microbiologie des infections du pied diabétique dans un hôpital universitaire en Malaisie : une étude rétrospective de 194 cas .*J Microbiol Immunol Infect.* [Pub med] ; 40(1) : 39-44.
- 85) **Ramkant P, Verma AK, Misra R, Prasad KN, Chand G, Mishra A, Agarwal G, Agarwal A, Mishra SK.** (2010). Changing microbiological profil of pathogenic bacteria in diabetic foot infections: time for a rethink on which empirical therapy to choose.
- 86) **Ramparany L.** (2016). *Manuel de prélèvement des échantillons primaires version 4. Institut Pasteur de Madagascar*
- 87) **Ray MC.** (2018). SARM. Futira santé.
- 88) **Robert C.** (2007). Bactériémies à *Clostridium spp.* signification clinique. Analyse rétrospective de 41 cas dont trois cas de bactériémies à *Clostridium orbiscindens*. Thèse de Médecine. Faculte de médecine. Université Henri Poincare, Nancy 1.
- 89) **Ryan KJ.** (2004). Enterobacteriaceae. *Sherris Medical Microbiology: An Introduction to Infectious diseases*. USA: McGraw-Hill. 4th ed. p. 343-371.

- 90) **Sadi B, Hemsas F, Boubekeur I, Arbouche-Lezoul Z.** (2012). Quels problèmes pose la PEC du pied diabétique dans un service de diabétologie : expérience du CHU de Tizi Ouzou. [En ligne]. 73(4) : 425.
- 91) **Saseedharan S, Sahu M, Chddaha R, Pathrose E, Bal A, Bhalekar P, Sekar P, Krishnan P.** (2018). Epidémiologie des infections du pied diabétique dans un hôpital tertiaire de référence en Inde. *Braz J Microbiol [Pub med]*. 49 (2) : 401-406
- 92) **Sekhar S, Vyas N, Hannikrishnan M, Rodrigues G, Mukhopadhyay C.** (2004). Profil de sensibilité aux antimicrobiens dans l'ulcère du pied diabétique une étude pilote. [Pub med]. *Ann Med santé-sci Res* 4(5) :742-5.
- 93) **Sekhri Arafa N.** (2011). Fréquence et marqueurs épidémiologiques de *Klebsiella pneumoniae* dans les services à haut risque infectieux au niveau du CHU Benbadis de Constantine. Thèse de doctorats en sciences. Université Mentouri de Constantine, Algérie.p.5.
- 94) **Sekhsokh Y, Arsalane L, El Ouenass M., Doublali T, Bajjou T, Lahlou Amine I.** (2007). Bactériémie à *Serratia rubidaea*. *Médecine et maladies infectieuses*. 37 : 287-289.
- 95) **Senneville E, Melliez H, Beltrand E, Legout L, Valette M, Cazaubiel M.** (2006). Percutaneous bone biopsy for diabetic foot osteomyelitis: concordance with ulcer swab cultures. *Clin Infect Dis*. 42:57-62.
- 96) **Senneville E.** (2008). Infection et pied diabétique. *La revue de médecine interne*. 29 (2008) S243–S248.
- 97) **Seward R, Lambert J, Towner KJ.** (1998). Molecular epidemiology of aminoglycoside resistance in *Acinetobacter Spp.* *J.Med.Microbiol.*47:455-462.
- 98) **Sharma VK, Khadka PB, Joshi A, Sharma R.** (2006). Pathogènes communs isolées dans l'infection du pied diabétiques à l'hôpital de Bir.
- 99) **Sinan Bilgin S, Eren Olcay S, Mehmet Demirtaş A.** (2003). Complication of felon caused by *Morganella morgagni*; case report. *Journal of Ankaramedical School*. 25(4): 199-204.
- 100) **Stahl PJ.** (2006). Recommandations pour la pratique clinique. Prise en charge du pied diabétique infecté. [En ligne]. Société de pathologie infectieuse de la langue française (SPILF) CHU de Grenoble.
- 101) **Tiwari S, Pratyush DD, Dwivedi A, Gupta SK, Rai M, Singh SK.** (2012). Caractéristiques microbiologiques et cliniques des infections du pied diabétique en Inde du nord. *J infect dev ctries [Pub med]* 6(4) : 329-32.
- 102) **Tribe GW, Rood MJ.** (2002). *Providencia alcalifaciens* in diarrhoeic dogs and cats. *The Veterinary Record*. 150: 386-387.
- 103) **Vambergue A.** (2010). Le diabète gestationnel. *Médecine des maladies Métaboliques*. Décembre 2010. 4 (6).
- 104) **Vila J, Navia M, Ruiz J, Casals C.** (1997). Cloning and nucleotide sequence analysis of a gene encoding an OXA-derived β -lactamase in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother.*41:2757-2759.

105) Vora S. (2009). Que signifie «bêtalactamases à spectre élargi» en pratique. *Rev Med Suisse*

106) Wens J, Surat P, Nobel F. (2007). Recommandation de bon pratique : diabète sucré de type 02.

107) Wild S, Roglic G, Green A. (2004). Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 2004. 27: 1047-53.

108) Yahia-Berrouiguet A. (2008). Les plaies du pied chez le diabétique : Épidémiologie et prise en charge au CHU Tlemcen. [En ligne]. 34(3) :74.

109) Youness L. (2016). Profil bactériologique et fréquence de résistance aux antibiotiques de l'infection du pied diabétique. Thèse de doctorat en Médecine. Faculté de médecine et de pharmacie-Marrakech Maroc.p.23.

110) Zanella MC, Benjamin, Wurain. (2016). Microbiologie et traitement antibiotique du pied diabétique infecté. *Rev Med Suisse*. 12 : 732-7

111) Zemmouri A, Tarchouli,M ,Haimeur CH. (2015). Profil bactériologique du pied diabétique et son impact sur le choix des antibiotiques. *The Pan African Medical Journal* [Pub med].

Références électroniques

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3835999/>. (Consultée le 02/04/2018)

<http://emedicine.medscape.com/article/228495-overview>. (Consultée le 22/04/2018)

www.microbes-edu.org> étudiant>bacteriologie. (Consultée le 23/05/2018)

<http://www.eatlas.idf.org/>. (Consultée le 10/05/2018)

www2.ac-lyon.fr. (Consultée le 17/03/2018).

<https://pharmainvest.dz>. (Consultée le 07/04/2018)

<https://www.merckmanuals.com/fr-ca/professional/maladies-infectieuses/neisseriaceae/infections-par-acinetobacter>) Infections par *Acinetobacter*. (Consultée le 03/04/2018)

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3442836/>. (Consultée le 03/04/2018)

<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/fr/>. (Consultée le 10/02/2018).

<https://images.google.com>. (Consultée le 26/05/2018)

<https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/medecine-sarm-16661/>

(Consultée le 20/04/2018)

[https://www.revmed.ch/RMS/2009/RMS-220/Que-signifie-betalactamases-a-spectre-
elargi-en-pratique](https://www.revmed.ch/RMS/2009/RMS-220/Que-signifie-betalactamases-a-spectre-elargi-en-pratique). (Consultée le 20/03/2018)

Annexes

Annexes

Annexes 1 : Milieux de cultures

Gélose Nutritive g/l

Extrait de viande	3g
Gélatine peptone.....	5g
Agar	15g

pH = 6.8 +/- 0.2

Gélose Chapman g/l

Poudre de laboratoire-lemco	1g
Peptone	10g
Mannitol	10g
Chlorure de sodium	75g
Rouge de phénol.....	0.025g
Agar	15g

pH = 7.5 +/-0.2 à 25C°

Bouillon Nutritive g/l

Solides d'infusion de cerveau	125g
Solides d'infusion de cœur de bœuf	5g
Protéase peptone	10g
Glucose.....	2g
Chlorure de sodium.....	5g
Phosphate disodique	2.5g

pH = 6.8 +/- 2 à 25C°

Gélose Hecktoen g/l

Protéase peptone.....	12g
Extrait de levure	3g
Lactose	12g
Sucrose	12g
Salicine	2g

Mélange de sel biliaire.....	9g
Chlorure de sodium	5g
Thiosulfate de sodium	5g
Citrate d'amminium ferrique	1.5g
Fuchsine acide	0.1g
Bleu de bromothymol	0.065g
Agar.....	15g

pH = 7.5+/-0.2 à 25 C°

Gélose Colombia g/l

Peptones spéciales	23g
Amidon de maïs.....	1g
Chlorure de sodium.....	5g
Agar	12g

pH = 7.3 +/- 0.2 à 25C°

Milieu Muller-Hinton g/l

Amidon.....	1.5g
Infusion de viande	2g
Hydrolysate de peptone de caséine	17.5g
Agar	17g

pH = 7.4+/- 0.2

Milieu T.S.I

Extrait de bœuf.....	3g
Extrait de levure.....	3g
Peptone.....	20g
Chlorure de Sodium.....	5g
Lactose.....	10g
Saccharose.....	10g

Glucose.....	1g
Citrate ferrique.....	3g
Thiosulfate de Sodium.....	3g
Rouge de phénol.....	0.025g
Gélose.....	12g

pH = 7.4

Gélose Bile Esculine g/l

Peptone de viande.....	5g
Extrait de viande.....	3g
Bile de bœuf.....	40g
Esculine.....	1g
Citrate de fer.....	0.5g
Agar.....	14.5g

pH final = 6.6

NB : le milieu contient éventuellement de l'azide de sodium qui augmente la sélectivité pour les streptocoques.

Annexes 2 : La galerie API20E

Préparation de la galerie

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée (ou toute eau sans additif ou dérivés susceptibles de libérer des gaz [Ex : Cl₂, CO₂...]) dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte. (Ne pas inscrire la référence sur le couvercle, celui-ci pouvant être déplacé lors de la manipulation).
- Sortir la galerie de son emballage.
- Placer la galerie dans la boîte d'incubation.

Préparation de l'inoculum

- Ouvrir une ampoule d'API Na Cl 0,85% Medium (5 ml) ou une ampoule d'API Suspension Medium (5 ml) comme indiqué au paragraphe « Précautions » de la notice du produit, ou utiliser un tube contenant 5 ml d'eau physiologique stérile ou d'eau distillée stérile, sans additif.
- A l'aide d'une pipette, prélever une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé. Utiliser préférentiellement des cultures jeunes (18-24 heures).

- Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu. Cette suspension doit être utilisée extemporanément.

Incubation de la galerie

- Introduire la suspension dans les tubes de la galerie à l'aide de la même pipette (pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant)
- Pour les tests CIT, VP, GEL, remplir tube et cupule.
- Pour les autres tests, remplir uniquement les tubes (et non les cupules).
- Pour les tests : ADH, LDC, ODC, H₂S, URE créer une anaérobiose en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
- Refermer la boîte d'incubation.
- Incuber à $36 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}$ pendant 18-24 heures.

Annexes 3 : la fiche des résultats standards de la galerie API20E.



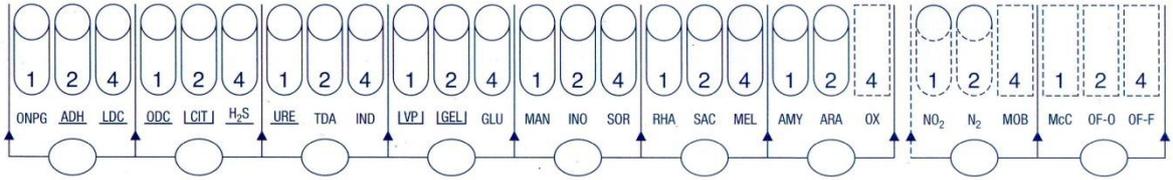


07223 C

REF : _____ / _____ / _____

Origine / Source / Herkunft /
 Origen / Origen / Προέλευση /
 Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie :





Autres tests / Other tests / Andere Tests / Otras pruebas / Altri test / Outros testes / Άλλες εξετάσεις / Andra tester / Andre tests / Inne testy :	Ident. / Ταυτοποίηση :
---	------------------------

Annexes 4 : le tableau de la lecture de la galerie biochimique API20E.

TABLEAU DE LECTURE DE LA GALERIE MINIATURISÉE API 20E						
Microtube	Substrat :	Caractère recherché :	Révéléateur	Lecture directe ou indirecte Test (si nécessaire)	Résultat	Résultat +
ONPG	ONPG = Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	Beta galactosidase		Lecture directe		
ADH LDC ODC	Arginine Lysine Ornithine	Arginine Dihydrolase Lysine Décarboxylase Ornithine Décarboxylase	Rouge de Phénol	Lecture directe		
(CIT)	Citrate	Utilisation du citrate	BBT	Lecture directe		
H ₂ S	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S		Lecture directe		
URÉ	Urée	Uréase	Rouge de Phénol	Lecture directe		 
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase		Lecture indirecte Ajouter une goutte de réactif chlorure de fer III		 
IND	Tryptophane	Tryptophanase ou production d'indole		Lecture indirecte Ajouter une goutte de réactif Kovacs	 	 
(VPI)	Pyruvate de sodium	production d'acétoine (3-hydroxybutanone)		Lecture indirecte Ajouter 1 goutte de VP1 et VP2 Attendre 10 minutes		 
(GEL)	Gélatine	gélatinase		Lecture directe		
GLU à ARA = zymogramme	Substrat carboné (glucide)	Utilisation de substrats carbonés (glucides)	BBT	Lecture directe		
NO ₂ / N ₂	Nitrates (NO ₂)	Nitrate réductase		Lecture indirecte Ajouter 1 goutte de NIT1 et NIT2 et zinc éventuellement		

Annexes 5 : la fiche des résultats standards de la galerie Oxioid RapiD ONE :

remel

RapID™ ONE

Report Form

Reference #, No. de référence, Referenz-Nr. _____

Date, Date, Datum _____

Tech, Tech, Techn. _____

Source, Source, Quelle _____

Reagent / Réactif / Reagenz	None, Aucun, Keine													RapID ONE Reagent / Réactif RapID ONE / RapID ONE Reagens			None / Aucun / Keine		RapID Spot Indole	
	Red or violet / Rouge ou violet / Rot oder Violett	Bright Purple or blue / Violacé brillant ou bleu / Leuchtendes Purpur oder Blau			Yellow / Jaune / Gelb									Red / Rouge / Rot	Violet, purple, red, or dark pink / Violet, violacé, rouge ou rose soutenu / Purpur, Violett, Rot oder Dunkelrosa			Yellow or very light orange / Jaune ou orange très clair / Gelb oder sehr helles Orange		Brown, black, or purple / Marron, noir ou violacé / Braun, Schwarz oder Purpur
Cavity #, No. cavité / Kammer-Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	18	
Test Code / Code du test / Testcode	URE	ADH	ODC	LDC	TET	LIP	KSF	SBL	GUR	ONPG	βGLU	βXYL	NAG	MAL	PRO	GGT	PYR	ADON	IND	OO
Value / Valeur / Wert	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2
Result / Résultat / Ergebnis																				
Value Total / Total des valeurs / Gesamtwert																				

IDENTIFICATION / IDENTIFICATION /



Annexes 6 : le tableau de la lecture de la galerie biochimique Oxioid RapiD ONE :

RapID™ ONE Color Guide

Test Test Test Test Prueba	Cavity Cavité Kammer-Nr. Pozetto Pocillo	Positive Reactions Réactions positives Positive Reaktionen Reazioni positive Reacciones positivas	Negative Reactions Réactions négatives Negative Reaktionen Reazioni negative Reacciones negativas
URE	1	 	 
ADH	2		
ODC	3	 	  
LDC	4		
TET	5		
LIP	6		
KSF	7		 
SBL	8		
GUR	9		
ONPG	10		
βGLU	11		  
βXYL	12		
NAG	13		
MAL	14		 
ADON	18	 	 
PRO	15		
GGT	16	   	   
PYR	17		
IND	18	  	 

Note: RapID™ Color Guides are intended as an educational aid to be used in conjunction with the Instructions For Use for the product. The reaction colors shown in the charts represent the typical shades of positive and negative colors.

Remarque: les guides de coloration RapID™ sont conçus pour être utilisés comme supports de formation en association avec le Mode d'emploi du produit. Les couleurs de réaction indiquées dans les tableaux représentent les nuances typiques des colorations positives (+) et négatives (-).

Anmerkung: Die RapID™ Farbskalen sind als Lehrmittel bestimmt und zusammen mit der Gebrauchsanweisung für das Produkt zu verwenden. Die in den Tabellen enthaltenen Reaktionsfarben stellen die typischen Farbschattierungen für positive (+) und negative (-) Reaktionen dar.

Nota: le guide ai colori RapID™ sono un supporto formativo da utilizzare in abbinamento alle Istruzioni per l'uso del prodotto. I colori della reazione presenti nelle tavole rappresentano le sfumature tipiche dei colori positivi (+) e negativi (-).

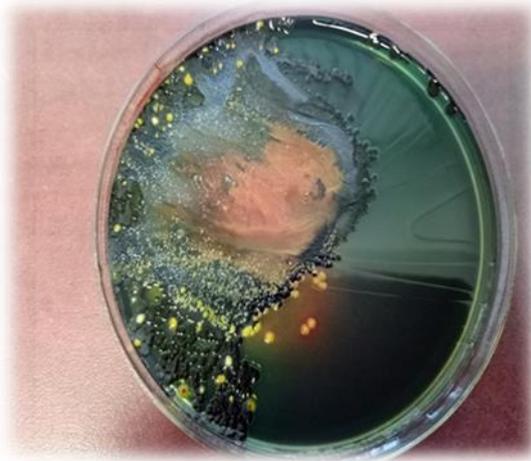
Nota: Las Guías de colores RapID™ han sido concebidas como una ayuda de formación para su utilización con las Instrucciones de uso del producto. Los colores de reacción mostrados en los diagramas representan los tonos típicos de colores de positivo (+) y negativo (-).

Rev. Date 6/04/2010
Date de rév. 04/06/2010
Überprüft am: 04.06.2010
Data rev. 6/4/2010
Fecha de revisión 4-6-2010

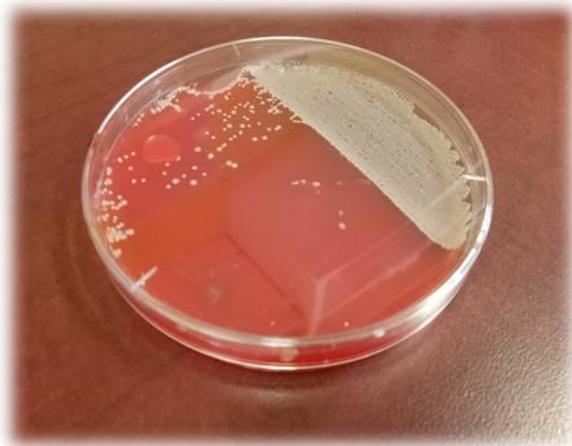
12076 Santa Fe Drive
Lenexa, KS 66215
800-255-6730
www.remel.com

remel
Part of Thermo Fisher Scientific

Annexes 7 : Aspect des colonies de certaines souches isolées sur les différents milieux gélosés



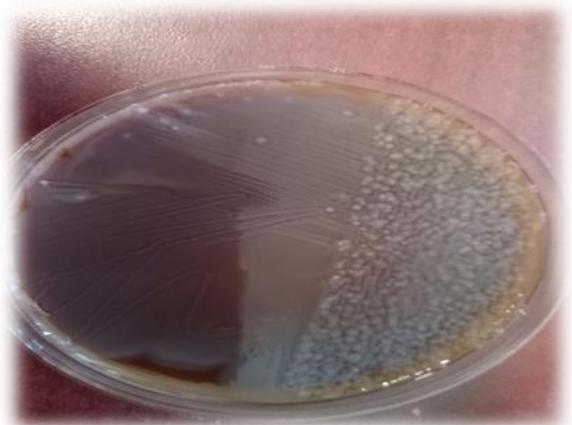
Proteus mirabilis sur Gélose Hecktoen



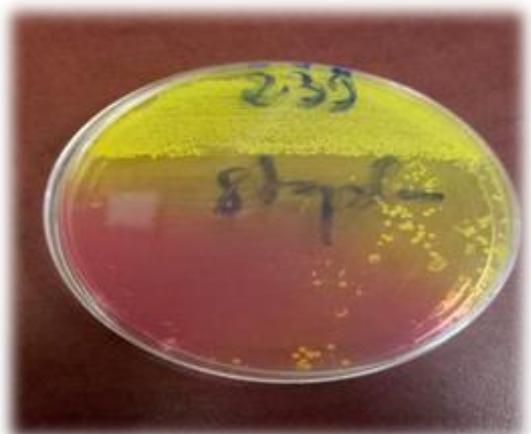
Streptocoque sur Gélose au sang frais



Acinetobacter sur Gélose au sang frais



Acinetobacter sur Gélose au sang cuit



Staphylococcus aureus sur milieu
Chapman



Staphylocoque blanc sur milieu Chapman

Annexes 8 : Des exemplaires des fiches d'antibiogramme.

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية




MINISTRE DE LA DEFENSE NATIONALE
5° REGION MILITAIRE
CHAHID ZIGHOUT YUCEF
HOPITAL MILITAIRE REGIONAL UNIVERSITAIRE
BENBAATOUCHE ABDELALI DE CONSTANTINE
LABORATOIRE CENTRAL - UNITE DE MICROBIOLOGIE
 Poste : 50-551

Nature du Prélèvement: **Service :** **N° :**

EXAMEN DIRECT :

DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE :

ANTIBIOGRAMME POUR STAPHYLOCOQUE

β LACTAMINES			AMINOSIDES		
Pénicilline G			Kanamycine		
Oxacilline			Amikacine		
Céfoxitine			Tobramycine		
M . L . S			Gentamicine		
Erythromycine <i>(Interprétation valable pour azithromycine, clarithromycine, dirithromycine et roxithromycine)</i>			FLUOROQUINOLONES		
Spiramycine <i>(Interprétation valable pour josamycine et midécamycine)</i>			Ofloxacine <i>(Interprétation valable pour péfloxacine, Ciprofloxacine et lévofloxacine)</i>		
Lincomycine			DIVERS		
Clindamycine			Acide fusidique		
Pristinamycine			Chloramphénicol		
GLYCOPEPTIDES			Rifampicine		
Vancomycine			Fosfomycine		
Teicoplanine			Nitrofuranes		
CYCLINES			Triméthoprim- Sulfaméthoxazole		
Tétracycline			Linézolide		
doxycycline					

S : Sensible, I : Intermédiaire, R : Résistant

Constantine le :

LE MEDECIN

LE MEDECIN



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

MINISTRE DE LA DEFENSE NATIONALE
5° REGION MILITAIRE
CHAHID ZIGHOUT YUCEF
HOPITAL MILITAIRE REGIONAL UNIVERSITAIRE
BENBAATOUCHE ABDELALI DE CONSTANTINE



LABORATOIRE CENTRAL - UNITE DE MICROBIOLOGIE

Poste : 50-649

Nom :

Prénom :

Age:

Nature du Prélèvement:

Service :

N° :

EXAMEN DIRECT :

DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE:

ANTIBIOGRAMME POUR STREPTOCOQUE

β LACTAMINES			AMINOSIDES		
Pénicilline G			Gentamicine HN		
Ampicilline			FLUOROQUINOLONES		
Céfotaxime			Norfloxacine		
M . L . S			Lévofloxacine		
Erythromycine (Interprétation valable pour azithromycine, clarithromycine, dirithromycine et roxithromycine)			Moxifloxacine		
Spiramycine			DIVERS		
Lincomycine			Chloramphénicol		
Clindamycine			Rifampicine		
Pristinamycine			Nitrofuranes		
GLYCOPEPTIDES			Oxacilline 1		
Vancomycine			Oxacilline 5		
CYCLINES			Triméthoprim- Sulfaméthoxazole		
Tétracycline (Interprétation valable pour Doxycycline et Minocycline)			Fosfomycine		
			Télithromycine		

S : Sensible, I : Intermédiaire, R : Résistant

Constantine le :

LE MEDECIN



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

MINISTRE DE LA DEFENSE NATIONALE
5° REGION MILITAIRE
CHAHID ZIGHOUT YUCEF
HOPITAL MILITAIRE REGIONAL UNIVERSITAIRE
BENBAATOUCHE ABDELALI DE CONSTANTINE



LABORATOIRE CENTRAL - UNITE DE MICROBIOLOGIE

Poste : 50-551

Nom : Prénom : Age : /.

Nature du Prélèvement : Service : N° :

EXAMEN DIRECT :

DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE :

ANTIBIOGRAMME POUR ENTEROBACTERIES

PENICILLINES			AMINOSIDES		
Ampicilline			Amikacine		
Amoxicilline			Gentamicine		
Amoxicilline - ac. clavulanique			Tobramycine		
Ticarclilline			QUINOLONES / FLUOROQUINOLONES		
Pipéracilline			Acide nalidixique		
CEPHALOSPORINES			Norfloxacine		
Céfazoline			Ofloxacine		
Céfalotine/Céfalexine			Ciprofloxacine		
Cefoxitine			DIVERS		
Céfotaxime			Colistine		
Ceftriaxone			Triméthoprim- Sulfaméthoxazole		
Céfixime			Furanes		
Céfépime			Fosfomycine		
Cefpirome			Chloramphénicol		
CARBAPENEMES					
Imipénème					
Ertapénème					

S : Sensible, I : Intermédiaire, R : Résistant

Constantine le :

LE MEDECIN

Annexe 9: Classification UT (University of Texas)

	Lésion épithélialisée	Plaie superficielle	Exposition tendon ou capsule	Exposition os ou articulation
Stade A Infection = 0 Ischémie = 0	0A (0 %)	1A (0 %)	2A (0 %)	3A (0 %)
Stade B Infection Pas d'ischémie	0B (12,5 %)	1B (8,5 %)	2B (28,6 %)	3B (92 %)
Stade C Pas d'infection Ischémie	0C (25 %)	1C (20 %)	2C (25 %)	3C (100 %)
Stade D Infection et ischémie	0D (50 %)	1D (50 %)	2D (100 %)	3D (100 %)

Les pourcentages indiquent le risque d'amputation.

Annexe 10 : Classification de l'infection des plaies du pied selon le Consensus International sur le Pied Diabétique

Grade 1	
Pas de signe d'infection (figure 11.1)	Pas de symptôme ni de signe d'infection
Grade 2	
Infection de grade 2 (figure 11.2)	Atteinte cutanée uniquement (sans atteinte des tissus sous-cutanés, ni systémique) avec au moins deux des signes suivants : - érythème < 2 cm autour de la plaie - sensibilité locale ou douleur - tuméfaction locale ou induration - écoulement purulent (sécrétion épaisse opaque à blanchâtre ou sanguinolente) Les autres causes de réaction inflammatoire de la peau doivent être éliminées (traumatisme, goutte, pied de Charcot aigu, fracture, thrombose, stase veineuse)
Grade 3	
Infection de grade 3 (figure 11.3)	Érythème > 2cm et des constatations écrites ci-dessus ou Infection atteignant les structures au-delà de la peau et du tissu sous-cutané (abcès profond, lymphangite, ostéite, arthrite septique ou fasciite) Sans signes systémiques
Grade 4	
Infection de grade 4 (figure 11.4)	Quelque soit l'infection locale, si présence de signes systémiques avec au moins deux des caractéristiques suivantes : - température > 38 ° ou < 36 °C - fréquence cardiaque > 90/mn - rythme respiratoire > 20/mn - PaCO ₂ < 32 mm Hg - leucocytes > 12 000 ou < 4 000/mm ³ - 10 % de formes leucocytaires immatures

Annexe 11 : Break-points des antibiotiques selon le CLSI

Antibiotiques	Break-point
Amx/Amp	14-16
Amx+ac.clav	15-20
Ticarcilline	15-19
Tic+ac-clav	15-19
Pipéracilline	18-20
Pip/tazobactam	18-20
Imipénème	14-15
Céfazoline	15-17
Céfoxitine	15-17
Céfotaxime	15-22
Ceftazidime	15-17
Céfotétan	15-17
Aztréonam	16-21
Cefépime	15-17
Tobramycine	13-14
Amikacine	15-17
Gentamicine	13-14
Kanamicyne	14-17
Isépanmycine	15-17
Triméthoprim- Sulfaméthaxazole	11-15
Ac-nalidixique	14-18
Pefloxacine	13-15
Ciprofloxacine	16-20

Profil de résistance des bactéries associées à l'infection du pied diabétique au niveau de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine (HMRUC)

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en microbiologie

Parmi les complications du diabète les infections du pied diabétique, constituent un problème majeur et croissant dans le monde entraînant des conséquences médicales, sociales et économiques. Les objectifs de cette étude sont l'isolement et l'identification des germes en cause et la détermination de leur profil de résistance. Il s'agit d'une étude rétrospective des deux années (2016 / 2017) et d'un travail de paillasse de deux mois (Février / Mars 2018) au niveau de l'Hôpital Militaire régional universitaire Constantine basé sur l'interprétation des résultats des antibiogrammes et des dossiers médicaux des archives de l'unité microbiologie – parasitologie et du service de médecine interne respectivement.

Sur un total de 278 prélèvements réalisés à partir de 146 patients hospitalisés 70.86 % ont été considérés comme positifs dont 72.08 % sont poly-microbiens, le sexe masculin est le plus exposé à l'infection du pied diabétique. 273 souches bactériennes ont été identifiées, avec prévalence des bacilles à Gram négatif avec 66.30% suivi par les cocci à Gram positif avec 33.69%. La répartition par espèce montre une prédominance de *Staphylococcus aureus*, dont 69% sont résistants à la méticilline. Les entérobactéries présentent un taux de résistance élevé à l'ampicilline, ampicilline + acide clavulanique et la céfazoline ; une activité élevée pour l'IMP a été notée. Pour toutes les cocci à Gram positif aucune souche résistante à la vancomycine n'a été isolée. Sur les 50 souches BLSE identifiées, les plus isolées sont *E.coli* par 12 isolats et *Klebsiella pneumoniae* par 11 isolats. Les résistances aux antimicrobiens sont considérées comme une menace majeure pour la santé publique. La principale cause de résistance aux antimicrobiens est l'utilisation abusive des antibiotiques. Le respect des mesures de lutte contre la diffusion de la résistance bactérienne s'avère primordiale. Donc la connaissance des résultats relatifs à la culture et à la sensibilité aide à adapter le choix de traitement antimicrobien. A côté des moyens thérapeutiques et de surveillance qui figurent dans tous les programmes d'éducation diabétique, il y a lieu d'accorder une place privilégiée aux mesures hygiéniques, parallèlement adopter une alimentation saine et équilibrée et pratiquer régulièrement une activité physique ou sportive qui sont les clés pour stabiliser la glycémie.

Mots clés : diabète, pied diabétique, infection du pied diabétique, résistances aux antibiotiques, bacilles à Gram négatif, cocci à Gram positif

Laboratoire de recherche : laboratoire de microbiologie de (HMRUC)

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mr GUIT W. (Maître assistant – HMRU Constantine).

Rapporteur : Mme SEKHRI-ARAFI N. (Maître de conférence A - UFM Constantine).

Examineur : Mme CHENTLI A. (Maître de conférence B - UFM Constantine).

Date de soutenance : 25/06/2016