



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Université des Frères Mentouri Constantine 1  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie Appliquée



## *Mémoire*

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master Professionnel

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie et Hygiène Hospitalière

### Intitulé

---

# Bactériologie du pied diabétique au CHU de Constantine

---

Soutenu le: 15/09/2020

Présenté et soutenu par: *OUINA Dikra*

*SOUDOUS Djihene*

**Jury d'évaluation :**

**Président :** Mr BELMAHI H. (*Professeur en Toxicologie – CHU de Constantine*)

**Encadrant :** Mr. BENLABED K. (*Professeur en Microbiologie - CHU de Constantine*)

**Examineur :** Mme. BENHAMDI A. (*Maître de conférences B – UFM Constantine 1*)

**Année universitaire**

*2019/2020*



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Université des Frères Mentouri Constantine 1  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie Appliquée



## *Mémoire*

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master Professionnel

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie et Hygiène Hospitalière

### Intitulé

---

# Bactériologie du pied diabétique au CHU de Constantine

---

Soutenu le: 15/09/2020

Présenté et soutenu par : *LOUDINA Dikra*

*SOUDOUS Djihene*

**Jury d'évaluation :**

**Président :** Mr BELMAHI H. (*Professeur en Toxicologie – CHU de Constantine*)

**Encadrant :** Mr. BENLABED K. (*Professeur en Microbiologie - CHU de Constantine*)

**Examineur :** Mme. BENHAMDI A. (*Maître de conférences B – UFM Constantine 1*)

**Année universitaire**

*2019/2020*

## *Remerciement*

*Suite à l'aboutissement de ce travail, nous tenons d'abord à remercier ALI.AH le tout vaillant qui nous a donné la vigueur l'opiniâtreté et surtout la patience d'accomplir notre stage qui a abouti à ce travail dans les circonstances actuelles de cette pandémie mondiale du Covid-19.*

*Ce mémoire peut être l'occasion d'exprimer une gratitude sincère envers les personnes qui ont apporté une aide, une écoute ou simplement une chaleur gratuite et généreuse.*

*Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements et notre grande gratitude à notre encadreur **Pr. BENLABED K** pour sa disponibilité, sa confiance, sa qualité d'encadrement professionnel et surtout sa patience ainsi que pour les précieuses informations qu'il nous a prodiguées avec intérêt et compréhension malgré sa charge académique et professionnelle. Qu'il trouve dans ce travail un hommage vivant à sa haute personnalité.*

*Nous tenons à gratifier aussi **Mr. BELMAHI H** pour l'intérêt qu'il a apporté à notre recherche en acceptant de présider le jury de ce mémoire.*

*Nous adressons également nos vifs remerciements à **Mme. BENHAMDI A**, d'abord pour avoir bien voulu examiner ce travail, mais aussi d'avoir eu l'amabilité de nous écouter et nous guider. Ses remarques pertinentes ont contribué sans doute au perfectionnement du présent travail. Nous lui avons toujours admiré son professionnalisme ainsi que sa compétence et sa disponibilité.*

*Ses qualités scientifiques, pédagogiques et surtout humaines seront pour nous un exemple à suivre dans l'exercice de notre profession.*

*Nos profonds remerciements vont également à toutes les personnes qui nous ont aidées et soutenues de près ou de loin, à tout l'effectif du service de Microbiologie au CHUC, principalement au résident KAOUECHE*

## Dédicace

**Je dédie ce travail :**

### *Au meilleur des papas Hacene*

Tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux et honnête. Je tiens à honorer l'homme que tu es.

Grâce à toi papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Je voudrai te remercier pour ton amour, ta générosité, ta compréhension...

Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai pour toi.

Ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices que tu as déployés pour mon éducation et ma formation. J'implore Allah le tout puissant pour qu'il t'accorde une bonne santé et une vie longue et heureuse.

### *A ma très chère maman Nassira HAMLAOUI*

Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple de la femme forte, combattante et courageuse.

Tes prières et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.

Aucune dédicace en saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance.

Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse ALLAH, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

### *A mon très cher binôme Djihene SOUDOUS et à toute sa famille*

Je te suis très reconnaissante et je ne te remercierai jamais assez pour ton amabilité, ta générosité et ton soutien.

### *A ma sœur Batoul, ma conseillère qui m'a prise doucement par la main pour traverser ensemble des épreuves pénibles...*

Aucune dédicace ne peut exprimer mon amour et ma gratitude de t'avoir comme sœur.

Tu comptes énormément pour moi et je ne pourrais jamais imaginer la vie sans toi.

Tu es la sœur qui assure son rôle comme il faut. Je n'oublierai jamais ton encouragement et ton soutien le long de mes études, je t'estime et je t'aime beaucoup.

Je te souhaite beaucoup de succès, de prospérité et une vie pleine de joie et de bonheur.

### ***A mon beau-frère Brahim***

En témoignage de l'attachement et le respect que je porte pour vous.

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

### ***A mon cher neveu Abderahmane***

Avoir un neveu est le plus beau cadeau qu'un frère ou une sœur puisse offrir. Ton envie de parcourir le monde, ton enthousiasme et ta joie de vivre sont inestimables.

Tu as apporté beaucoup de bonheur à notre famille. Je t'aime

### ***A ma chère et unique nièce Asma***

Aucune dédicace ne saurait exprimer tout l'amour que j'ai pour toi. Ton sourire et ta gaieté me comblent d'amour et de bonheur.

Pour l'espoir que graves de jour en jour dans mon cœur.

Qu'Allah t'accorde un avenir meilleur et que t'arrivera là où tu veux.

### ***Aux plus beaux cadeaux qu'ALLAH ma offerts, à mes 2 chers petits neveux, la prunelle de mes yeux Abdoullah et Ismail***

Le bonheur que vous avez apporté à ma vie est incomparable. Qu'Allah vous prête longue vie et beaucoup de santé et de bonheur dans votre vie.

### ***A mon frère Mohamed***

Ces quelques lignes, ne sauraient traduire le profond amour que je porte pour toi.

Que ce travail soit l'expression de mon estime pour toi et qu'Allah te protège, t'accorde santé, succès et plein de bonheur dans la vie.

### ***A mon cher fiancé Samy***

Aucun mot ne saurait t'exprimer mon profond attachement et ma reconnaissance pour l'amour, la tendresse et la gentillesse dont tu m'as toujours entourée.

J'aimerais bien que tu trouves dans ce travail l'expression de mes sentiments les plus sincères car grâce à ton aide, ta compréhension, ta patience et surtout ton soutien moral que ce travail a pu voir le jour.

Qu'ALLAH le tout puissant nous accorde un avenir meilleur

### ***A mes amies pour toujours : Ibtissem, Belkis, Ines, Djihed et Amina***

Vous êtes pour moi des sœurs et des amies sur qui je peux compter. En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble.

Je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

### ***A la mémoire de mon oncle et mes grands-parents***

J'aurais aimé que vous soyez là avec moi .Puisse Allah vous avoir en sa sainte miséricorde et que ce travail soit une prière pour votre âme.

*Debra OUDMA*

## Dédicace

### *Je dédie ce mémoire*

*À ceux qui mon avenir compte tant, à mes chers parents*

*À toi mon père **Abdellah SOUDOUS***

*L'homme de ma vie, mon exemple éternel, ma source de joie*

*À toi maman **Salima MEZDOUR***

*Mon idole, ma vie, mon bonheur ma source de tendresse et la lumière de mes  
jours.*

*Merci pour votre soutien très précieux, vos sacrifices, votre compréhension,  
votre amour et tendresse. Merci d'avoir cru en moi, merci pour mon  
instruction et mon bien être.*

*Quoi que je vous dise, je ne pourrais jamais vous remercier assez. Je suis  
très fière d'être votre fille et de pouvoir enfin réaliser ce que vous avez tant  
espéré de moi.*

*Que Dieu vous garde pour moi.*

*À mes chères adorables sœurs, mes complices que j'aime du plus profond de  
mon cœur : **Malak, Maria, Ibtihel, Oumeima et Loudjaine***

*Je vous dédie ce travail en témoignage des liens solides et intimes qui nous  
unissent et pour votre soutien, vos encouragements*

*À mon beau-frère **Mouhamed** et mon chère petit neveu **Chahine Kenzy**  
« mon ange »*

*À mes grands-parents ainsi que toute ma famille*

*À mon cher binôme **Dikra Oudina***

*Merci pour ton soutien, ta patience et ta compréhension*

*A mes très chères amies : **Maya, Dounia, Lina, Foulla, Soumia, Fanny,**  
**Sara, Maria, Ismahene.***

*Merci pour votre sincère amitié et confiance*

***Djihene SOUDOUS***

## Résumé

Cette étude a pour objectifs d'étudier les bactéries responsables des infections du pied diabétique ainsi que leurs profils de résistance aux antibiotiques. Elle a été réalisée dans le service de Microbiologie du CHUC. Il s'agit d'une étude rétrospective et d'une étude prospective qui s'étalent respectivement sur une période d'un an (2019) et un mois du (09/02/2020) au (08/03/2020). Nous avons étudié 710 prélèvements de patients admis au service de médecine interne et d'endocrinologie du CHUC. L'identification bactérienne a été faite par les méthodes conventionnelles et l'antibiogramme est réalisé par la méthode de diffusion sur gélose. Sur 496 prélèvements positifs, 75,6% étaient des prélèvements de pus et 24,4% étaient des prélèvements d'hémocultures. Les principaux germes retrouvés sont *Proteus mirabilis* (16,3%), suivi par *Escherichia coli* (11,7%), *Staphylococcus aureus* (10,7%) et *Pseudomonas aeruginosa* (9,8%). Nous avons enregistré des taux de résistance élevés aux principales familles d'antibiotiques testés. Nous avons évalué des taux de résistance élevés de *Proteus mirabilis* vis-à-vis de beaucoup d'antibiotiques: 83% à l'Amoxicilline, 44% à la Gentamicine, 34% au Céfotaxime, 72% à la Céfazoline, 47% à la Ciprofloxacine. *Acinetobacter baumannii* est le germe le plus résistant. En effet, 80% des souches de cette espèce sont résistantes à tous les antibiotiques sauf à la Colistine qui reste active. Une collaboration cliniciens-biologistes est indispensable. Mais, il faut également promouvoir des programmes d'éducation sanitaires concentrés et évaluables, développer des unités de soins spécialisés dans le dépistage et le traitement des pieds diabétiques.

**Mots clés:** pied diabétique, infection, antibiotiques, résistance bactérienne.

## **Abstract**

The objectives of this study are to study the bacteria responsible for diabetic foot infections as well as their antibiotic resistance profiles. It was performed in the Microbiology department of the CHUC. This is a retrospective study and a prospective study spanning a period of one year (2019) and one month respectively from (02/09/2020) to (03/08/2020). We studied 710 samples from patients admitted to the internal medicine and endocrinology department of the CHUC. Bacterial identification was done by conventional methods and the antibiogram is performed by the agar diffusion method. Of 496 positive swabs, 69,9% were pus swabs. The main germs found are *Proteus mirabilis* (16,3%), followed by *Escherichia coli* (11,7%), *Staphylococcus aureus* (10,7%) and *Pseudomonas aeruginosa* (9.8%). We recorded high rates of resistance to the main families of antibiotics tested. We have evaluated high resistance rates of *Proteus mirabilis* to many antibiotics: 83% to Amoxicillin, 44% to Gentamicin, 34% to Cefotaxime, 72% to Cefazolin, 47% to Ciprofloxacin. *Acinetobacter baumannii* is the most resistant germ. In fact, 80% of the strains of this species are resistant to all antibiotics except Colistin, which remains active. Collaboration between clinicians and biologists is essential. But, we must also promote concentrated and evaluable health education programs, develop specialized care units in the screening and treatment of diabetic feet.

**Keywords:** diabetic foot, infection, antibiotics, bacterial resistance.

## ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى دراسة البكتيريا المسؤولة عن التهابات القدم السكرية بالإضافة إلى خصائصها المقاومة للمضادات. تم إجراؤها في قسم علم الأحياء الدقيقة والحيوية. هذه دراسة بأثر رجعي ودراسة مستقبلية تمتد لمدة عام واحد (2019) وشهر واحد على التوالي من (2020/02/09) إلى (2020/03/08). تمت دراسة 710 عينة من المرضى الذين تم إدخالهم قسم الطب الباطني والغدد الصماء في مستشفى ابن باديس قسنطينة. تمت دراسة المضاد الحيوي بطريقة انتشار الأجار و تم التعرف على البكتيريا بالطرق التقليدية. من بين 496 عينية إيجابية، كانت 69.9% عبارة عن مسحات صديد. الجراثيم ، (11,7%) (*Escherichia coli* *Proteus mirabilis* (16,% الرئيسية التي تم العثور عليها، تليها *Staphylococcus aureus* (10,7%) *Pseudomonas aeruginosa* (9,8%) سجلنا معدلات مقاومة عالية للعائلات الرئيسية للمضادات الحيوية التي تم اختبارها قمنا بتقييم معدلات المقاومة (9,8%) للجنتاميسين، 34 لسيفوتاكسيم، %44 للموكسيسيلين، 44% للعديد من المضادات الحيوية: *Proteus mirabilis* العالية لـ هي الجرثومة الأكثر مقاومة. في الواقع، *Acinetobacter baumannii* 72.% لسيفازولين، 47.% إلسيبيروفلوكساسين 80% من سلالات هذا النوع تقاوم جميع المضادات الحيوية باستثناء الكوليستين الذي يظل نشطاً. التعاون بين الأطباء وعلماء الأحياء أمر ضروري. ولكن، يجب علينا أيضاً تعزيز برامج التنقيف الصحي المركزة والقابلة للتقييم، وتطوير وحدات رعاية متخصصة في فحص وعلاج أقدام مرضى السكري.

**الكلمات المفتاحية:** القدم السكرية، العدوى، المضادات الحيوية، مقاومة البكتيري.

## Liste des figures

<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
1	Physiopathologie du diabète type 1.	6
2	Physiopathologie du diabète type 2.	7
3	Complications du diabète.	12
4	Contamination endogène.	17
5	Contamination exogène.	18
6	Cheminement menant aux plaies du pied chez les personnes atteintes du diabète.	22
7	Recueil des données du registre de bactériologie générale.	40
8	Prélèvements de pus.	43
9	Flacons d'hémoculture pour automate BACT/ALERT.	45
10	Microscope optique.	47
11	Milieux de culture.	48
12	Automate BACT/ALERT.	49
13	Milieu TSI négatif.	50
14	Milieu Citrate de Simmons négatif.	51
15	Milieu urée-indole négatif.	52
16	Peroxyde d'hydrogène.	53
17	Test coagulase positive.	54
18	Milieu mannitol-mobilité négatif.	54
19	Automate WalkAway.	55
20	Préparation de l'inoculum pour l'antibiogramme.	56
21	Distributeurs de disques d'antibiotiques.	57
22	Taux de positivité global ( <b>n=710</b> ).	60
23	Répartition des examens selon la nature du prélèvement ( <b>n=710</b> ).	61
24	Répartition des examens positifs selon la nature de prélèvements ( <b>n=496</b> ).	62
25	Répartition des prélèvements positifs selon le sexe ( <b>n=496</b> ).	63
26	Répartition des examens en fonction de la nature de prélèvements et du sexe ( <b>n=496</b> ).	64
27	Résultats positifs en fonction des mois et de la nature de prélèvements ( <b>n=710</b> ).	65
28	Fréquence des bactéries isolées ( <b>n=496</b> ).	67

<b>29</b>	Répartition des entérobactéries (n=289).	<b>69</b>
-----------	--	-----------

## Liste des tableaux

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	Caractéristiques respectives des diabètes de type 1 et 2.	<b>8</b>
<b>2</b>	Diagnostic positif et étiologique du diabète.	<b>13</b>
<b>3</b>	Les paramètres de la classification PEDIS et leurs grades de sévérité.	<b>20</b>
<b>4</b>	Taux de positivité globale.	<b>60</b>
<b>5</b>	Répartition des examens selon la nature du prélèvement (n= 710).	<b>61</b>
<b>6</b>	Répartition des examens positifs selon la nature de prélèvement (n=496).	<b>62</b>
<b>7</b>	Répartition des prélèvements positifs selon le sexe (n=496).	<b>63</b>
<b>8</b>	Répartition des examens en fonction de la nature de prélèvement et du sexe (n=496).	<b>64</b>
<b>9</b>	Fréquence des bactéries isolées (n=496).	<b>66</b>
<b>10</b>	Répartition des bactéries selon la fréquence (n= 496).	<b>68</b>
<b>11</b>	Répartition des bactéries isolées en fonction des familles (n= 496).	<b>69</b>
<b>12</b>	Fréquence des bactéries isolées dans les prélèvements de pus (n=408).	<b>70</b>
<b>13</b>	Fréquence des bactéries isolées dans les prélèvements des hémocultures (n= 88).	<b>71</b>
<b>14</b>	a) Fréquence des bactéries isolées selon le sexe (homme) (n=255).	<b>72</b>
	b) Fréquence des bactéries isolées selon le sexe (homme) (n=241).	<b>73</b>
<b>15</b>	Taux de résistance de <i>Proteus mirabilis</i> (n=81).	<b>74</b>
<b>16</b>	Taux de résistance d' <i>Escherichia coli</i> (n=58).	<b>75</b>
<b>17</b>	Taux de résistance de <i>Staphylococcus aureus</i> (n=53).	<b>76</b>
<b>18</b>	Taux de résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (n=51).	<b>77</b>
<b>19</b>	Taux de résistance de <i>Morganella morganii</i> (n=49).	<b>78</b>
<b>20</b>	Taux de résistance de staphylocoque à coagulase négative (n= 46).	<b>79</b>
<b>21</b>	Taux de résistance de <i>Proteus vulgaris</i> (n=43).	<b>80</b>
<b>22</b>	Taux de résistance de <i>Klebsiella spp.</i> (n=39).	<b>81</b>

<b>23</b>	Taux de résistance d' <i>Enterococcus spp.</i> ( <b>n=29</b> ).	<b>82</b>
<b>24</b>	Taux de résistance d' <i>Enterobacter spp.</i> ( <b>n=19</b> ).	<b>83</b>
<b>25</b>	Taux de résistance d' <i>Acinetobacter baumannii</i> ( <b>n=15</b> ).	<b>84</b>

## Liste d'abréviations

<b>MODY</b>	Maturity-Onset Diabetes of the Young
<b>OMS</b>	Organisation Mondiale de la Santé
<b>OGTT</b>	Oral Glucose Tolerance Test
<b>PEDIS</b>	Perfusion, Extent, Depth, Infection, Sensation
<b>IV</b>	Intra-veineux
<b>CMI</b>	Concentration Minimale Inhibitrice
<b>SARM</b>	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline.
<b>BNF</b>	Bacilles non fermentants
<b>C1G</b>	Céphalosporines de 1 <sup>ère</sup> génération
<b>C2G</b>	Céphalosporines de 2 <sup>ème</sup> génération
<b>C3G</b>	Céphalosporines de 3 <sup>ème</sup> génération
<b>MH</b>	Mueller-Hinton
<b>pH</b>	Potentiel hydrogène ; unité de mesure d'acidité
<b>TSI</b>	Triple-Sugar-Iron
<b>UFC</b>	Unité formant colonie, unité permettant de dénombrer les bactéries vivantes
<b>CLIN</b>	Comité de Lutte contre les Infections Nosocomiales
<b>H<sub>2</sub>S</b>	Hydrogène sulfuré
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Peroxyde d'hydrogène
<b>Red/Ox</b>	Réaction d'oxydoréduction
<b>PEN</b>	Pénicilline
<b>AMX</b>	Amoxicilline
<b>OXA</b>	Oxacilline
<b>AMC</b>	Amoxicilline+Acide Clavulanique
<b>CZ</b>	Céftazidime
<b>CTX</b>	Céfotaxime
<b>FOX</b>	Céfoxitine
<b>IMP</b>	Imipenème
<b>TIC</b>	Ticarcilline

<b>CAZ</b>	Céfazoline
<b>PIP</b>	Pipéracilline
<b>AMK</b>	Amikacine
<b>GEN</b>	Gentamicine
<b>TOB</b>	Tobramycine
<b>KAN</b>	Kanamycine
<b>CIPRO</b>	Ciprofloxacine
<b>ERY</b>	Erythromycine
<b>SPI</b>	Spiramycine
<b>PRI</b>	Pristinamycine
<b>COL</b>	Colistine
<b>SXT</b>	Sulfaméthoxazol+Triméthopriime
<b>VAN</b>	Vancomycine
<b>FOS</b>	Fosmomycine
<b>CHL</b>	Chloramphénicol

## Table des matières

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste d'abréviations

Introduction..... 1

### Synthèse bibliographique

#### Chapitre 1: généralités sur le diabète

1. Diabète.....	4
1.1. Diabète de type 1 .....	4
1.2. Diabète de type 2 .....	4
1.3. Diabète gestationnel.....	4
1.4. Diabète infantile: diabète de type MODY .....	4
1.5. Autres types de diabète .....	4
1.6. Facteurs de risque .....	5
1.7. Physiopathologie du diabète type 1 .....	5
1.8. Physiopathologie du diabète type 2 .....	6
1.8.1. Surcharge pondérale.....	6
1.8.2. Insulino-résistance.....	6
1.8.3. Hyper-insulinisme et diminution de l'insulino-sécrétion .....	7
1.9. Epidémiologie.....	8
1.10. Complications .....	9
1.10.1. Complications microangiopathiques.....	9

1.10.2. Complications macroangiopathiques .....	10
1.10.3. Complications métaboliques.....	10
1.11. Diagnostic du diabète.....	12

## **Chapitre 2 : infections**

1. Les infections bactériennes chez le diabétique.....	<b>15</b>
1.1. Définition de l'infection.....	15
1.2. Stades de l'infection.....	15
1.3. L'infection bactérienne .....	16
1.4. Signes cliniques de l'infection bactérienne.....	16
1.5. Origine de l'infection bactérienne .....	16
1.5.1. Contamination endogène.....	16
1.5.2. Contamination exogène.....	17
1.6. Facteurs de risque favorisant l'infection chez le diabétique.....	18
1.7. Les infections bactériennes les plus fréquentes chez un sujet diabétique	19
1.7.1. Infections du pied diabétique.....	19
1.7.2. Infections urinaires.....	22
1.7.3. Infections du sang .....	23

## **Chapitre 3 : bactériologie**

1. Bactériologie	Erreur ! Signet non défini.....	<b>26</b>
1.1. Entérobactéries .....		26
1.1.1. <i>Escherichia coli</i> .....		26
1.1.2. Le groupe KES ( <i>Klebsiella - Enterobacter - Serratia</i> ).....		27
1.1.3. Le groupe PMP ( <i>Proteus - Morganella - Providencia</i> ).....		28

1.2. Cocci à Gram positif .....	29
1.2.1. Les staphylocoques .....	29
1.2.2. Les streptocoques .....	30
1.2.3. Les entérocoques .....	30
1.1. Bactéries à Gram négatif non fermentants .....	31
1.1.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	31
1.1.2. <i>Acinetobacter spp.</i> .....	31
1.2. Levures .....	32

## **Chapitre 4 : sensibilité aux antibiotiques**

1. Sensibilité aux antibiotiques .....	34
1.1. Antibiotique .....	34
1.2. Antibiogramme .....	34
1.3. Sensibilité des bactéries aux familles d'antibiotiques .....	35
1.3.1. Groupe PMP ( <i>Proteus-Morganella-Providencia</i> ) .....	35
1.3.2. <i>Escherichia coli</i> .....	35
1.3.3. Staphylocoques .....	35
1.3.4. Streptocoques .....	37
1.3.5. <i>Pseudomonas</i> .....	37
1.3.6. <i>Acinetobacter</i> .....	37

## **Matériel et méthodes**

<b>1. Présentation de l'étude .....</b>	<b>39</b>
1.1. Cadre et durée de l'étude .....	39
1.2. Considération éthique .....	39
<b>2. Matériel .....</b>	<b>39</b>
2.1. Matériel biologique .....	39

2.2. Critères d'inclusion .....	39
2.3. Population cible .....	39
2.4. Recueil des données .....	40
2.5. Matériel non biologique .....	40
<b>3. Méthodes.....</b>	<b>41</b>
3.1 Examen cyto bactériologique .....	41
3.1.1 Prélèvement .....	41
3.1.2 Acheminement/transport.....	45
3.1.3 Traitement des prélèvements.....	45
3.2 Antibiogramme .....	53
3.2.1 Inoculum.....	56
3.2.2 Ensemencement .....	56
3.2.3 Lecture et interprétation des résultats .....	57
 <b>Résultats</b>	
1. Profil clinique.....	<b>60</b>
1.1 Taux de positivité global .....	60
1.2 Répartition des examens selon la nature du prélèvement .....	61
1.3 Répartition des examens positifs selon la nature du prélèvement.....	62
1.4 Répartition des prélèvements positifs selon le sexe .....	63
1.5 Répartition des examens en fonction de la nature du prélèvement et du sexe.....	64
1.6 Résultats positifs en fonction des mois et de la nature du prélèvement ...	65
1.7 Fréquence des bactéries isolées .....	66
1.8 Répartition des bactéries selon la fréquence .....	68
1.9 Répartition des bactéries isolées en fonction des familles.....	69

1.10 Répartition des entérobactéries .....	69
1.11 Résultats selon le germe et la nature du prélèvement .....	70
1.12 Fréquence des germes isolés selon le sexe .....	72
<b>2. Résistance aux antibiotiques .....</b>	<b>74</b>
2.1 Taux de résistance de <i>Proteus mirabilis</i> .....	74
2.2 Taux de résistance d' <i>Escherichia coli</i> .....	75
2.3 Taux de résistance de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	76
2.4 Taux de résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	77
2.5 Taux de résistance de <i>Morganella morganii</i> .....	78
2.6 Taux de résistance de staphylocoque à coagulase négative .....	79
2.7 Taux de résistance de <i>Proteus vulgaris</i> .....	80
2.8 Taux de résistance de <i>Klebsiella spp.</i> .....	81
2.9 Taux de résistance d' <i>Enterococcus spp.</i> .....	82
2.10 Taux de résistance d' <i>Enterobacter spp.</i> .....	83
2.11 Taux de résistance d' <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	84

**Discussion.**

**Conclusion.**

**Bibliographie.**

**Annexe.**



# ***INTRODUCTION***

### Introduction

Le diabète est un problème de santé publique à l'échelle mondiale. Sa prévalence ainsi que son incidence n'ont cessé d'augmenter durant les 20 dernières années, faisant de cette maladie chronique, une véritable épidémie du 21<sup>ème</sup> siècle [1]. Il constitue la seconde cause de mortalité en Algérie et la cinquième dans le monde [2].

Courantes chez les diabétiques dont le diabète est mal contrôlé, les complications sont délétères pour les organes. Il s'agit des complications microangiopathiques et macroangiopathiques [3].

En effet, le pied diabétique est une complication particulièrement fréquente et potentiellement dévastatrice de la maladie du diabète avec un taux d'amputation élevé de membres inférieurs [4]. Il regroupe toute infection, ulcération ou destruction des tissus profonds du pied associées à une neuropathie et/ou une artériopathie périphérique des membres inférieurs, pouvant être engendrée par une bactériémie [5]

C'est pourquoi, l'ulcère du pied complique l'évolution du diabète dans 20% des cas. La neuropathie en est la cause première tandis que l'infection et l'artérite influencent profondément la prise en charge et le pronostic [6].

L'évaluation et la prise en charge de l'ulcère du pied diabétique nécessitent la connaissance des différents germes infectant les lésions du pied ainsi que leurs profils de résistance aux antibiotiques afin de permettre une prescription adaptée [4].

Les études traitant de la microbiologie des infections du pied diabétique rapportent que les bactéries aérobies à Gram positif sont les plus incriminées ; dans ce groupe, *Staphylococcus aureus* est la bactérie le plus souvent mise en évidence, de façon isolée ou au sein d'une population poly-microbienne [7].

Les infections modérées à sévères et les infections de plaies traumatiques sont souvent poly-microbiennes, avec des coques à Gram positif (*S.aureus*), des bacilles à Gram négatif (*Klebsiella spp.*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*...) et des bacilles à Gram négatif non fermentants (*Pseudomonas aeruginosa*...) [8].

## **Problématique**

Afin de mener à bien notre projet, nous avons souhaité profiter de l'expérience du service de Microbiologie au CHU de Constantine, pour une étude rétrospective d'un an (2019), en plus d'un travail prospectif d'un mois (du 09/02/2020 au 08/03/2030).

C'est dans cette optique de réflexion, suscitée par une problématique réelle qui existe déjà sur le terrain, les objectifs de notre travail sont :

- Décrire les espèces bactériennes isolées des prélèvements des patients hospitalisés dans le service d'endocrinologie et de médecine interne (qui prennent en charge le pied diabétique) ;
- Etudier leurs profils de résistance.

**SYNTHÈSE**  
**BIBLIOGRAPHIQUE**

## 1. Diabète

Le diabète est une maladie chronique grave qui se déclare lorsque le pancréas ne produit pas suffisamment d'insuline (hormone régulatrice de la glycémie), ou lorsque l'organisme n'est pas capable d'utiliser efficacement l'insuline qu'il produit [9].

### 1.1. Diabète de type 1

Le diabète de type 1 (connu auparavant sous le nom de diabète insulino-dépendant ou diabète juvénile) se caractérise par une production d'insuline insuffisante, et exige une administration quotidienne de cette dernière [9] voir tableau 1.

La cause de diabète de type 1 n'est pas connue, et en l'état des connaissances actuelles, il n'est pas évitable [9].

### 1.2. Diabète de type 2

Le diabète de type 2 (appelé jadis diabète non insulino-dépendant ou diabète adulte) résulte de l'utilisation inadéquate de l'insuline par l'organisme. Il est souvent la conséquence d'un excès pondéral et de l'inactivité physique [10] voir tableau 1.

Ses symptômes peuvent être les mêmes que ceux du diabète de type 1 mais sont souvent moins marqués. De ce fait, la maladie peut être diagnostiquée plusieurs années après son apparition, une fois les complications déjà présentes [10].

### 1.3. Diabète gestationnel

Le diabète gestationnel est une intolérance glucidique mise en évidence pour la première fois durant la grossesse. La physiopathologie de ce type de diabète est similaire à celle du diabète de type 2 et fait intervenir une majoration de la résistance à l'insuline et par la suite un déficit de la fonction pancréatique  $\beta$  [11].

### 1.4. Diabète infantile: diabète type MODY

Le diabète de la maturité des jeunes est une forme particulière, rare et différente du diabète auto-immun de type 1, caractérisé par une transmission autosomique dominante « Diabète familial » et une anomalie de la régulation de la sécrétion d'insuline. Il se manifeste dès l'enfance ou l'adolescence, d'où le nom : Maturity-Onset Diabetes of the Young [12].

### 1.5. Autres types de diabète

- Le diabète d'origine médicamenteuse par action directe au niveau des cellules bêta pancréatiques, par la diminution de l'effet de l'insuline au niveau périphérique du tissu

adipeux et musculaire, et en augmentant la production hépatique de glucose. Exemples: antirétroviraux, glucocorticoïdes, immunosuppresseurs, stéroïdes sexuels, etc [13].

- Le diabète secondaire à une infection : rubéole congénitale, cytomégalovirus, adénovirus, oreillons, etc. Ces infections microbiennes et leurs conséquences immunologiques sont suspectées dans la pathogénie de diabète [13].

### 1.6. Facteurs de risque

Une prédisposition héréditaire représente le premier facteur du diabète du type 1. Le fait d'avoir un parent, un frère ou une sœur atteinte de ce type de diabète augmente le risque. Si les deux parents souffrent de diabète de type 1, le risque est encore plus élevé [14].

Certains facteurs environnementaux peuvent également être la cause du déclenchement de ce type de diabète comme l'atteinte par quelques infections microbiennes [14].

Il est admis donc que la génétique, l'âge et des facteurs héréditaires peuvent constituer des risques de devenir diabétique, contre lesquels il n'y a pas de prévention. Mais certains comportements représentent des facteurs de risque pouvant être évités comme [15] :

- L'alimentation riche en sucre ;
- L'obésité et l'inactivité physique ;
- le stress et certains médicaments.

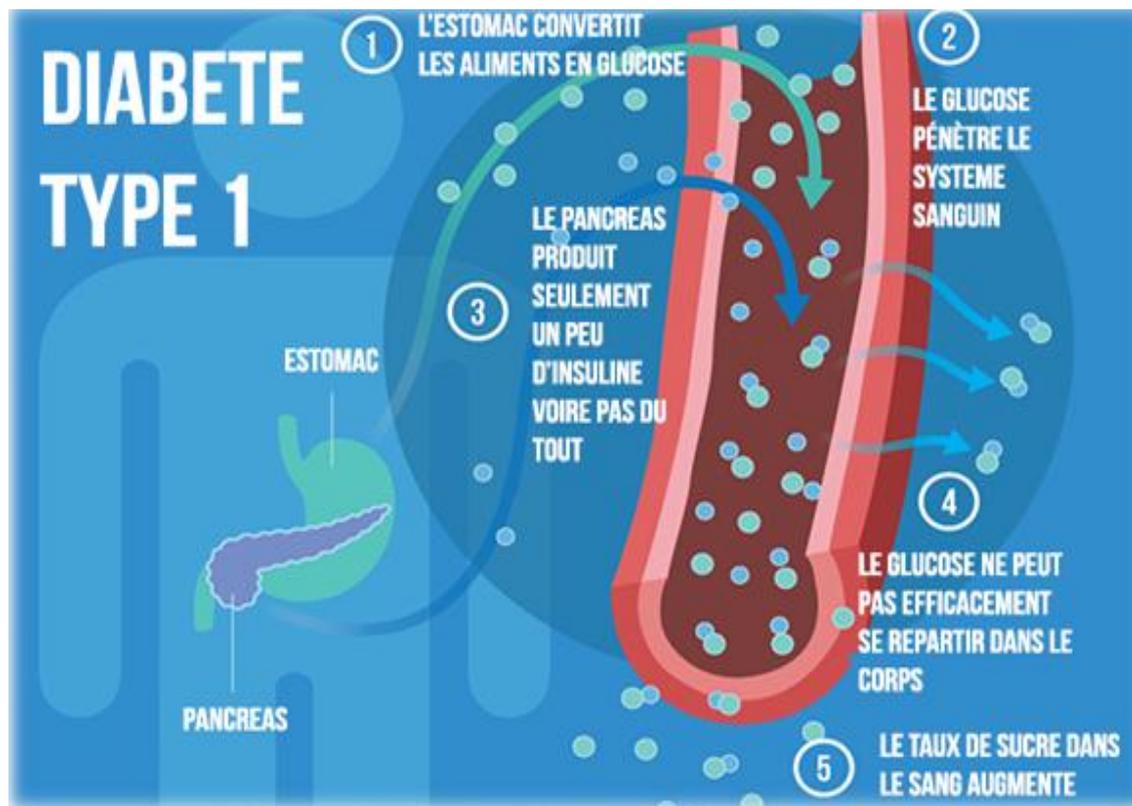
### 1.7. Physiopathologie du diabète de type 1

Le diabète de type 1 représente moins de 10 % des diabètes répertoriés. L'hyperglycémie est la conséquence d'une insulino-pénie absolue résultante de la destruction progressive (> 80 %) des cellules sécrétrices d'insuline induite par une réaction auto-immune. Dans la chronologie de la pathologie, la production d'anticorps reconnaissant des antigènes de la cellule bêta pancréatique précède la destruction des cellules bêta et l'apparition de la maladie. Il est ensuite supposé que la réponse inflammatoire entraîne progressivement l'insulite et l'insulino-pénie [16] voir figure 1.

Les signes cliniques initiaux habituellement rencontrés sont les suivants [17] :

- Syndrome cardinal diabétique ;
- Troubles visuels transitoires ;
- Autres éléments, telles que la glycosurie massive et surtout la cétonurie ;

- Perte de poids non expliquée.



**Figure1.** Physiopathologie du diabète de type 1 [16].

### 1.8. Physiopathologie du diabète de type 2

Le diabète de type 2 est une maladie caractérisée par deux types d'anomalies : des altérations de l'insulino-sécrétion et des anomalies des effets de l'insuline sur ses tissus cibles [15].

Le développement de diabète de type 2 se fait généralement en trois étapes : la surcharge pondérale, l'insulino-résistance, et l'hyper-insulinisme [18] voir figure 2.

#### 1.8.1. Surcharge pondérale

Des facteurs génétiques (hypersensibilité du tissu adipeux à l'insuline) et des facteurs environnementaux (alimentation riche en graisses et en sucres rapides, sédentarité...) sont responsables de surcharge pondérale, voire d'obésité [19].

#### 1.8.2. Insulino-résistance

Elle est la conséquence de la surcharge pondérale. Le tissu adipeux libère une quantité importante d'acides gras dans le sang. Ces acides gras entrent en compétition avec le glucose au niveau des cellules musculaires. Nous avons donc une diminution de la pénétration

musculaire du glucose au profit des acides gras [19].

Les adipocytes présentent une fonction endocrine jouant un rôle important dans l'insulino-résistance et l'excès pondéral de la sédentarité. L'absence d'activité physique provoque une diminution de l'irrigation musculaire : la quantité d'insuline atteignant les cellules musculaires est donc plus faible [19].

### 1.8.3. Hyper-insulinisme et diminution de l'insulino-sécrétion

L'insulino-résistance hépatique et musculaire provoque une augmentation de la glycémie qui stimule les cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans responsables d'un hyperinsulinisme [19].

Après plusieurs années, la sécrétion d'insuline diminue, la glycémie augmente et le diabète s'installe, les signes cliniques sont secondaires à l'hyperglycémie [19].

Cette forme de diabète passe souvent inaperçue car l'hyperglycémie se développe graduellement et les patients, bien qu'asymptomatiques, sont à risque de développer [18] :

- Des complications micro et macrovasculaires ;
- Une polyurie ;
- Une polydipsie (soif) ;
- Un amaigrissement ;
- Un prurit vulvaire chez la femme et balanite chez l'homme.

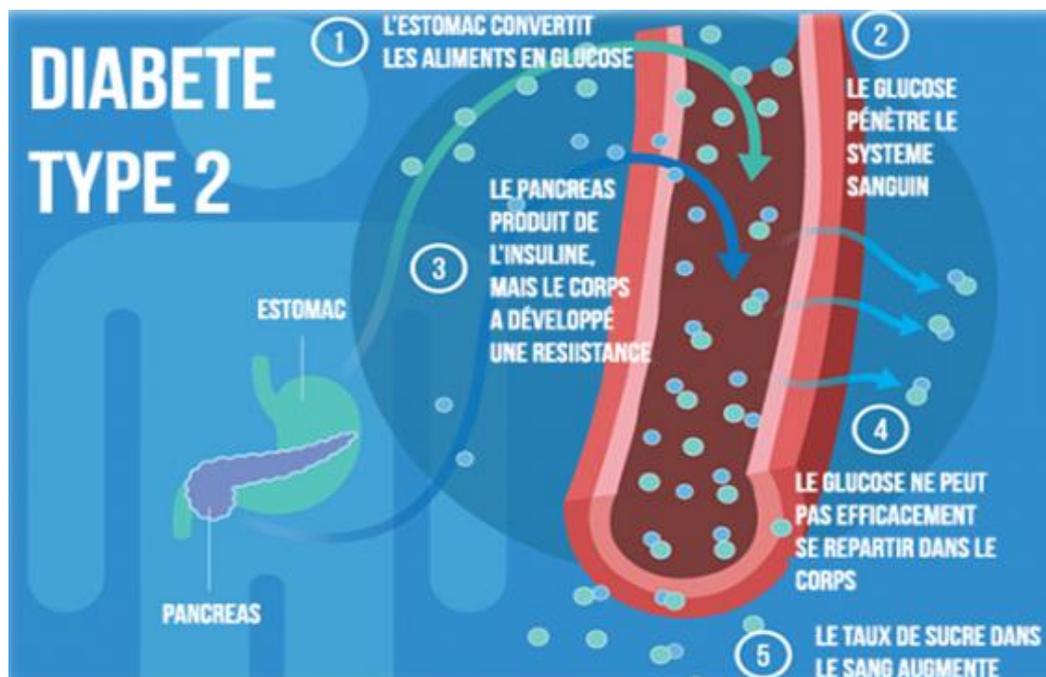


Figure 2. Physiopathologie du diabète de type 2 [1].

**Tableau1.** Caractéristiques respectives des diabètes de type 1 et 2[20].

Type de diabète	Type 1	Type 2
Antécédents familiaux du même type	Rares	Fréquents
Age de survenue	Plutôt avant 35 ans	Plutôt après 35 ans
Début	Rapide ou explosif	Lent et insidieux
Facteurs déclenchants	Souvent +	Souvent +
Symptomatologie	Bruyante	Pauvre ou absente
Poids	Normal ou maigre	Obésité ou surcharge adipeuse abdominale
Hyperglycémie au diagnostic	Majeure >3g/L	Souvent <2g/L
Cétose	Souvent présente	Le plus souvent absente
Cause principale de mortalité	Insuffisance rénale	Maladies cardiovasculaires

### 1.9. Epidémiologie

#### ➤ *En Algérie*

Avant les années 2000, les enquêtes réalisées à l'Est et à l'Ouest du pays montraient une prévalence du diabète de type 2 située entre 6,4 et 8,2% chez les sujets âgés de 30 à 64 ans [21].

Chez les Touaregs du Sud Algérien dans la même tranche d'âge, elle n'est que de 1,3% ce qui conforte l'influence du mode de vie et de l'activité physique sur le développement de la maladie [21].

Selon les registres du diabète de type 1, chez les jeunes de moins de 15 ans, l'incidence à Constantine en 2010 était de 17,44 /100 000[21].

#### ➤ *Dans le monde*

Le diabète est une maladie qui constitue un problème de santé publique majeur et malgré les efforts de prévention, la pandémie se poursuit selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS).

À l'échelle mondiale, le nombre de patients diabétiques est en augmentation.

En 2019, la prévalence était à 9,3% (463 millions de personnes), avec des perspectives de 10,2% (578 millions) d'ici 2030 et 10,9% (700 millions) d'ici 2045 [22].

La prévalence est plus élevée en milieu urbain (10,8%) qu'en milieu rural (7,2%) et dans les pays à revenu élevé (10,4%) que dans les pays à faible revenu (4,0%). Une personne sur deux (50,1%) vivant avec le diabète ne sait pas qu'elle est atteinte de diabète. La prévalence mondiale de l'altération de la tolérance au glucose est estimée à 7,5% (374 millions) en 2019 et devrait atteindre 8,0% (454 millions) d'ici 2030 et 8,6% (548 millions) d'ici 2045 [22].

### 1.10. Complications

Courantes chez les patients dont le diabète est mal contrôlé, les complications sont délétères pour les organes. Un contrôle glycémique insuffisant entraîne des complications graves à long terme, survenant plusieurs années après le début du déséquilibre [3].

#### 1.10.1. Complications microangiopathiques

Ce sont des complications spécifiques du diabète en corrélation étroite avec son équilibre et sa durée d'évolution dont le facteur de risque majeur est l'hyperglycémie. Elles sont caractérisées par une atteinte des petits vaisseaux avec dysfonction secondaire de l'organe touché [23]. On retient communément la neuropathie, la rétinopathie et la néphropathie [24] voir figure 3.

- **Neuropathie**

Elle est définie par l'atteinte du système nerveux périphérique (neuropathie périphérique) et du système nerveux végétatif (neuropathie végétative, neuropathie autonome ou dysautonomie) [25].

Lorsque le taux de sucre dans le sang demeure trop élevé sur une longue période de temps, cela peut endommager les nerfs, surtout ceux des membres inférieurs [25].

- **Néphropathie**

Elle touche préférentiellement les diabétiques de type 1. Ses principaux facteurs d'apparition et de progression sont le mauvais équilibre glycémique et l'hypertension. Elle évolue en plusieurs étapes, débutant par une protéinurie discrète, qui traduit des défauts anatomiques et biochimiques au niveau des glomérules rénaux, donc ceux-ci diminuent en nombre et en capacité fonctionnelle [26].

- **Rétinopathie**

C'est une complication fréquente qui touche plus de 50% des diabétiques après environ 15 ans d'évolution du diabète, fortement liée à l'hyperglycémie et la durée du diabète, où se traduit par diverses lésions observables lors d'un examen du fond d'œil. Elle est responsable, à terme, de cécité [26].

### 1.10.2. Complications macroangiopathiques

Elles sont la conséquence de l'association de plusieurs facteurs de risque cardiovasculaire, souvent associés au diabète mal équilibré, etc. Il s'agit de l'atteinte des grosses artères, due à la sclérose des vaisseaux, secondaire à un dépôt de ces dernières que l'on appelle "plaque d'athérome": ce dépôt entraîne donc un rétrécissement des artères [27] voir figure 3.

Le mot "arthéro-thrombose" signifie que l'artère est bouchée au niveau d'une plaque par un caillot, que l'on appelle encore un thrombus [27].

Les artères les plus touchées sont celles des jambes et du cou et celles du cœur [27] :

- **Au niveau des artères des jambes**, le risque est l'artérite des membres inférieurs, avec des complications de gangrène qui peuvent aboutir à l'amputation.
- **Au niveau des artères du cou**, le risque est l'accident vasculaire cérébral avec ses conséquences, l'hémiplégie par exemple.
- **Au niveau du cœur**, ce sont les artères coronaires qui se bouchent, entraînant l'angor ou l'angine de poitrine avec le risque d'infarctus du myocarde. On appelle encore cette atteinte la "coronopathie".

### 1.10.3. Complications métaboliques

Les diabétiques de type 1 sont exposés à deux types de complications métaboliques aiguës, l'acidocétose et l'hypoglycémie [28].

Les diabétiques de type 2 sont exposés au coma hyperosmolaire, mais aussi aux hypoglycémies et à l'acidose lactique [28].

- **Acidocétose diabétique**

C'est une complication métabolique grave qui survient chez les sujets diabétiques atteints de diabète de type 1. Elle consiste en une accumulation de substances toxiques, appelées *corps cétoniques*, qui rendent le sang trop acide [29].

- **Coma hyperosmolaire**

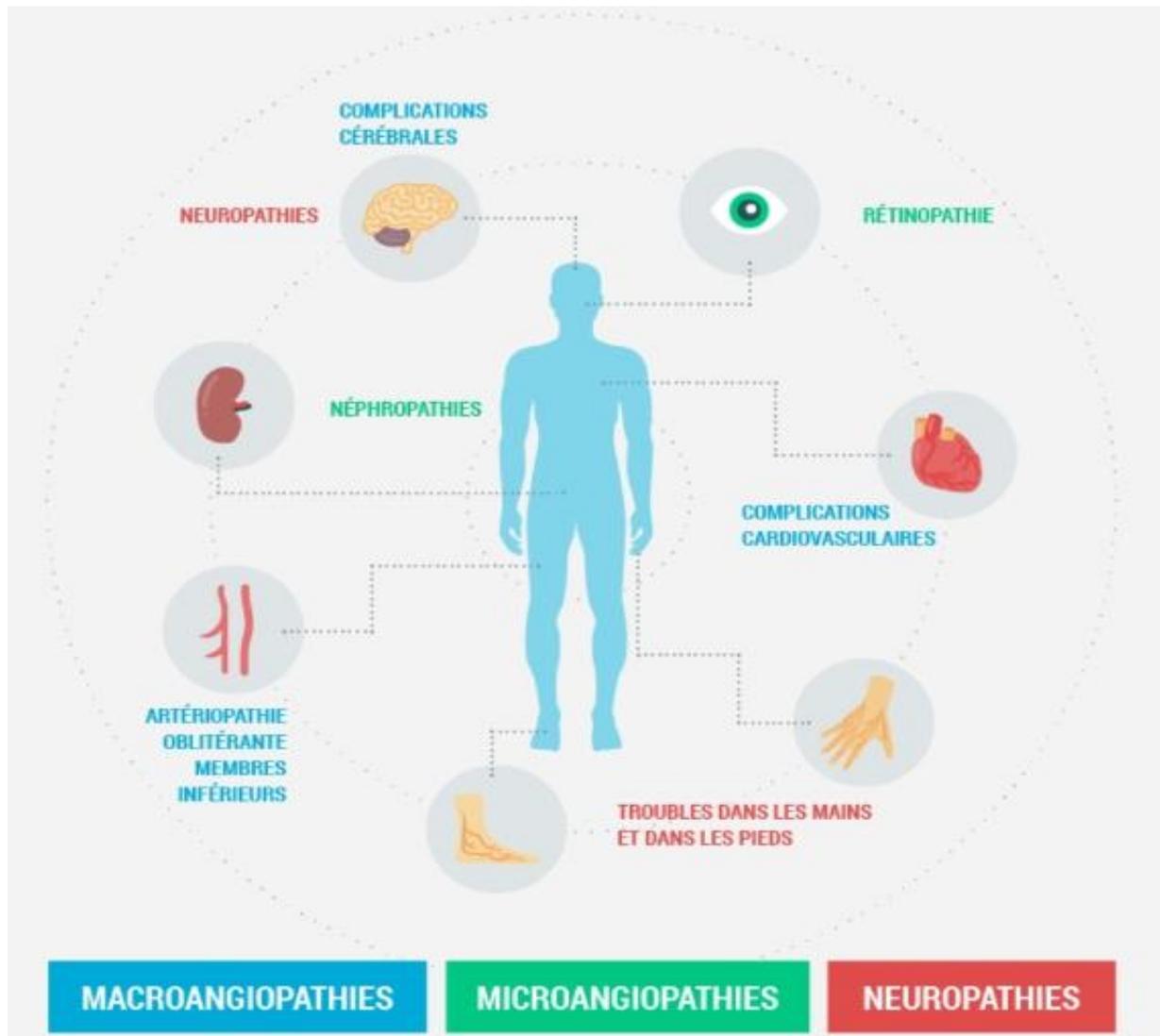
Il constitue une forme grave de décompensation du diabète caractérisé par une déshydratation massive. Il se définit par une osmolarité supérieure à 350 mmol/l due à une hyperglycémie majeure dépassant généralement 25 mmol/l (5 g/l) avec trouble de la conscience [30].

- **Coma hypoglycémique**

L'hypoglycémie correspond à une baisse anormale du taux sanguin de glucose inférieure à 0,5g/l caractérisée par la présence d'un coma nécessitant l'administration parentérale de glucose [31]. Elle est la principale complication du diabète insulino-dépendant [29].

- **Acidocétose lactique aux biguanides**

Elle dépend de différents facteurs, mais l'insuffisance rénale est le facteur le plus souvent retrouvé : elle entraîne une accumulation de Metformine normalement éliminée de façon inchangée dans les urines [29].



**Figure 3.** Complications du diabète [18].

### 1.11. Diagnostic du diabète

Il repose sur la mise en évidence à au moins 2 reprises de glycémies anormales. Il est affirmé dans l'un des 3 cas suivants [32] :

- Si à des symptômes cliniques évocateurs est associée une glycémie au hasard supérieure à 2 g/l.
- Si la glycémie à jeun est supérieure à 1,26 g/l.
- Si la glycémie à 2h sous OGTT est supérieure à 2 g/l.

Tableau 2. Diagnostic positif et étiologique du diabète [32].

<b>Statut</b>	<b>Glycémie jeun</b>	<b>Glycémie 2h</b>
<b>Normal</b>	< 110 mg/dl	< 140 mg/dl
<b>Diabète</b>	≥ 126 mg/dl	≥ 200 mg/dl
<b>Anomalies de la glycorégulation</b>	≥ 110 et 126 mg/dl (hyperglycémie à jeun)	≥ 140 et < 200 mg/dl (intolérance au glucose)

# **CHAPITRE 2 :**

# **INFECTIONS**

## 1. Les infections bactériennes chez le diabétique

Il est bien établi que les patients diabétiques présentent un risque accru de multiples infections surtout bactériennes [33]. Ceci serait lié à l'effet néfaste de l'hyperglycémie sur l'immunité cellulaire [34].

### 1.1. Définition de l'infection

C'est la pénétration et la multiplication dans l'organisme, de micro-organismes pathogènes ; bactéries, champignons, virus ou parasites. Elle se manifeste par des réactions cellulaires, tissulaires ou générales donnant des perturbations physiologiques dont la traduction habituelle est un syndrome inflammatoire plus ou moins grave, surtout chez le diabétique [35]. On peut observer [35] :

- ✓ Sur le plan local : un envahissement des structures saines.
- ✓ Sur le plan régional : une présence de lymphangite ou d'adénopathie.
- ✓ Sur le plan général : une bactériémie.

### 1.2. Stades de l'infection

La maladie infectieuse évolue en général en 6 stades dont la durée dépend du système immunitaire du patient diabétique [36] :

- **Période de contamination** : c'est le tout premier contact entre le micro-organisme et l'organisme.
- **Période d'incubation**: là où la bactérie commence à se multiplier et/ou à sécréter des toxines. Il n'y a aucun signe clinique, mais la personne est parfois déjà contagieuse. Sa durée est variable de quelques jours à plusieurs semaines selon la maladie et le terrain sous-jacent (diabétique, femme enceinte...).
- **Période d'invasion**: les signes cliniques apparaissent, ils sont d'ordre général (fièvre, nausées, fatigue, maux de tête...).
- **Période d'état**: les signes cliniques spécifiques apparaissent à leur maximum et permettent de poser un diagnostic.
- **Période de déclin**: diminution des signes de la maladie.
- **Période de convalescence**: l'organisme se rétablit.

### 1.3. L'infection bactérienne

L'infection bactérienne est une infection causée par un agent pathogène qui est la bactérie.

Chez le patient diabétique, l'infection bactérienne est particulière par sa fréquence, la fragilité du terrain, le risque de décompensation métabolique et ses difficultés diagnostiques et thérapeutiques [37].

### 1.4. Signes cliniques de l'infection bactérienne

Ils diffèrent d'un patient à un autre, tout dépend du terrain sous-jacent, mais ils peuvent être graves chez le patient diabétique. De manière générale, les signes cliniques sont les suivants [38] :

- Rougeur ;
- Suintement de la plaie (pus/liquide verdâtre) ;
- Chaleur autour de la zone affectée ;
- Stries rouges autour de la zone infectée ;
- Signes de douleur ou de sensibilité ;
- Enflure.

Si ces signes cliniques ne se prennent pas en charge, ça peut engendrer l'apparition des ganglions lymphatiques enflés au cou, sous les aisselles ou à l'aîne, accompagnés d'une fièvre de 37,8 °C ou plus [38].

### 1.5. Origine de l'infection bactérienne

La survenue de l'infection bactérienne chez le patient diabétique peut être engendrée par 2 types différents de contamination [35] :

#### 1.5.1. Contamination endogène

Le malade s'infecte avec ses propres germes, d'un site anatomique à un autre suite à un acte invasif ou par la matière fécale par exemple. L'évolution de cette contamination vers les autres étapes de l'infection dépend de l'immunité du patient diabétique [35] voir figure 4.

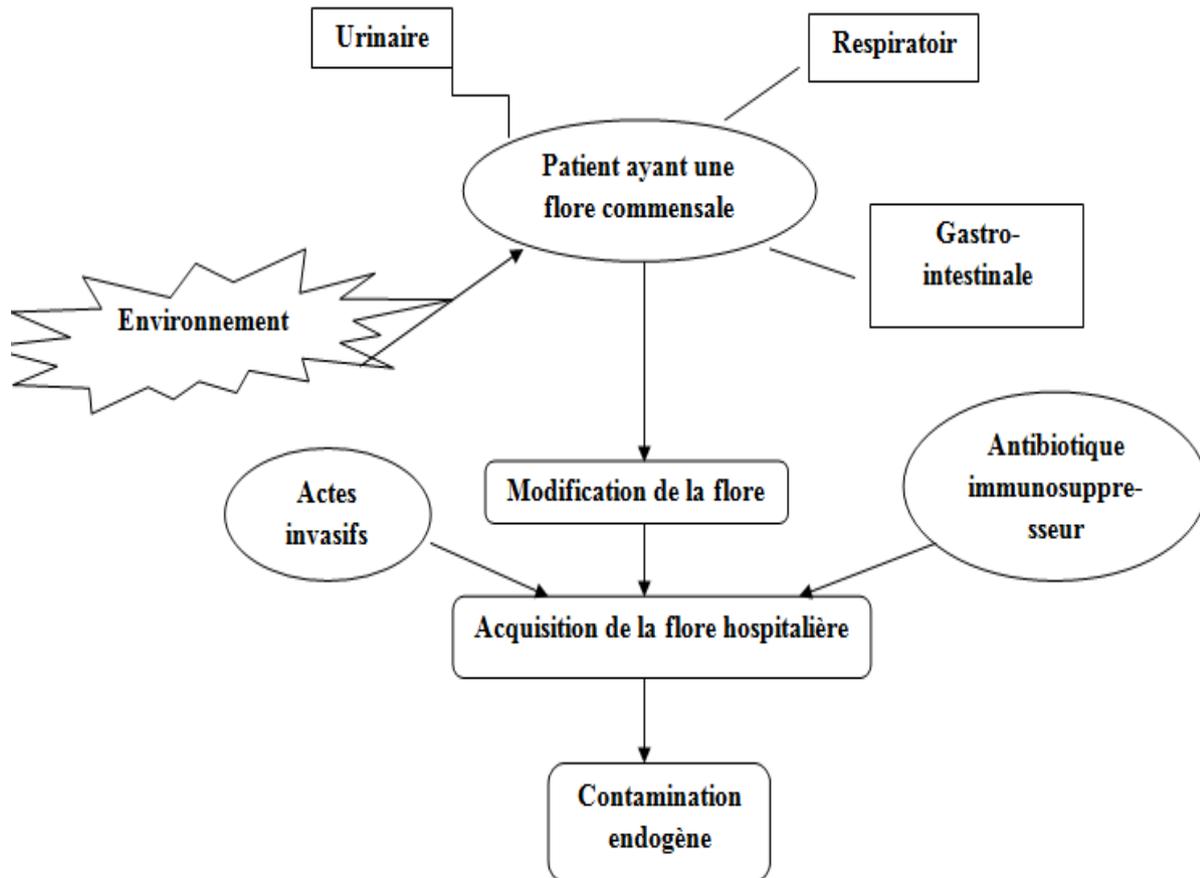
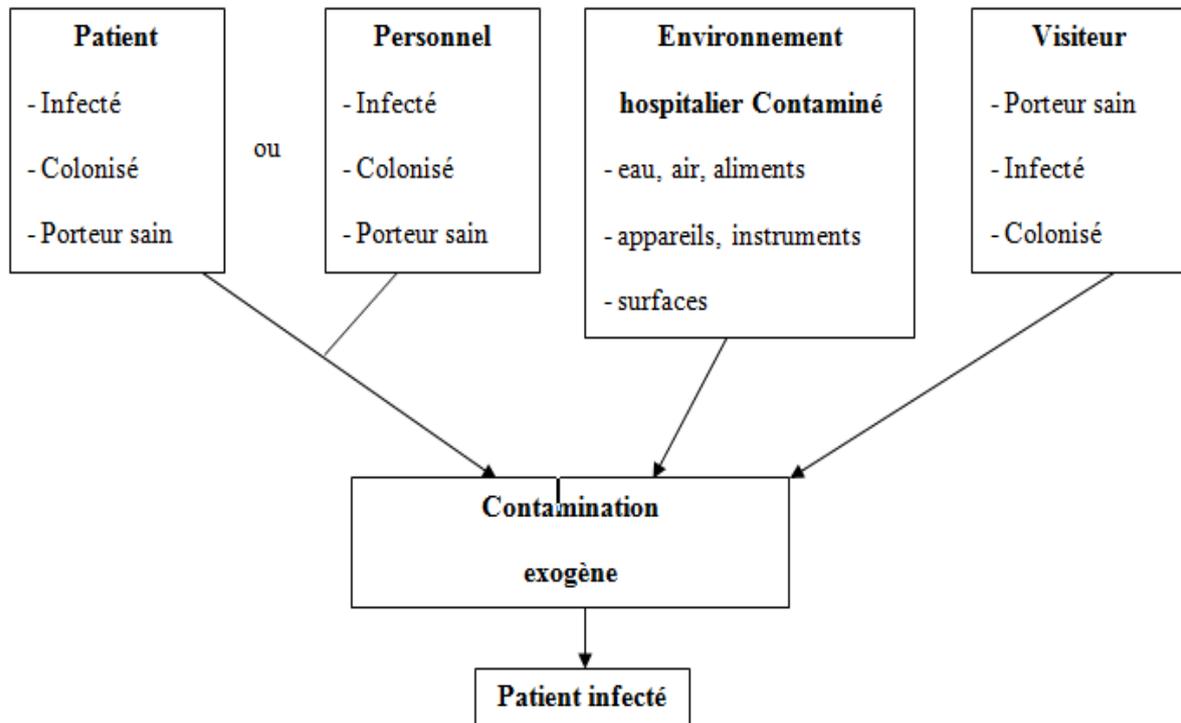


Figure 4. Contamination endogène [35].

### 1.5.2. Contamination exogène

Il peut s'agir soit d'infections croisées, transmises d'un malade à un autre ; soit d'infections provoquées par des microorganismes souvent résistants portés par le personnel médical ou paramédical, par les visiteurs, soit d'infections liées à la contamination de l'environnement hospitalier (eau, air, matériel, alimentation...) [35] voir figure 5.

La contamination exogène représente un danger permanent justifiant des précautions d'hygiène et d'asepsie strictes [39].



**Figure 5.** Contamination exogène [35].

### 1.6. Facteurs de risque favorisant l'infection chez le diabétique

Par différents mécanismes, le diabète augmente le risque d'infections, qu'elles soient virales, bactériennes, fongiques ou parasitaires [40].

La vulnérabilité de l'organisme diabétique face aux infections s'explique par la nutrition des bactéries et des germes en sucre. Or, les malades ayant un diabète déséquilibré présentent une hyperglycémie, et ce, quel que soit le type de diabète dont ils souffrent [40].

En effet, le mécanisme de l'association entre les infections bactériennes et le diabétique n'est pas bien connu. Mais il existe vraisemblablement un certain nombre d'anomalies sur les cellules immunitaires des patients atteints de diabète, qui s'avèrent d'autant plus délétères lorsque [40] :

- Le patient est âgé, l'immunosénescence (vieillesse et perte d'efficacité du système immunitaire) le rendant plus sensible aux infections ;
- Le patient présente des comorbidités, tels que des problèmes cardiaques ou rénaux ;
- Le diabète est déséquilibré, l'hyperglycémie chronique ayant "probablement un rôle dans le fait de favoriser la prolifération bactérienne".

### 1.7. Les infections bactériennes les plus fréquentes chez un sujet diabétique

- **Le pied diabétique**

Il est défini par l'ensemble des anomalies cliniques du pied chez une personne diabétique, qui sont la conséquence du développement de complications chroniques du diabète, suite à une infection secondaire à une plaie cutanée [41].

#### 1.7.1. Infections du pied diabétique

Elles se définissent par l'invasion et la multiplication de micro-organismes entraînant une réponse inflammatoire allant jusqu'à la destruction des tissus atteints, voire l'amputation [42]. La majorité des infections se déclarent chez des patients présentant des pieds neuropathiques ou neuro-ischémiques dont les ulcérations servent de portes d'entrées [42].

Le diabète est associé à une proportion plus élevée de presque tous les types d'infection chez les patients orthopédiques comparés aux patients non diabétiques [43].

L'incidence des infections du pied est d'environ 4 à 15 % chez les patients diabétiques et la majorité survient dans le contexte d'un diabète de longue date, et l'ulcère est la porte d'entrée de nombreux pathogènes [44].

L'infection est le plus souvent un épiphénomène survenant dans un terrain fragilisé par l'existence d'une poly-neuropathie périphérique et d'une artériopathie, elles-mêmes en lien avec la durée du diabète et la qualité de l'équilibre métabolique [42].

Tableau 3. Les paramètres de la classification PEDIS et leurs grades de sévérité [5].

<b>Perfusion (vascularisation)</b>	
<b>Grade 1</b>	Pas de signe d'artériopathie périphérique P1
<b>Grade 2</b>	Signes d'artériopathie périphérique, mais pas d'ischémie critique du membre P2
<b>Grade 3</b>	Ischémie critique du membre P3
<b>Extent (Etendue)</b>	
	Surface de plaie mesurée en cm <sup>2</sup> après débridement
<b>Depth (Profondeur)</b>	
<b>Grade 1</b>	Ulcère superficiel limité au derme D1
<b>Grade 2</b>	Ulcère profond, pénétrant sous le derme jusqu'aux structures sous-cutanées, impliquant les muscles ou les tendons D2
<b>Grade 3</b>	Toutes les structures du pied, y compris l'os et/ou l'articulation D3
<b>Infection (Infection)</b>	
<b>Grade 1</b>	Aucun signe d'infection I1
<b>Grade 2</b>	Infection de la peau et des tissus sous-cutanés I2
<b>Grade 3</b>	Erythème >2cm <sup>2</sup> et infection plus profonde I3
<b>Grade 4</b>	Infection avec signes systémiques
<b>Sensation (Sensibilité)</b>	
<b>Grade 1</b>	Aucune perte de la sensibilité de protection S1
<b>Grade 2</b>	Perte de la sensibilité de protection S2

L'aspect clinique des infections du pied diabétique se manifeste par :

#### 1.7.1.1. La neuropathie diabétique périphérique

Elle est définie par l'atteinte du système nerveux périphérique et végétatif. Lorsque le taux de sucre dans le sang demeure trop élevé sur une longue période de temps, cela peut endommager les nerfs, surtout ceux des membres inférieurs.

La neuropathie périphérique comprend plusieurs composantes [45] :

- **La neuropathie sensitive**

Elle affecte les nerfs du système nerveux périphérique, en conduisant à l'insensibilité thermique et douloureuse au niveau du pied. Ainsi, les traumatismes indolores et parfois

minimes (frottements dans les chaussures, etc.) vont conduire à un retard diagnostique des lésions [46].

- **La neuropathie motrice**

Elle est responsable de l'altération des nerfs moteurs contrôlant les mouvements du pied et le tonus musculaire [46].

- **La neuropathie végétative autonome**

Elle vient aggraver la situation en affectant le système nerveux autonome, en provoquant des troubles et l'ouverture des shunts artério-veineux qui participent à la réduction de l'oxygénation tissulaire et favorisent la résorption osseuse pouvant conduire au pied de Charcot [46].

### 1.7.1.2. L'artériopathie

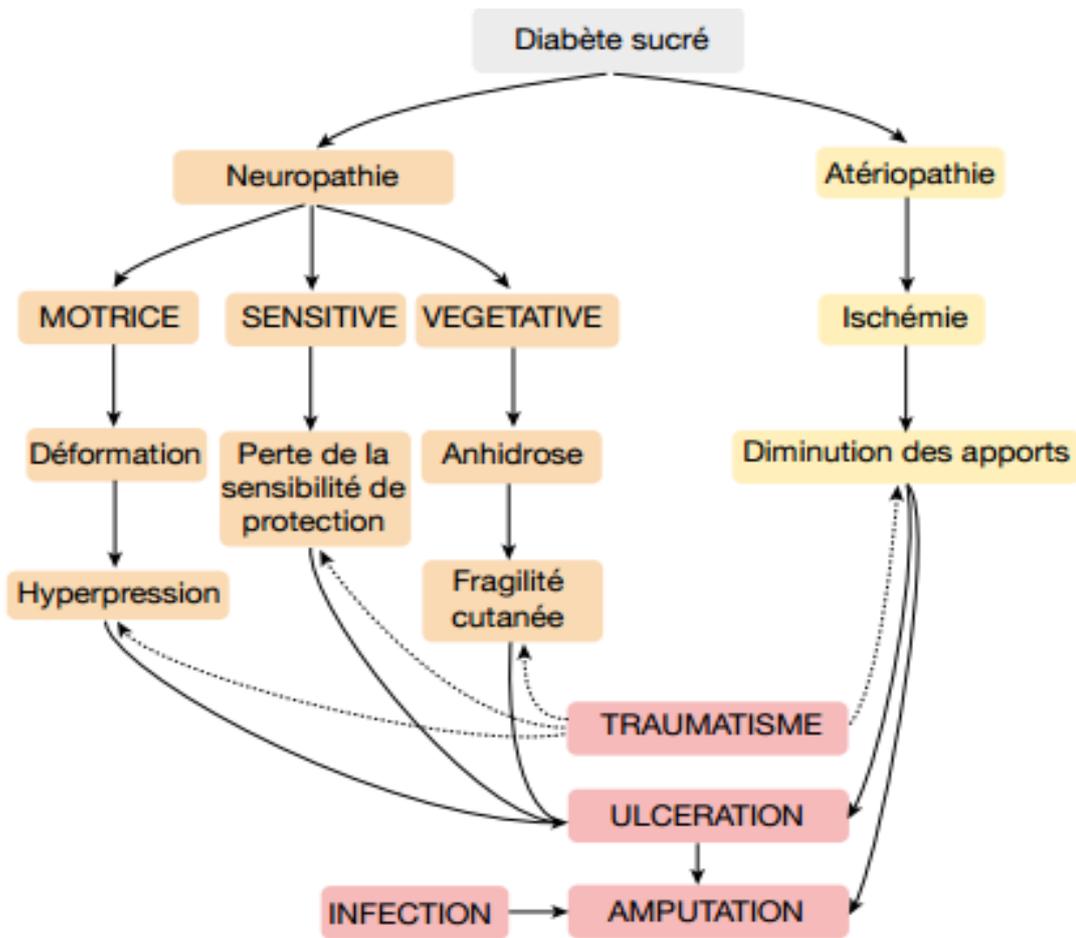
L'artériopathie des membres inférieurs, est la complication cardiovasculaire la plus spécifiquement corrélée. Elle est associée à une augmentation du risque majeur d'amputation [47].

L'artériopathie des patients diabétiques peut concerner les axes proximaux mais se caractérise plus spécifiquement par une atteinte des axes de jambes souvent consécutive à des lésions athéromateuses. Ces lésions sont causées par un dépôt de lipides sur la paroi interne des artères, on parle alors de dépôts d'athérome. Ces lésions athéromateuses provoquent une diminution de la lumière des artères et favorisent la formation d'une thrombose ou obstruction de l'artère [48].

L'évolution peut être parfois grave avec risque de gangrène, on estime que le risque d'amputation est présent chez 7 % des patients diabétiques [48].

Cette atteinte est d'évolution lente mais peut être accélérée par l'accumulation des facteurs de risque comme : le tabagisme, l'hypertension artérielle, l'hypercholestérolémie et le surpoids [48].

L'âge est également un facteur de risque favorisant la survenue de lésions artérielles [48].



**Figure 6.** Cheminement menant aux plaies du pied chez les personnes atteintes du diabète [47].

### 1.7.2. Infections urinaires

Elles sont dues à la colonisation des urines par des bactéries ou levures, ce qui se traduit le plus souvent par des signes infectieux urinaires [49].

Ce sont les infections bactériennes les plus fréquentes quel que soit l'âge dont la bactérie la plus fréquemment retrouvée est *Escherichia coli*. Elles sont fréquentes chez le sujet diabétique, en raison de l'augmentation de l'adhérence bactérienne et la diminution de la sécrétion des cytokines [49].

#### 1.7.2.1. Cystite

Elle est appelée également infection urinaire basse. C'est une inflammation de la vessie, généralement bénigne. Elle est le plus souvent d'origine bactérienne mais peut aussi être due à un agent toxique.

En cas de cystite à risque de complications comme le diabète, cette infection doit être traitée rapidement afin d'éviter qu'elle ne se propage vers les voies urinaires (pyélonéphrite) [50].

#### 1.7.2.2. Pyélonéphrite

C'est une infection urinaire haute d'origine majoritairement bactérienne touchant le parenchyme d'un des reins et le bassinet sous-jacent. Le plus souvent, le germe en cause atteint ce site anatomique en remontant les voies urinaires [50].

Elle s'accompagne le plus souvent chez un sujet diabétique de signes urinaires d'une cystite, d'une fièvre élevée ( $> 39^{\circ}\text{C}$ ) et de douleurs lombaires et/ou abdominales [50].

#### 1.7.3. Infections du sang

Ces infections apparaissent principalement chez des patients présentant des maladies chroniques comme le diabète ou les personnes dont le système immunitaire est affaibli. Il s'agit d'un passage du germe à partir d'un foyer local vers le sang, pour réaliser plusieurs types de manifestations cliniques [51].

##### 1.7.3.1. Bactériémie

Elle apparaît spontanément, au cours de certaines infections, comme celles du pied diabétique, ou à partir de sondes génito-urinaires ou de cathéters IV. Elle peut entraîner des infections métastatiques ou secondaires, dont une endocardite dans le cas des anomalies cardio-vasculaires [52].

La bactériémie est grave, car si un micro-organisme pénètre dans la circulation sanguine, il peut se répandre et se localiser secondairement dans l'organisme en plus des substances qu'il secrète (enzymes, substances...) [52].

##### 1.7.3.2. Sepsis

C'est un syndrome clinique de dysfonctionnement des organes potentiellement mortel provoqué par un dérèglement de la réponse à une infection dans le sang [53].

Chez la personne atteinte du diabète, l'accroissement du risque infectieux par l'hyperglycémie, les modifications du métabolisme glucidique lors de la riposte septique, les effets hypoglycémisants et anti-inflammatoires de l'insuline et les effets pro-inflammatoires de l'hyperglycémie constituent la base des schémas physiopathologique graves [54].

### 1.7.3.3. Choc septique

C'est un sous-ensemble de sepsis dont la mortalité est accrue de manière significative par des anomalies graves de la circulation et/ou du métabolisme cellulaire, suite à la libération dans le sang de toxines sécrétées par certaines bactéries, majoritairement des bacilles à Gram négatif ou des cocci à Gram positif [54].

Le signes cliniques comprennent : de la fièvre, une hypotension, une oligurie et une confusion [54].

# **CHAPITRE 3 :**

# **BACTÉRIOLOGIE**

## 1. Bactériologie

Le conflit hôte-bactérie met en présence deux adversaires ; la bactérie, un micro-organisme procaryotes, dont les actions peuvent être positives (microbiote) ou négatives caractérisées par un pouvoir pathogène, et l'hôte caractérisé par sa réceptivité ou son pouvoir de défense [55].

Chez le diabétique, en cas d'infection bactérienne, quel que soit sa localisation, un prélèvement biologique doit être réalisé. Ce prélèvement révélera les bactéries responsables. Le clinicien doit à son tour connaître les principales espèces bactériennes d'infections afin de prescrire l'antibiotique adéquat en prenant en considération le profil de sensibilité des espèces en cause et leur possibilité de diffusion dans l'organisme [56].

Les microorganismes les plus couramment responsables des infections chez le diabétique sont:

### 1.1. Entérobactéries

Il s'agit d'une très vaste famille qui représente près de trois quarts des isolements d'un laboratoire de bactériologie médicale cette famille se compose d'environ plus de 30 genres de bactéries et de plus de 100 espèces et se définissent par les caractères suivants [55] :

- Bacilles à Gram négatif (2 à 4 microns de long sur 0,4 à 0,6 microns de large) ;
- Mobiles avec ciliature péritriche ou immobiles ;
- Poussant sur milieux de culture ordinaires ;
- Aérobie - anaérobie facultatif ;
- Fermentant le glucose avec ou sans production de gaz ;
- Réduisant les nitrates en nitrites ;
- Oxydase négatif.

#### 1.1.1. *Escherichia coli*

Le genre *Escherichia* appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*. Ce sont des bacilles à Gram négatif et aéro-anaérobies facultatifs. Ces bactéries sont à catalase positive et ne possèdent pas d'oxydase, mobiles par des flagelles péritriches, non-sporulant, chimio-organotrophes, fermenteurs de sucres, produisant du gaz en glucose [56].

- **Habitat et pouvoir pathogène**

*Escherichia coli* est un hôte commensal du tube digestif de l'homme et des animaux. La contamination par cette espèce peut se faire par la matière fécale et constitue une source de contamination indirecte [57].

Les infections à *E.coli* peuvent être graves chez les sujets présentant des maladies chroniques comme le diabète et les personnes à immunité affaiblie. Les infections que cette bactérie peut engendrer sont [57] :

1. Les infections urinaires qui sont plus fréquentes et souvent plus compliquées chez le diabétique, allant de 60 à 80%. Il s'agit le plus souvent de cystites se traduisant par une dysurie ou même des pyélonéphrites ;
2. Les bactériémies à point de départ urinaire ou intra-abdominal ;
3. Les infections intra-abdominales (appendicite) ;
4. Les surinfections de plaies ou ulcérations chroniques du pied diabétique.

### 1.1.2. Le groupe KES (*Klebsiella - Enterobacter - Serratia*)

Il s'agit d'un groupe assez hétérogène, présent dans l'environnement et chez l'homme (peau, muqueuses, tube digestif...) et surtout à l'hôpital. Il est responsable de diverses affections chez des sujets diabétiques, des patients fragilisés ou traités par des antibiotiques ; infections broncho-pulmonaires, urinaires, post-chirurgicales et bactériémies [55].

Les bactéries de groupe KES sont opportunistes et arrivent juste après *Escherichia coli* pour la fréquence des infections urinaires et des bactériémies dues à des bacilles à Gram négatif [55].

#### ✓ *Klebsiella*

Elle comprend deux espèces les plus fréquemment isolées *K.pneumonia* et *K.oxytoca*, essentiellement saprophytes [58].

- **Habitat et pouvoir pathogène**

L'habitat de *Klebsiella pneumoniae* est l'homme et l'animal. Ce germe est principalement isolé en milieu hospitalier, chez les patients hospitalisés pendant de longues périodes ou bénéficiant de traitements antibiotiques au long cours [57].

Il est également présent en dehors des hôpitaux, notamment chez des patients diabétiques, fortement débilisés, ou souffrant de maladies respiratoires chroniques [57].

*K.pneumoniae* et *K.oxytoca* peuvent également infecter les voies urinaires et respiratoires des patients hospitalisés. De plus, des bactériémies compliquent parfois les infections localisées chez les personnes diabétiques [57].

✓ ***Enterobacter***

Il existe plusieurs bactéries du genre *Enterobacter*, les plus fréquentes sont *Enterobacter cloacae* et *Enterobacter aerogenes* [55].

• **Habitat et pouvoir pathogène**

C'est un bacille mobile dont l'habitat privilégié est l'intestin humain et animal. On le retrouve également dans les matières fécales, les eaux usées et les produits laitiers. Il est pathogène, opportuniste et responsable d'infections urinaires en milieu hospitalier [55].

*Enterobacter cloacae* colonise souvent les patients hospitalisés, plus particulièrement ceux traités par les antibiotiques, et peut être à l'origine d'infections urinaires et de pneumonies, ainsi que d'infections cutanées du pied chez les patients diabétiques [59].

✓ ***Serratia***

C'est une bactérie à Gram négatif. Le genre *Serratia* comprend 8 espèces, dont les espèces *Serratia marcescens* et *Serratia liquefaciens* sont les plus souvent rencontrées [55].

• **Habitat et pouvoir pathogène**

Le genre *Serratia* est un germe saprophyte présent dans l'eau et les cavités naturelles de l'homme. *Serratia marcescens* colonise les systèmes respiratoires, digestifs et urinaires des patients [55].

Chez les patients ayant une immunité affaiblie ou des maladies chroniques comme le diabète, cette bactérie peut-être responsable de bactériémies, des infections des voies respiratoires inférieures, des infections urinaires et cutanées surtout celles du pied diabétique. Ces infections sont dues à ce germe provenant des patients eux-mêmes ou de leur environnement [59].

**1.1.3. Le groupe PMP (*Proteus* – *Morganella* - *Povidencia*)**

Il est divisé en trois genres [60] :

- Le genre *Proteus* : *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Proteus penneri*...

- Le genre *Providencia* : *Providencia stuartii*, *Providencia alcalifaciens*, *Providencia rettgeri*...
- Le genre *Morganella* : *Morganella morganii*.

- **Habitat et pouvoir pathogène**

Les bactéries du groupe PMP sont des hôtes normaux du tube digestif de l'homme et des animaux [60]. Ils peuvent se montrer pathogènes chez les patients ayant une immunité affaiblie et/ou des affections chroniques comme le diabète, et provoquer des infections très diverses. Il s'agit des [60] :

- Infections cutanées surtout observées en milieu hospitalier (des infections nosocomiales à *Proteus*), il s'agit de surinfections en générale causées par *P.mirabilis* siégeant sur des plaies chirurgicales, des ulcères du pied diabétique localisées ou étendues et des escarres de décubitus.
- Infections des voies urinaires qui représente près de 60 % des infections à *Proteus* et elle est due dans près de 90 % des cas de l'espèce *Proteus mirabilis*.
- Bactériémies dont la dissémination sanguine des *Proteus* se fait soit à partir d'un foyer cutanéomuqueux soit par une inoculation veineuse directe à la suite d'un cathétérisme par exemple.

## 1.2. Cocci à Gram positif

### 1.2.1. Les staphylocoques

Il s'agit de cocci régulières à Gram positif, le plus souvent disposés en amas. Ces germes cultivent très bien sur milieux ordinaires à 37°C, en 24 heures, les colonies de 1 à 2mm de diamètre sont lisses, rondes opaques et bombées, pigmentées en jaunes doré ou jaune citrin pour le *Staphylococcus aureus* ou en blanc pour le *Staphylococcus epidermidis* [55].

- **Habitat et pouvoir pathogène**

Les germes appartenant au genre *Staphylococcus* sont des commensaux de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux [55].

*Staphylococcus aureus*, espèce type de staphylocoques, comme toute bactérie pyogène, est à l'origine d'infections suppuratives surtout chez les personnes atteintes du diabète. Ces infections peuvent impliquer une prolifération bactérienne, une invasion, une destruction des tissus de l'hôte et une réponse inflammatoire locale et systémique [55].

*S. aureus* est l'origine [55] :

- De staphylococcies cutanées (ulcères du pied), sous-cutanées et muqueuses qui peuvent être superficielles ou profondes (furoncles, abcès) ;
- De bactériémies ;
- De staphylococcies viscérales à partir de bactériémies, avec des localisations osseuses (ostéomyélites), pleuro-pulmonaires, urogénitales ou cardiaques.

Les staphylocoques à coagulase négative (SCN), longtemps considérés comme peu ou pas pathogènes, sont maintenant reconnues comme des bactéries pathogènes opportunistes, notamment les espèces *S.epidermis*, *S.haemolyticus* et *S.saphrophyticus* [55].

Les SCN peuvent être responsables d'infections cutanées et urinaires, ainsi que de bactériémies endocardites dont le point de départ peut être un cathéter [55].

### 1.2.2. Les streptocoques

La famille *Streptococcaceae* regroupe un ensemble de cocci à Gram positif, se présentant sous forme de cellules ovoïdes ou sphériques de moins de  $\mu\text{m}$  de diamètres. Ils sont dépourvus de catalase et de cytochrome oxydase. Ils produisent de l'acide lactique par fermentation de glucose et sont anaérobies-aérotolérants [55].

- **Habitat et pouvoir pathogène**

Les streptocoques regroupent de nombreuses espèces. Certaines sont des parasites de l'espèce humaine (streptocoques des groupes A, C et G de LANCEFIELD), d'autres des commensaux de la muqueuse buccale comme les streptocoques du groupe B et streptocoques non groupables et non hémolytiques, ou de la muqueuse génitale [61].

Le genre *Streptococcus* comporte de nombreuses espèces pathogènes pour l'homme et surtout les personnes atteintes de maladies chroniques comme les diabétiques.

*S. pyogenes* est le principal responsable de la quasi-totalité des angines bactériennes. Ses propriétés toxigènes sont à l'origine du syndrome de choc septique, mais participent également à la genèse d'atteintes cutanées ou sous-cutanées comme l'érysipèle ou les fasciites nécrosantes dans le pied diabétique [61].

### 1.2.3. Les entérocoques

Le genre *Enterococcus* regroupe actuellement 27 espèces du fait de leurs caractéristiques biochimiques. Ce sont des cocci à Gram positif, ovoïdes, disposés par paires ou en courtes

chaînettes. Ils ont des caractères en commun avec les streptocoques, notamment l'aspect morphologique et le métabolisme de type anaérobie [55].

- **Habitat et pouvoir pathogène**

Les entérocoques sont des commensaux de l'intestin et des muqueuses génito-urinaires. Ils peuvent être pathogène opportunistes, responsables d'ulcères du pied diabétique, d'infections urinaires, d'infections abdominales d'origine intestinales, de bactériémies ou d'endocardites à porte d'entrée urinaire, génitale ou intestinale [61].

Les deux principales espèces importantes en clinique sont l'*Enterococcus faecalis* et l'*Enterococcus faecium* [62].

### 1.3. Bacilles à Gram négatif non fermentaires

#### 1.3.1. *Pseudomonas aeruginosa*

C'est une bactérie à Gram négatif appartenant à la famille des *Pseudomonadaceae*, bactérie non-sporulante de forme droite ou légèrement courbée, pathogène, opportuniste ayant un métabolisme oxydatif, non fermentaire, aérobie stricte. C'est une bactérie mobile grâce à la présence d'un flagelle monotriche polaire [63].

- **Habitat et pouvoir pathogène**

*Pseudomonas aeruginosa* est la bactérie pathogène opportuniste par excellence. Elle est ubiquitaire et particulièrement dans l'intestin. Elle est parfois retrouvée sur la peau ou dans la partie externe des oreilles [55].

Les infections à *P.aeruginosa* surviennent surtout chez les sujets diabétiques, âgés et immunodéprimés et présentant des affections intercurrentes. Ces infections pourront avoir une origine endogène ou exogène. On isole cette espèce de suppurations profondes ou superficielles d'urines et plus rarement d'hémocultures [55].

#### 1.3.2. *Acinetobacter spp.*

C'est un bacille coccoïde, généralement en diplobacille ou diplocoque à Gram négatif aérobie strict non-fermentaire, parfois capsulé, immobile, oxydase négatif, se cultive sur les milieux non sélectifs habituels (gélose trypticase soja), à une température de 30-37°C [64].

- **Habitat et pouvoir pathogène**

Les *Acinetobacter* sont des microorganismes ubiquistes de l'environnement naturel et hospitalier.

Des espèces d'*Acinetobacter* font partie de la flore cutanée de l'homme et des animaux, en particulier *A.baumannii*, agent fréquent de colonisation cutanée et muqueuse chez les sujets diabétiques, immunodéprimés ou les patients hospitalisés en unité de soins intensifs.

Les pathologies sont des bactériémies, des endocardites, des abcès, des surinfections des plaies, des pneumopathies et des infections urinaires [57].

#### 1.4. Levures

La mycose des pieds est une infection fongique très répandue. Elle est due souvent de levures, du genre *Candida* [65].

Les espèces de *Candida*, le champignon le plus fréquemment impliquées dans les infections chez le diabétique, sont des micro-organismes commensaux normaux de l'homme. La colonisation par *Candida* diffère de l'infection [65].

Les lésions du pied (provoquées par exemple par une artérite ou une neuropathie) chez le diabétique sont très fréquentes et peuvent engendrer l'amputation du pied [66].

Les infections fongiques des voies urinaires, précisément chez le diabétique, touchent principalement la vessie et les reins, dont l'infection urinaire basse à *Candida* survient habituellement sur cathéters urinaires, typiquement après une antibiothérapie, bien que les infections bactériennes et les candidoses surviennent souvent simultanément [67].

La prostatite à *Candida albicans* peut être observée, chez les diabétiques, habituellement après des manœuvres instrumentales [66]

**CHAPITRE 4 :**  
**SENSIBILITÉ AUX**  
**ANTIBIOTIQUES**

## 1. Sensibilité aux antibiotiques

Le choix d'un antibiotique pour traiter une infection bactérienne chez un sujet diabétique doit tenir compte non seulement de l'activité in vitro de cet antibiotique sur la souche bactérienne, mais aussi de sa capacité à atteindre les bactéries au site de l'infection [55]. Pour cela, il faudra étudier au laboratoire de façon détaillée l'activité des antibiotiques sur la souche bactérienne isolée du prélèvement du malade [64], car la sensibilité aux antibiotiques d'une souche bactérienne responsable d'une infection est indispensable à la bonne conduite du traitement de celle-ci [68].

Afin d'étudier l'activité in vitro d'un antibiotique sur une bactérie lors d'une infection chez un sujet diabétique [55], le laboratoire de bactériologie dispose de nombreux tests de sensibilité des bactéries vis-à-vis des antibiotiques. Leur réalisation dépend, bien entendu, de données cliniques et épidémiologiques [68].

Selon les circonstances, sont effectués les tests suivants [69] :

1. Antibiogramme ou test de diffusion de disque en gélose ;
2. Dosage de la concentration minimale inhibitrice et/ou bactéricide (pour les bactéries isolées d'hémoculture, de liquides biologiques ou de suppurations profondes),
3. Recherche des bêta-lactamases : enzymes produites par certaines bactéries : bacilles à Gram négatif non fermentaires, entérobactéries, etc.

### 1.1. Antibiotique

Un antibiotique est actuellement défini comme une substance, d'origine biologique ou synthétique, agissant spécifiquement sur une étape essentielle du métabolisme des bactéries ou des champignons, dont l'activité bactériostatique ou bactéricide se manifeste à dose faible [70].

### 1.2. Antibiogramme

C'est l'un des tests le plus couramment effectué par les laboratoires de microbiologie. C'est un examen de laboratoire visant à déterminer la sensibilité d'une bactérie vis-à-vis de différents antibiotiques [69].

En mettant en contact des bactéries (isolées des prélèvements des malades) avec plusieurs antibiotiques, l'antibiogramme permet de voir quels sont les produits qui inhibent la croissance bactérienne et qui seront efficaces pour traiter l'infection [69].

### 1.3. Sensibilité des bactéries aux familles d'antibiotiques

#### 1.3.1. Groupe PMP (*Proteus-Morganella-Providencia*)

L'étude de la sensibilité in vitro des souches appartenant aux espèces de *Proteus mirabilis* et *Proteus vulgaris* révèle une habituelle résistance à la Colistine et la Tétracycline et une sensibilité à la carbénicilline, à l'Acide nalidixique et ses dérivés ainsi qu'aux aminosides et au Triméthoprime/Sulfaméthoxazole [71].

*Proteus mirabilis* est naturellement sensible à la majorité des antibiotiques, contrairement à *Proteus vulgaris*, les souches de *Morganella morganii* sont résistantes à la Colistine, à l'Ampicilline et aux céphalosporines de 1<sup>re</sup> et 2<sup>ème</sup> génération [71].

Les souches de *Providencia stuartii* sont résistantes à l'Ampicilline et aux céphalosporines de 1<sup>ère</sup> et 3<sup>ème</sup> génération, et souvent également à la Gentamicine. Toutes les espèces de groupe PMP peuvent exprimer des résistances multiples aux antibiotiques, en particulier celle du genre *Providencia* [71].

#### 1.3.2. *Escherichia coli*

Cette bactérie reste dans l'ensemble sensible aux principaux antibiotiques tels que les bêta-lactamines et les Céphalosporines, les aminosides, la Colistine, les Tétracyclines et le Triméthoprime/Sulfaméthoxazole [71].

Cependant, un certain nombre de souches peuvent acquérir des résistances multiples aux antibiotiques ; les Pénicillines, les céphalosporines, les associations avec les inhibiteurs des  $\beta$ -lactamases et les carbapénèmes. Leur fréquence varie en fonction du degré de la pression de sélection d'antibiotique [71].

#### 1.3.3. Staphylocoques

##### ➤ *Staphylococcus aureus*

Les infections à staphylocoques possèdent des problèmes thérapeutiques parfois difficiles du fait de la fréquence des souches poly-résistantes aux antibiotiques.

Près de 90 % des souches de *Staphylococcus aureus* sont résistantes à la Pénicilline G et un pourcentage parfois important de la souche résistante à d'autres antibiotiques tels que les Tétracyclines (60 à 80%), d'Erythromycine, voire les aminosides [72].

Ces résistances sont en règle de nature plasmidique, dues à la sécrétion d'enzymes qui inactivent les antibiotiques avant qu'ils ne puissent détruire le site bactérien cible (pénicillinase ...) [73].

Un autre type de résistance d'origine chromosomique est lié à une modification du site d'action de l'antibiotique. Il en est ainsi pour la résistance à la Méricilline (20 à 30 % de souches de *S.aureus*) qui entraîne une résistance croisée à toutes les autres Pénicillines et Céphalosporines [73].

Enfin, certaines souches de *S. aureus* sont dites tolérantes à la Méricilline, par déficit des enzymes auto-lytiques. Ces souches, nécessitent pour être lysées, des concentrations d'antibiotiques très nettement supérieures aux concentrations inhibitrices bactériostatiques [71].

Il existe enfin une sensibilité pratiquement constante de *S. aureus* à la Vancomycine, à la Pristinamycine et à la Rifampicine [71].

#### ➤ *Staphylococcus epidermidis*

Les souches de *Staphylococcus epidermidis* isolées d'infections nosocomiales sont particulièrement résistantes aux antibiotiques. La majorité d'entre elles est résistante à la Pénicilline (près de 100 % à la Méricilline) [74].

80% de nombreuses souches sont résistantes d'emblée à 5 antibiotiques ou plus dont 30 à 50 % de souches résistantes à la Gentamicine. Seule la Vancomycine et la Rifampicine sont pratiquement toujours actives in vitro [74]

#### ➤ *Staphylococcus saprophyticus*

Ce germe est naturellement résistant à plusieurs antibiotiques pouvant être utilisés en routine: Fosfomycine, mais sensible aux Furanes. Enfin, il est assez souvent résistant à l'Acide fusidique [75].

Il est sensible, en particulier à : Pénicillines dont la Pénicilline G, Oxacilline, aminoglycosides, Tétracyclines, Triméthoprime, son association au Sulfaméthoxazole et les macrolides pour l'Erythromycine [71].

### 1.3.4. Streptocoques

#### ➤ *Streptocoque A*

*Streptocoque pyogènes* est sensible à tous les antibiotiques habituellement actifs sur les streptocoques. Aucune résistance à la Pénicilline G ou à la Bacitracine. En plus, il n'a pas été signalé de résistance à l'Erythromycine et à la Tétracycline, dont le nombre varie selon les régions [76].

#### ➤ *Streptocoque B*

Il est très sensible à la Pénicilline G (CMI comprise entre 0,01 et 0,1, 4 mg / litre), à l'Ampicilline, au Chloramphénicol, aux Tétracyclines, à l'Erythromycine et au Triméthoprim/sulfaméthoxazole. Par contre, il est résistant aux aminosides bactéricides [76].

### 1.3.5. *Pseudomonas*

*P. aeruginosa* est une des bactéries opportunistes les plus résistantes aux antibiotiques. Cette espèce bactérienne est naturellement résistante à la Pénicilline du groupe A (Ampicilline et dérivés), aux céphalosporines de 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> génération, au Chloramphénicol, aux Tétracyclines et au Triméthoprim [77].

Les Pénicillines actives sont les carboxypénicillines (Carbénicillines, aicracillines), les acyluréido-pénicilline (la Pipéracilline), et récemment, les monobactames (Aztréonam) et les carbapénèmes (Imipénème). En dehors des Pénicillines, les aminosides sont encore souvent efficaces, ainsi que la Colistine [77].

### 1.3.6. *Acinetobacter*

Les espèces du genre *Acinetobacter*, surtout *A. baumannii*, sont fréquemment résistants à de nombreux antibiotiques comme: la Pénicilline G, l'Ampicilline, la Céfalotine, le Céfotaxime, la Gentamicine, le Chloramphénicol, les cyclines, le Triméthoprim et la Fosfomycine. La sensibilité aux carboxypénicillines et acyluréido-pénicillines est souvent médiocre. Les antibiotiques disponibles les plus actifs sont la Ticarcilline et la Ceftazidime [78].

# **MATÉRIEL ET MÉTHODES**

## II. Matériel et méthodes

### 1. Présentation de l'étude

#### 1.1. Cadre et durée de l'étude

L'étude relative à ce mémoire a été réalisée au service de microbiologie du Centre Hospitalo-universitaire Ibn Badis de Constantine du 1 Janvier 2019 au 8 mars 2020, sous la direction du Pr. BENLABED.K.

Le travail de recherche est scindé en 2 parties :

1. Une étude rétrospective allant du 01 Janvier 2019 au 09 Février 2020 et qui s'intéresse aux microorganismes isolés du pied diabétique et d'hémocultures du service de médecine interne et d'endocrinologie ainsi que leur profil de résistance ;
2. Une étude prospective au niveau de l'unité de bactériologie générale et d'hémoculture, d'une durée d'un mois, du 09 Février 2020 au 08 Mars 2020.

#### 1.2. Considération éthique

La confidentialité est garantie pour les informations recueillies dans le cadre de cette étude.

### 2. Matériel

#### 2.1. Matériel biologique

Le matériel biologique qui a été analysé durant notre étude s'agit de pus et du sang.

#### 2.2. Critères d'inclusion

Tout prélèvement de pus et de sang provenant d'un patient hospitalisé au service de médecine interne et d'endocrinologie a été incluse dans notre étude, ainsi que toute culture positive. Chaque prélèvement doit être accompagné d'une fiche de renseignements du patient, correctement remplie.

#### 2.3. Population cible

Notre population cible est constituée de malades hospitalisés dans le service de médecine interne et d'endocrinologie du CHU de Constantine.

### 2.4. Recueil des données

Les données de notre étude ont été recueillies à partir du Whonet et du WalkAway ainsi que des registres de bactériologie générale et d'hémoculture du laboratoire de microbiologie selon les renseignements du patient : le service (endocrinologie et médecine interne), l'âge, le sexe, le résultat de la cytologie, le résultat de la culture et l'interprétation de l'antibiogramme.

The image shows a handwritten medical form. On the left, there is a section for patient information with the following fields: 'N° de l'analyse' (1679), 'Docteur' (blank), 'Nom' (Houloum Faide), 'Salle' (Endo) and 'lit' (12 ans), and 'Nature de l'examen' (pus (pred diabète)). On the right, there is a section titled 'RESULTATS' with handwritten entries: 'Tapis de PNA', 'Flu Rhy', and 'E. coli' written in red ink.

**Figure 7.** Recueil des données du registre de bactériologie générale.

### 2.5. Matériel non biologique

Dans notre étude, de différents milieux de culture et d'identification solides et liquides ont été utilisés : gélose nutritive ; gélose Hecktoen ; gélose Chocolat ; milieu Chapman ; milieu mannitol-mobilité ; milieu Urée-Tryptophane (Urée-Indole) ; milieu T.S.I (Triple-Sugar-Iron) ; milieu citrate de Simmons...

En plus des réactifs comme le bleu de méthylène, l'alcool, le lugol, le violet de gentiane, la fuschine et l'huile à immersion.

De plus, des disques de 28 antibiotiques pour l'antibiogramme ont été utilisés :

- a) **Famille des  $\beta$ -Lactamines :** Pénicilline, Oxacilline, Amoxicilline, Amoxicilline+Acide clavulanique, Ticarcilline, Pipéracilline, Céfazoline, Céfotaxime, Céftazidime, Céfoxitine, Aztréonam, Ertapenem, Imipénème.
- b) **Famille des Aminosides :** Gentamicine, Tobramycine, Amikacine.
- c) **Famille des quinolones :** Acide nalidixique, Ciprofloxacine.
- d) **Famille des macrolides :** Erythromycine, Spiramycine, Clindamycine, Pristinamycine.

- e) **Autres familles :** Colistine, Sulfaméthoxazol+Triméthoprim, Vancomycine, Fosmomycine, Acide fusidique, Chloramphénicol.

De plus, un automate pour hémoculture (BACT/ALERT) et antibiogramme (WalkAway et Whonet), des distributeurs de disques d'antibiotique, des boîtes de pétri, des verreries (tubes à essai, pipettes Pasteur, flacons d'hémoculture), des portoirs, des micropipettes, des pieds de coulisse et des vortex ont été également utilisés.

### 3. Méthodes

#### 3.1. Examen cytobactériologique

##### 3.1.1. Prélèvement

###### 3.1.1.1. Pus

Le pus est une collection causée par une infection impliquant en plus des bactéries, des leucocytes et des débris cellulaires, pouvant être blanc, jaune, vert, etc [55].

Les prélèvements appelés ‘pus’ englobent toutes les suppurations survenant d'une infection [55] :

- Par contiguïté, à partir d'une flore commensale ;
  - Post-traumatique ou secondaire à des manœuvres chirurgicales ;
  - Secondaire à une métastase septique.
- **Précautions avant le prélèvement**
    - Désinfection et débridement des tissus nécrotiques avant la réalisation du prélèvement de pus ;
    - Réalisation du prélèvement, de préférence en dehors de toute antibiothérapie ;
    - Evitement de toute contamination par la flore commensale de la peau et des muqueuses [79].
  - **Protocole de prélèvement**

Les prélèvements sont d'origine très diverse. La mise en évidence des bactéries pathogènes dépend de la localisation de la suppuration (proche ou non d'une flore commensale), du mode de prélèvement et du mode de transport [79].

Le prélèvement se fait :

- Soit à la seringue purgée d'air en évitant de le contaminer par la flore commensale ;

- Soit par écouvillon.

Le protocole de prélèvement de pus est réalisé comme suit :

### a) Pus superficiel

- Désinfecter la surface de la lésion avec une solution de l'eau physiologique ou l'antiseptique pour éliminer la flore commensale ;
- A l'aide d'un écouvillon stérile, faire un mouvement de zigzag puis un mouvement de rotation sur une surface de 1cm<sup>2</sup> de la plaie ;
- Fermer l'écouvillon et l'étiqueter pour faciliter son enregistrement [80].

### b) Lésion superficielle fermée

- Désinfecter la région à ponctionner avec un antiseptique dermique ou même avec de l'alcool à 70° pour éliminer la flore commensale ;
- Essuyer avec une compresse imbibée d'eau physiologique pour éliminer toute trace d'antiseptique puis laisser sécher pendant une minute ;
- Purger l'air de la seringue ;
- Aspirer à l'aiguille le pus se trouvant dans la partie la plus profonde de la collection ;
- Enlever l'aiguille et boucher la seringue [80].

### c) Lésion superficielle ouverte

- Enlever le pansement ;
- Rincer la plaie à l'eau physiologique stérile pour éliminer le maximum des micro-organismes contaminants et la flore commensale ;
- Prélever le pus à l'aide d'un écouvillon ou d'une seringue ;
- En cas de plaie profonde, on doit rechercher les bactéries anaérobies. Le prélèvement doit être le plus profond possible, à l'aide d'une seringue (en purgeant l'air résiduel présent dans le corps) ou avec des écouvillons spécifiques et il doit être introduit, si possible, dans un flacon d'hémoculture anaérobie ;
- Etiqueter l'écouvillon ou la seringue pour faciliter son enregistrement [81].

Le produit pathologique est lui-même un excellent milieu de transport, si la quantité prélevée à la seringue est importante [55].

## Matériel et méthodes

Etant donné la diversité des localisations, tout prélèvement de "pus" doit être correctement identifié avec la localisation précise et les renseignements cliniques indispensables pour aider le bactériologiste dans sa démarche diagnostique [55].



**Figure 8.** Prélèvements de pus.

### 3.1.1.2 Hémoculture

C'est un examen microbiologique consistant à mettre en culture du sang circulant qui est normalement stérile. Elle est imposée lors d'une bactériémie ou un état infectieux engendré par le passage de micro-organismes dans le sang. Elle a pour but [55] :

- L'identification de l'agent infectieux responsable de la bactériémie et la détermination de sa sensibilité aux anti-infectieux ;
- La recherche du foyer original du micro-organisme (porte d'entrée) ;
- Le choix de l'antibiothérapie ;
- Suivi et surveillance de l'efficacité du traitement antibiotique.

En règle générale, une hémoculture correspond à une paire de flacons : un flacon aérobie et un flacon anaérobie.

#### • Quand prélever ?

La prescription des hémocultures se justifie dans les cas suivants [82]:

- Présence des signes de sepsis (hyperthermie  $> 38.5^{\circ}$ , hypothermie  $< 36.5^{\circ}$  dans le cas de la présence des cocci ou des bacilles à Gram négatif... ) ;
- Frissons, marbrures ou sueurs.

- **Site du prélèvement**

Le site habituel du prélèvement pour l'hémoculture est la ponction veineuse au niveau de la veine du pli du coude [55].

- **Mode de prélèvement**

Les principales étapes suivent un protocole strict validé par le CLIN (Comité de Lutte contre les Infections Nosocomiales) :

- Laver les mains avec une solution hydroalcoolique et porter des gants pour le préleveur ;
- Désinfecter l'opercule du flacon avec alcool à 70° ou de la polyvidone iodée ;
- Réaliser le prélèvement après une antisepsie rigoureuse, pour éviter toute contamination par des germes cutanés ou ambiants pouvant compromettre la culture de la bactérie recherchée et/ou gêner l'interprétation du résultat ;
- Désinfection de la peau du patient au point de la ponction de manière centrifuge successivement à l'alcool à 70°C ;
- Attendre une minute avant le prélèvement ;
- Le système de prélèvement est une tubulure munie de 2 aiguilles, l'une servant à pratiquer la ponction veineuse et l'autre à inoculer le flacon grâce à un adaptateur ;
- Pour permettre la croissance de toutes les bactéries courantes aérobies, anaérobies facultatives, anaérobies strictes et des levures, il est nécessaire d'ensemencer un jeu de 2 flacons présentant un milieu et une atmosphère différente et appelés « flacon aérobie » et « flacon anaérobie » ;
- Ensemencer toujours en premier le flacon aérobie de sorte à expulser l'air de la tubulure avant le prélèvement du flacon anaérobie ;
- Prélever le sang en contrôlant visuellement le remplissage correct des flacons
- Désinfecter soigneusement le bouchon avec de l'alcool 70°C après la ponction ;
- Étiqueter correctement l'ensemble des flacons ;
- Le prélèvement doit être répété trois fois en 24 heures, à des intervalles d'au moins une heure, car de nombreuses bactériémies sont « intermittentes » [55 ; 83].

- **Volume du sang à prélever**

Le recueil d'un volume suffisant de sang est nécessaire pour augmenter les chances d'isolement des germes, mais un ratio (sang/bouillon) de 1/10, voire 1/5 doit être respecté, afin d'inactiver le pouvoir bactéricide du sérum et de diluer les antibiotiques éventuels.

## Matériel et méthodes

Chez l'adulte: 10 ml minimum (20 ml), chez l'enfant: 5 ml; chez le nouveau-né, nourrisson: 1 à 2 ml, car la densité bactérienne est plus élevée [55].



**Figure 9.** Flacons d'hémoculture pour automate BACT/ALERT.

### 3.1.2. Acheminement/transport

Chaque prélèvement de pus et d'hémoculture doit être [80 ; 83] :

- Transporté vers le laboratoire le plus rapidement possible à T° ambiante car il sera souvent nécessaire de chercher les bactéries anaérobies ;
- Etiqueté correctement et accompagné d'une fiche de renseignements comportant: nom / prénom, âge, sexe, service, date et heure de prélèvement, mode de prélèvement, renseignements cliniques, diagnostic présomptif, antibiothérapie éventuellement en cours et examens biologiques demandés.

### 3.1.3. Traitement des prélèvements

#### 3.1.3.1. Examens directs

- **Examen macroscopique de pus**

C'est un examen important, précisément pour le pus afin d'orienter le diagnostic bactériologique [84].

On observe la couleur du pus, sa consistance et son odeur. La couleur du pus varie en fonction de la présence de bactéries. La bactérie pyogène la plus fréquente en pathologie infectieuse est *Staphylococcus aureus*, qui produit un pus jaune crémeux [84].

Le pus, dans les infections à bacille pyocyanique (*Pseudomonas aeruginosa*) est verdâtre, avec une odeur parfumée [84].

- **Examens microscopiques**

Ils ont un rôle fondamental en microbiologie, étant une étape importante dans l'analyse des produits biologiques. Ils restreignent la zone d'investigations en indiquant les modalités ultérieures du diagnostic microbiologique [79].

**a) Coloration au bleu de méthylène**

C'est une coloration simple, qui a été utilisée dans notre travail uniquement pour le prélèvement de pus. Elle permet d'observer la cytologie d'accompagnement (polynucléaires, lymphocytes...), mais elle permet aussi de renseigner sur la présence éventuelle des bactéries ; leur forme et leur mode de regroupement, mais aussi des champignons. Il faut faire un frottis mince et suivre les étapes comme suit [84] :

1. Réaliser un frottis et le fixer ;
2. Recouvrir la lame au bleu de méthylène phéniqué de 1 à 2 minutes (ça peut aller jusqu'à 10 minutes) ;
3. Rincer à l'eau de robinet ;
4. Sécher la lame entre 2 feuilles de papier Joseph ;
5. Observer au microscope à l'objectif (x100) avec l'huile à immersion. (l'objectif est dit « à immersion » parce qu'il doit être immergé dans une huile spéciale qui a le même indice de réfraction que le verre). On observe des lymphocytes, des polynucléaires, etc. On peut éventuellement observer des bactéries en bleu foncé sur un fond bleu clair et des levures.

**b) Coloration de Gram**

Contrairement à la coloration au bleu de méthylène, la coloration de Gram est utilisée et pour le sang et pour le pus. Elle permet de distinguer les bactéries à Gram négatif qui apparaissent roses et les bactéries à Gram positif qui apparaissent violettes. Cette différence de coloration est liée à des différences de nature de la paroi bactérienne. Elle permet de renseigner sur : le type Gram+ ou Gram-, la forme des bactéries et leur mode de regroupement. Elle est réalisée comme suit [84] :

1. Réaliser un frottis et le fixer ;
2. Ajouter le violet de gentiane sur la lame pendant 1 minute ;

3. Laver la lame à l'eau physiologique ;
4. Ajouter la lame dans une solution de lugol pendant 30 secondes ;
5. Laver à l'eau de robinet ;
6. Décolorer 30 secondes à l'alcool ;
7. Rincer immédiatement à l'eau de robinet;
8. Ajouter de la fuschine sur la lame pendant 30 secondes ;
9. Laver la lame à l'eau de robinet ;
10. Sécher la lame en la tamponnant avec du papier Joseph ;
11. Observer à l'objectif x100 à l'immersion dans l'huile et à pleine lumière.



**Figure 10.** Microscope optique.

### 3.1.3.2. Mise en culture

Du fait de la diversité des bactéries potentiellement impliquées dans les prélèvements de pus et de sang, des milieux de culture simples ont été utilisés ainsi que des milieux sélectifs, notamment pour les prélèvements contaminés par la flore commensale [85].

Les prélèvements serontensemencés sur :

- Milieu Chapman pour staphylocoques ;
- Milieu Hektoen pour bacille à Gram négatifs (entérobactéries, bactéries non fermentantes) ;
- Une gélose au sang frais pour streptocoques ;

## Matériel et méthodes

---

- Une gélose au chocolat (sang cuit) pour les germes exigeants.

Le prélèvement est ensemencé sur chacun de ces milieux à l'aide d'une anse de platine stérile avec la technique des quadrants, puis incubé à l'étuve à 37°C pendant 18h à 24h [85]. Dans certains contextes, l'incubation doit être prolongée [79].



**Figure 11.** Milieux de culture.

- **Système automatisé BACT/ALERT pour hémoculture**

Il s'agit de l'utilisation de l'automate (BACT/ALERT). On ensemence 2 flacons pour chaque prélèvement, un flacon aérobie et un flacon anaérobie. Ces flacons sont adaptés à l'incubation dans l'automate, contenant 40ml de bouillon à base de peptone et un détecteur de CO<sub>2</sub> [86].

La période d'incubation dans l'automate est de 5 à 6 jours pour la majorité des germes isolés [86].

Un flacon est signalé positif, en décelant les modifications de la quantité de CO<sub>2</sub> par une méthode colorimétrique [86].



**Figure 12.** Automate BACT/ALERT.

- **Système manuel pour hémoculture**

Le milieu de culture est un bouillon citraté dans un flacon de 180ml. L'incubation dure 7 à 8 jours. Quand on fait une grande dilution de 10ml ou 20ml de sang, donc la durée d'incubation est beaucoup plus importante. La lecture se fait chaque jour à la recherche d'une turbidité ou une hémolyse.

### **3.1.3.3. Identification**

- ❖ **Identification par galeries biochimiques classiques**

L'identification biochimique est un examen qui permet d'identifier une bactérie en s'appuyant sur ses caractères biochimiques.

- a) **Recherche des bactéries à Gram négatifs (*Enterobactéries*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*)**

Elle a porté sur une série de tests pour biochimiques qui sont :

### 1. Milieu TSI

- **Principe**

C'est un milieu de différenciation des entérobactéries basée sur la production de sulfure d'hydrogène (H<sub>2</sub>S) [87].

- **Technique**

- La pente du milieu TSI estensemencée par stries et le culot par piqure centrale ;
- Incubation à 37C° pendant 18 heures [87].

- **Lecture**

- Le virage du culot au jaune traduit la fermentation du glucose ;
- La présence de bulles de gaz signifie la fermentation avec production du gaz ;
- Le virage de la pente au jaune traduit l'utilisation du lactose ou saccharose ou les deux à la fois ;
- Une coloration noire, signifie la production d'hydrogène sulfuré (H<sub>2</sub>S) [87].



**Figure 13.** Milieu TSI négatif.

### 2. Utilisation de citrate

- **Principe**

La gélose citrate de Simmons est utilisée pour la différenciation des bacilles à Gram négatifs. Il permet la recherche du citrate de sodium comme seule source de carbone et d'énergie pour les bactéries. Ce milieu contribue à la mise en évidence des caractères d'identification des Entérobactéries [88].

- **Technique**

- La pente du milieu Citrate de Simmons est ensemencée avec une strie sur toute la surface ;
- Incubation à 37°C, pendant 18 heures [88].

- **Lecture**

Une réaction positive (utilisation de citrate) se traduit par une alcalinisation du milieu en le faisant virer au bleu [88].



**Figure 14.** Milieu Citrate de Simmons négatif.

### 3. Mannitol-mobilité

- **Principe**

C'est un milieu qui permet de déceler la dégradation du mannitol qui est le produit du mannose et la mobilité de la bactérie [89].

- **Technique**

L'ensemencement se fait au moyen d'une pipette pasteur par une simple piqure centrale jusqu'au fond du tube [89].

- **Lecture**

- La lecture se fait après 24h d'incubation à 37°C.
- La fermentation du mannitol ce traduit par un virage de couleur du rouge au jaune.
- La présence des bactéries au-delà de l'axe central signifie qu'elles sont mobiles; cependant leur présence uniquement au niveau de la piqure centrale signifie qu'elles sont immobiles [89].

### 4. Recherche de l'uréase

- **Principe**

Le milieu urée-tryptophane appelé improprement milieu urée-indole. Il est utilisé pour les entérobactéries qui peuvent dégrader l'urée qui est un composé organique et qui peut servir de source d'azote unique aux bactéries possédant une uréase très active [90].

En présence de cette enzyme, les bactéries uréo-lytiques peuvent transformer l'urée en ammoniac et en carbonate d'ammonium qui alcalinise le milieu, et qui fait virer l'indicateur coloré de pH (le rouge de phénol) du jaune au rouge en milieu basique [90].



**Figure 15.** Milieu urée-indole négatif.

#### b) Recherche des bactéries à Gram positifs

##### 1. Test catalase

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), produit toxique du métabolisme aérobie de nombreuses bactéries en  $H_2O$  et  $1/2 O_2$  [90].



- **Technique**

- Prendre une lame porte-objet propre ;
- Déposer sur celle-ci une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes ;
- Emulsionner un peu de la colonie suspecte ou de la culture obtenue sur gélose[90].

- **Lecture**

- Catalase positive → il s'agit de staphylocoques.

- Catalase négative → il s'agit de streptocoques.



**Figure 16.** Peroxyde d'hydrogène pour catalase.

### ✓ Recherche des staphylocoques

#### 1. Recherche de la coagulase

##### • Principe

La coagulas libre est présente chez *S.aureus*. Ce test consiste à mettre en évidence la coagulas libérée dans le milieu extérieur [91].

##### • Technique

- La détection de cette enzyme s'effectue en ajoutant dans un tube 0.5 ml de plasma humain et 0.5 ml d'une culture de staphylocoques de 24h en bouillon cœur cervelle ;
- Le mélange est placé à l'étuve à 37°C et incubé pendant 24 heures.
- Les souches de *S. aureus* provoquant la coagulation du plasma le plus souvent dans les trois premières heures ;
- Un test positif se traduit alors par la formation d'un coagulum [91].



**Figure 17.** Test coagulase.

### **2. Fermentation du mannitol**

Le milieu Chapman contient le rouge de phénol comme indicateur coloré de pH. La dégradation du mannitol se traduit par une acidification du milieu qui fait virer l'indicateur du pH au jaune, ce changement de couleur permet également d'orienter l'identification vers *Staphylococcus aureus* [91].



**Figure 18.** Milieu manitol-mobilité négatif.

### **✓ Recherche des streptocoques hémolytiques**

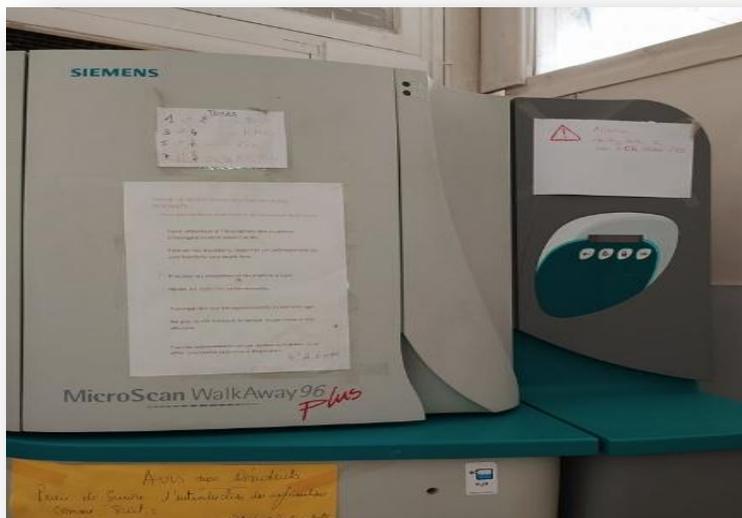
Les streptocoques sont recherchés sur la gélose au sang qui est un milieu riche d'autant plus par la présence de sang [92].

- **Principe**

Le milieu gélose au sang permet la lecture du caractère hémolytique ; l'hémolyse étant la destruction des globules rouges. Les colonies entourées d'un halo clair sont des bêta-hémolyses (hémolyse totale), les colonies entourées d'un halo verdâtre sont des alpha-hémolyses (hémolyse partielle), les autres colonies qui ne représentent pas un halo sont des gamma-hémolyses [92].

- ❖ **Système automatisé WalkAway**

C'est un automate de 4<sup>e</sup> génération à indicateur Red/Ox. Il permet l'identification et la réalisation de l'antibiogramme pour déterminer la CMI [93].



**Figure 19.** Automate WalkAway.

### 3.2. Antibiogramme

La technique d'antibiogramme a été utilisée dans notre étude dans le but de définir la sensibilité des bactéries aux antibiotiques par la technique de diffusion sur milieu gélosé Mueller-Hinton.

Dans notre étude, 28 antibiotiques ont été testés :

- Famille des  $\beta$ -Lactamines :** Pénicilline, Oxacilline, Amoxicilline, Amoxicilline+Acide clavulanique, Ticarcilline, Pipéracilline, Céfazoline, Céfotaxime, Céfotaxidime, Céfoxitine, Aztréonam, Ertapenem, Imipenème.
- Famille des Aminosides :** Gentamicine, Tobramycine, Amikacine.

- c) **Famille des quinolones** : Acide nalidixique, Ciprofloxacine.
- d) **Famille des macrolides** : Erythromycine, Spiramycine, Clindamycine, Pristinamycine.
- e) **Autres familles** : Colistine, Sulfaméthoxazol+Triméthoprime, Vancomycine, Fosmomycine, Acide fusidique, Chloramphénicol.

- **Méthode de diffusion sur gélose solide**

Elle s'effectue sur milieu solide : milieu Mueller-Hinton, et c'est la technique la plus utilisée, surtout pour les bactéries à croissance rapide. Ce milieu permet d'étudier l'efficacité de plusieurs antibiotiques en même temps. Il doit être séché avant son utilisation [69].

### 3.2.1. Inoculum

Sur une culture pure, choisir 4 à 5 colonies bien isolées et parfaitement identiques avec une anse de platine et les transférer dans un tube de l'eau physiologique. Émulsionner une quantité suffisante de culture bactérienne dans de l'eau physiologique pour que la turbidité soit celle du standard McFarland 0,5[79].



**Figure 20.** Préparation de l'inoculum pour l'antibiogramme.

### 3.2.2. Ensemencement

- Tremper un écouvillon de coton dans la suspension ;
- Presser fermement contre la paroi intérieure du tube juste au-dessus du niveau du liquide, tourner l'écouvillon pour enlever le liquide excédentaire ;

## Matériel et méthodes

---

- Étaler à trois reprises sur la surface entière de la gélose, en tournant la boîte à environ 60°C après chaque application pour obtenir une distribution égale de l'inoculum ;
- Faire passer l'écouvillon sur les bords de la surface de la boîte ;
- Déposer les disques d'antibiotiques à tester à la surface et incuber pendant 24h à 37°C.



**Figure 21.** Distributeurs de disques d'antibiotiques.

### 3.2.3. Lecture et interprétation des résultats

Après une nuit d'incubation, le diamètre de chaque zone d'inhibition (diamètre du disque compris) est mesuré en mm et noté. Les mesures peuvent être prises avec le pied de coulisse sur le fond de la boîte [79].

Les zones d'inhibition doivent être comparées au tableau d'interprétation des tailles des zones et notées en fonction des catégories suivantes : sensibles (S), intermédiaires (I) et résistantes (R) pour chaque antibiotique testé [79].

Des souches test peuvent être réutilisées pour contrôler et valider les techniques du laboratoire. Il s'agit des souches test [94]:

- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ;
- *Escherichia coli* ATCC 25922 ;
- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

## Matériel et méthodes

---

Ensuite, les diamètres seront comparés:

- Si le diamètre de la souche à étudier est  $\geq$  à celui de la souche test, elle est donc classée sensible.
- Si le diamètre de la souche à étudier est  $<$  à celui de la souche test, elle est donc classée résistante.
- Si le diamètre de la souche à étudier est égale à celui de la souche test, elle est donc classée intermédiaire.

# **RÉSULTATS**

### III. Résultats

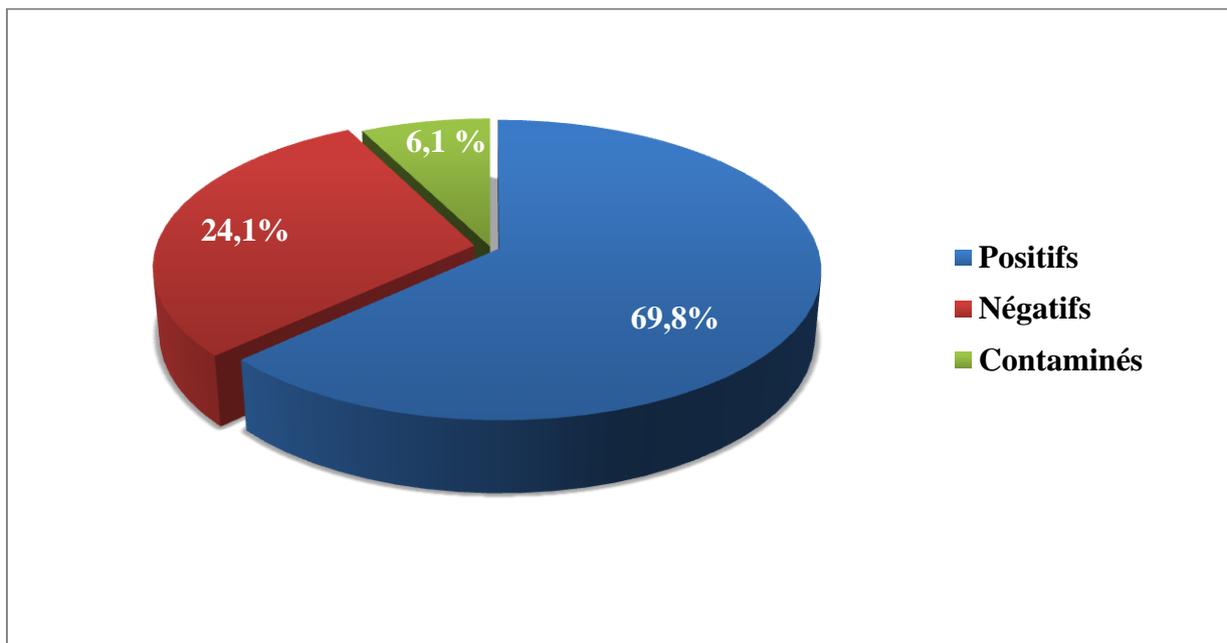
#### 1. Profil clinique

##### 1.1. Taux de positivité global

Durant notre étude, 710 prélèvements provenant du service de médecine interne et d'endocrinologie du CHU de Constantine ont été reçus au service de Microbiologie, 496 prélèvements se sont révélés positifs, soit un taux de positivité global de 69,8%. Nous notons que 171 prélèvements sont négatifs et 43 sont contaminés, soit 24,1% et 6,1% respectivement (Tableau 4 et histogramme 22).

**Tableau4.** Taux de positivité global (n= 710).

Prélèvements	Nombre	Pourcentage%
Positifs	496	69,8
Négatifs	171	24,1
Contaminés	43	6,1
Total	710	100



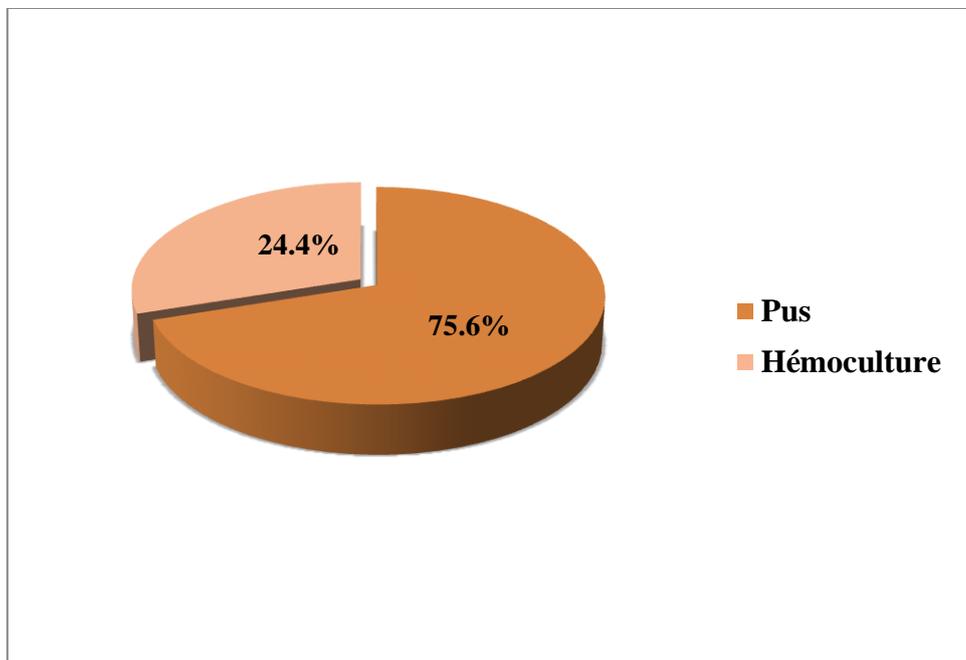
**Figure 22.** Taux de positivité global (n=710).

### 1.2. Répartition des examens selon la nature du prélèvement

Selon la nature du prélèvement, nous constatons que les prélèvements de pus sont les plus fréquents (75,6%), suivis par les prélèvements de sang avec 24,4% (**Tableau 5 et histogramme 23**).

**Tableau 5.** Répartition des examens selon la nature du prélèvement (n=710).

Echantillons	Nombre	Pourcentage%
Pus	537	75,6
Hémoculture	173	24,4
Total	710	100



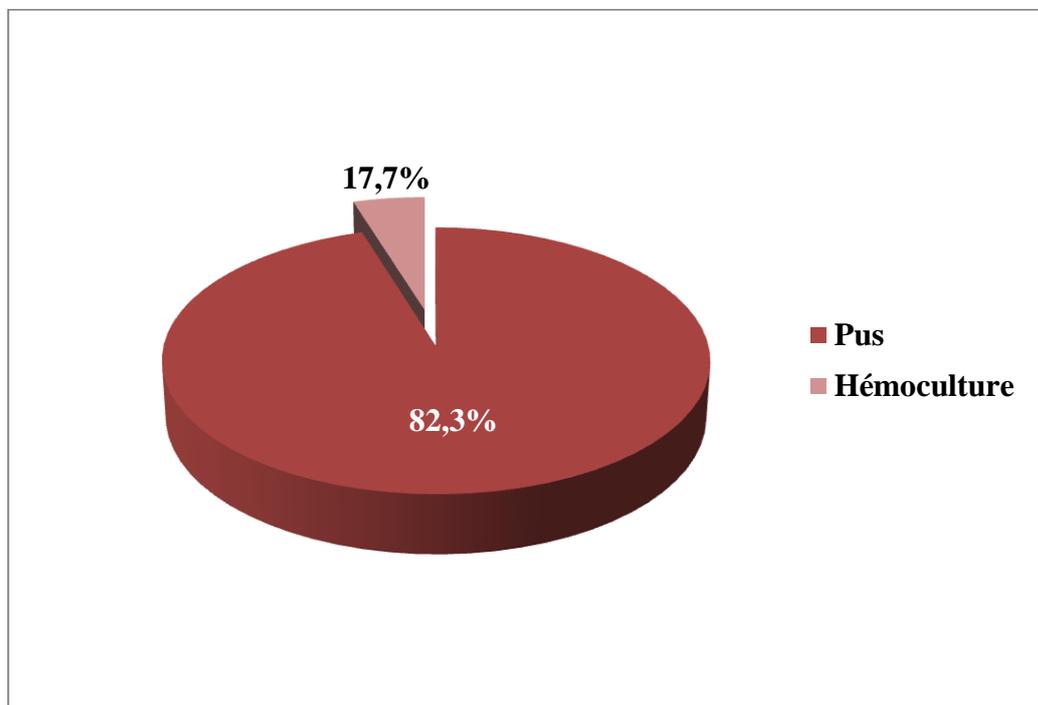
**Figure 23.** Répartition des examens selon la nature du prélèvement (n= 710).

### 1.3. Répartition des examens positifs selon la nature du prélèvement

Selon la nature du prélèvement, nous constatons que les prélèvements de pus dominant (82,3%) par rapport à l'hémoculture (17,7%). Nous constatons donc, le faible nombre des hémocultures réalisées : seulement 88 prélèvements sur près de 14 mois (**Tableau 6 et histogramme 24**).

**Tableau 6.** Répartition des examens positifs selon la nature du prélèvement (n= 496).

Nature du prélèvement	Effectif	Pourcentage%
<b>Pus</b>	408	82,3
<b>Hémoculture</b>	88	17,7
<b>Total</b>	496	100



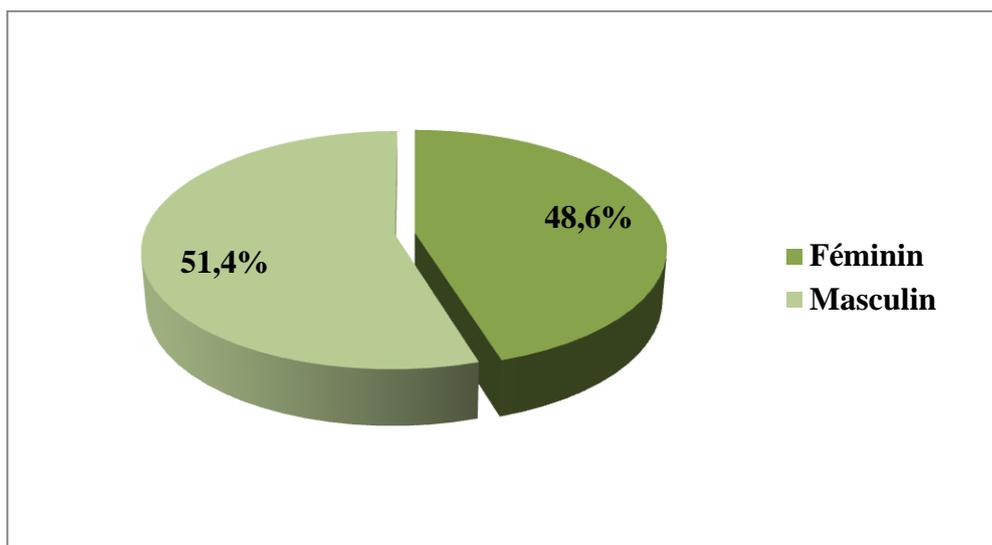
**Figure 24.** Répartition des examens positifs selon la nature du prélèvement (n=496).

#### 1.4. Répartition des prélèvements positifs selon le sexe

Selon le sexe, nous distinguons une prédominance masculine avec 51,4% des cas et 48,6% chez le sexe féminin, soit un sex-ratio de 1,05 (Tableau 7 et histogramme 25).

**Tableau 7.** Répartition des prélèvements positifs selon le sexe (n=496).

Sexe	Nombre	Pourcentage%
Masculin	255	51,4
Féminin	241	48,6
Total	496	100



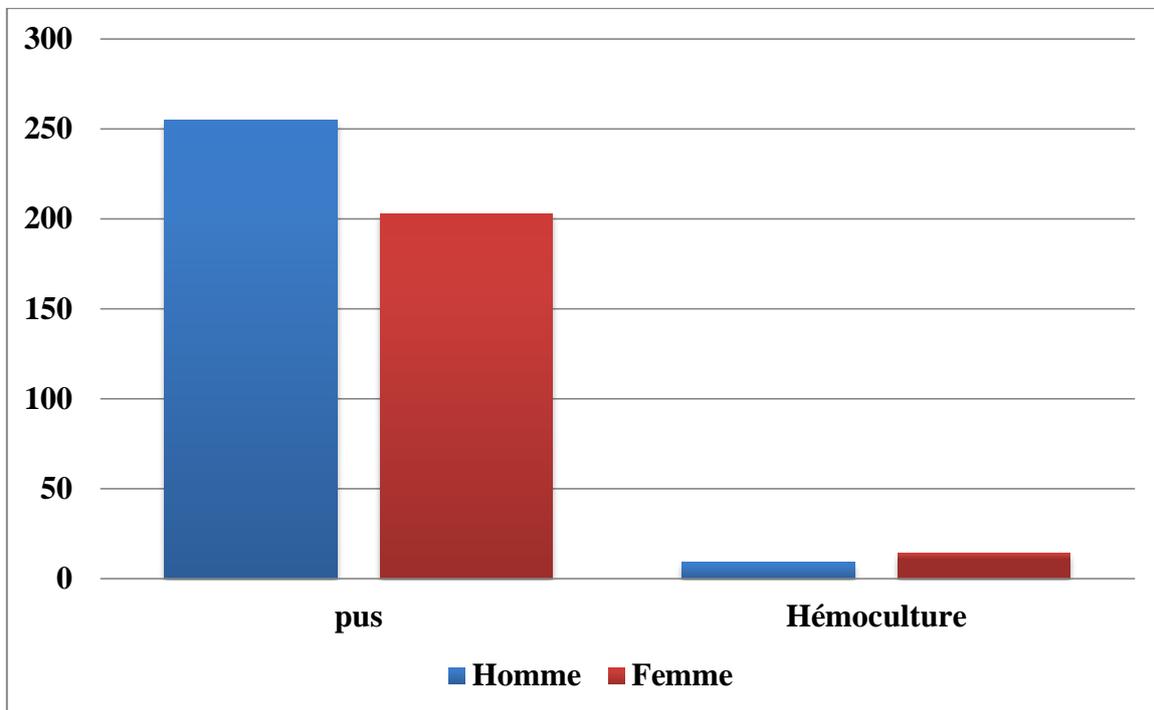
**Figure 25.** Répartition des prélèvements positifs selon le sexe (n=496).

### 1.5. Répartition des examens en fonction de la nature du prélèvement et du sexe

Pour les prélèvements de pus, nous notons une légère prédominance du sexe masculin. Alors que pour l'hémoculture, nous constatons une prédominance nette du sexe féminin (60% pour les femmes et 40% pour les hommes) (Tableau 8 et histogramme 26).

**Tableau 8.** Répartition des examens en fonction de la nature du prélèvement et du sexe (n=496).

	<b>Pus</b>	<b>Pourcentage%</b>	<b>Hémoculture</b>	<b>Pourcentage%</b>
<b>Femme</b>	188	46,1	53	60,2
<b>Homme</b>	220	53,9	35	39,8
<b>Totale</b>	408	100	88	100



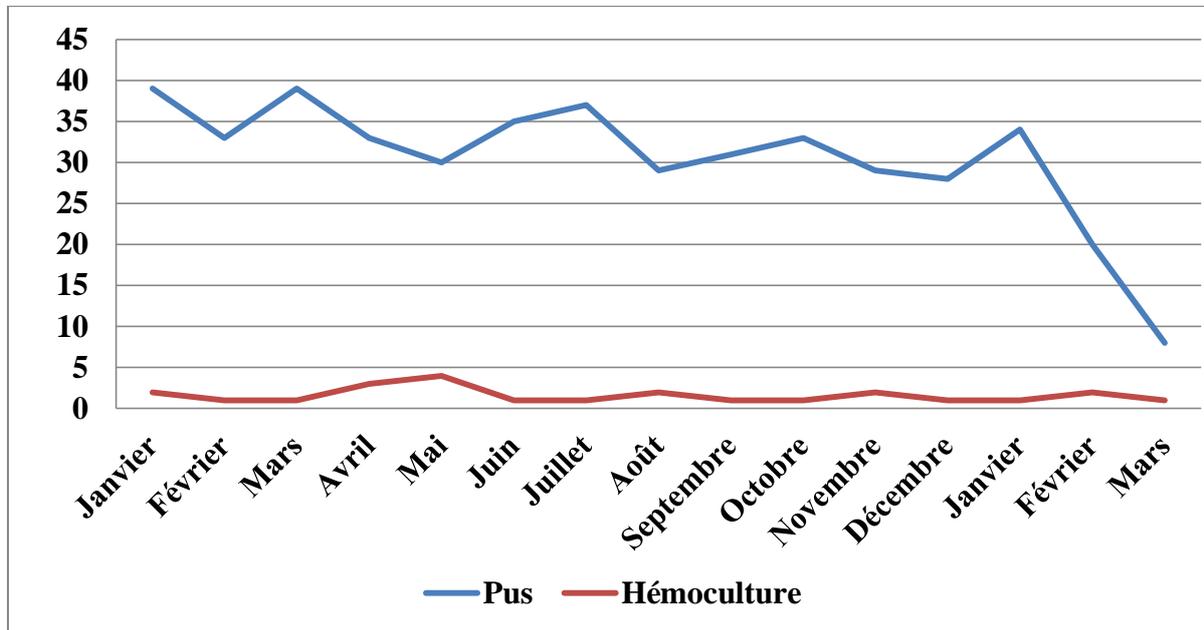
**Figure 26.** Répartition des examens en fonction de la nature du prélèvement et du sexe (n=496).

### 1.6. Résultats positifs en fonction des mois et de la nature du prélèvement

Nous constatons, pour les pus, des pics en Janvier, Mars et Juillet 2019, puis Janvier 2020.

Les résultats positifs ont sensiblement diminué depuis ce mois, certainement en raison de la pandémie du Covid-19.

Pour l'hémoculture, nous n'avons reçu que 88 prélèvements. Ce faible nombre ne nous permet pas de tirer des conclusions (**Histogramme 27**).



**Figure 27.** Résultats positifs en fonction des mois et de la nature du prélèvement (n=710).

### 1.7. Fréquence des bactéries isolées

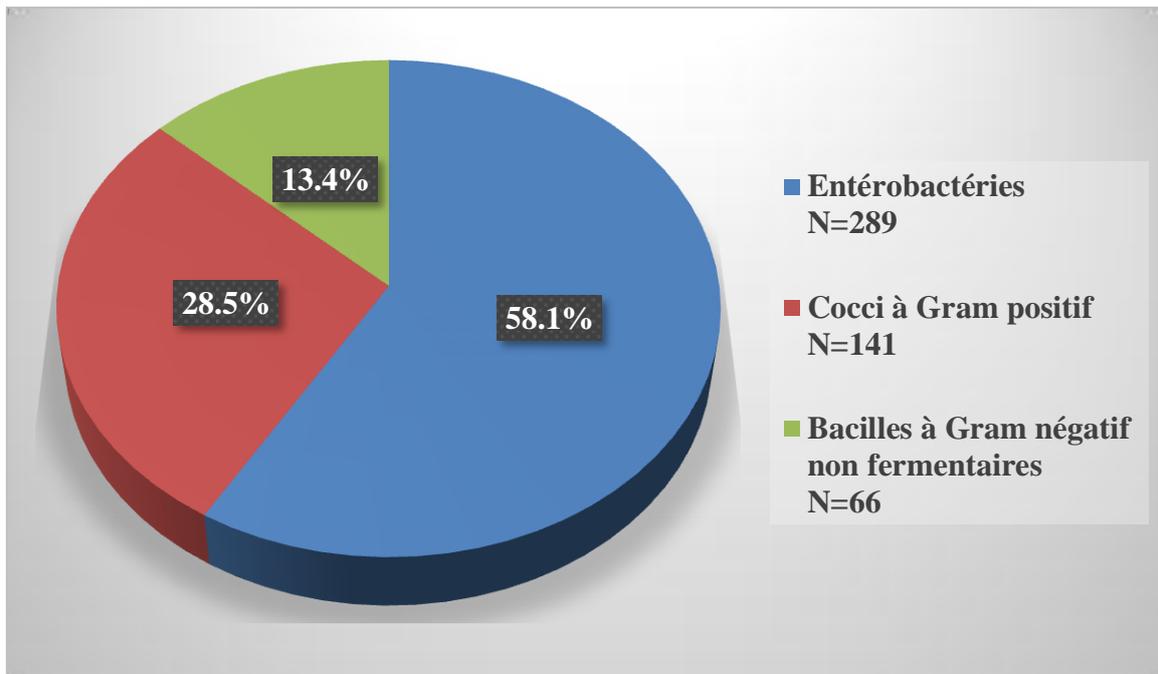
La présence des entérobactéries dans notre étude est majoritaire (58,1%). Elles sont suivies par les cocci à Gram positif (28,5%) et les bacilles à Gram négatif non fermentants (13,4%).

*Proteus mirabilis* est la bactérie la plus isolée avec 81 cas, soit 16,3%. Il est suivi par *E.coli* (11,7%) et *S. aureus* (10,7%). *P.aeruginosa* est en 4<sup>ème</sup> position (10,3%), suivi par *M.morganii* (9,8%).

Selon le genre, les PMP (*Proteus-Morganella-Providencia*) viennent en 1<sup>ère</sup> position, avec 81 cas pour *P.mirabilis*, 49 cas pour *M.morganii* et 43 cas pour *P.vulgaris*, soit un total de 173 cas (34,7%). Il faut noter enfin, les 29 cas (5,9%) des entérocoques, bactéries retrouvées de plus en plus au cours des infections hospitalières (**Tableau 9 et Histogramme 28**).

**Tableau 9.** Fréquence des bactéries isolées (n= 496).

Groupes	Bactéries	Nombre	Fréquence%
<b>Entérobactéries</b> N=289 (58,1%)	<i>Proteus mirabilis</i>	81	16,3
	<i>Escherichia coli</i>	58	11,7
	<i>Morganella morganii</i>	49	9,8
	<i>Proteus vulgaris</i>	43	8,6
	<i>Klebsiella spp.</i>	39	7,9
	<i>Enterobacter spp.</i>	19	3,8
<b>Cocci à Gram positif</b> N=141 (28,5%)	<i>Staphylococcus aureus</i>	53	10,7
	Staphylocoque à coagulase négative	46	9,3
	<i>Enterococcus spp.</i>	29	5,9
	<i>Streptococcus spp.</i>	13	2,6
<b>Bacilles à Gram négatif non fermentants</b> N=66 (13,4)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	51	10,3
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	15	3,1
<b>Total</b>		496	100



**Figure 28.** Fréquence des bactéries isolées (n=496).

### 1.8. Répartition des bactéries selon la fréquence

Nous constatons que les prélèvements positifs sont prédominés par *P.mirabilis* avec un taux de 16,3%, suivi par *E.coli* (11,7%), *S.aureus* et *P.aeruginosa* avec 10,7% et 10,3% respectivement (**Tableau 10**).

**Tableau 10.** Répartition des bactéries selon la fréquence (n= 496).

<b>Bactéries</b>	<b>Nombre des souches</b>	<b>Fréquence%</b>
<i>Proteus mirabilis</i>	81	16,3
<i>Escherichia coli</i>	58	11,7
<i>Staphylococcus aureus</i>	53	10,7
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	51	10,3
<i>Morgaella morganii</i>	49	9,8
Staphylocoque à coagulase négative	46	9,3
<i>Proteus vulgaris</i>	43	8,6
<i>Klebsiella spp.</i>	39	7,9
<i>Enterococcus spp.</i>	29	5,9
<i>Enterobacter spp.</i>	19	3,8
<i>Acinetobacter baumannii</i>	15	3,1
<i>Streptococcus spp.</i>	13	2,6
<b>Total</b>	496	100

### 1.9. Répartition des bactéries isolées en fonction des familles

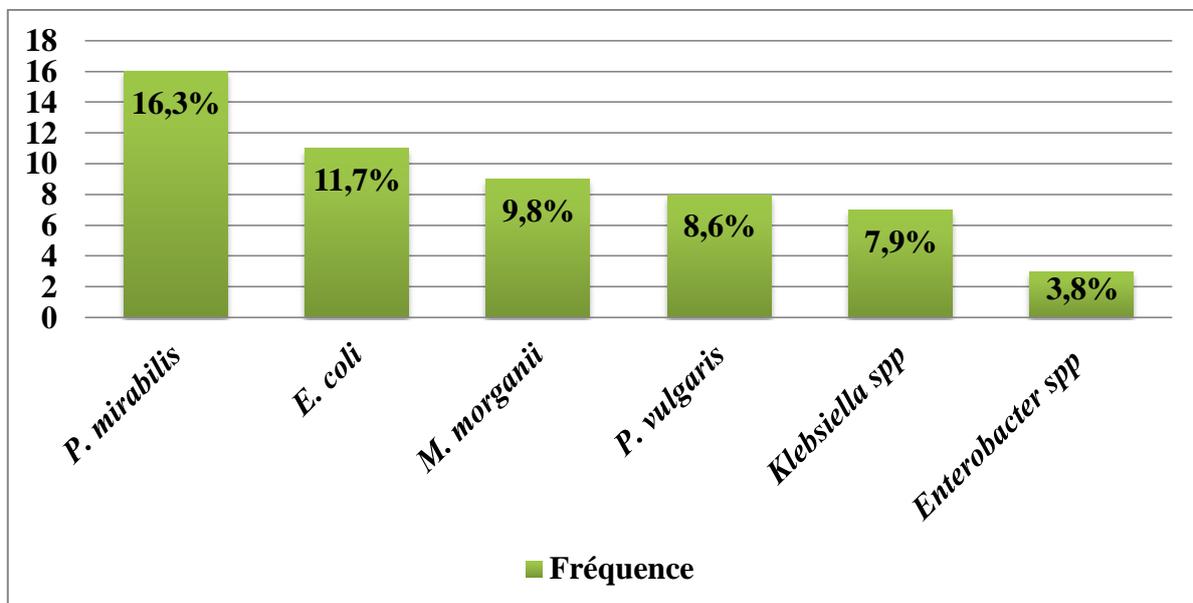
La répartition des bactéries isolées en fonction des familles montre que les *Enterobacteriaceae* dominent avec 58,1%. Elles sont suivies par les *Staphylococcaceae* (20%), *Pseudomonadaceae* (10,3%) et *Enterococcaceae* (5,9%) (**Tableau 11**).

**Tableau 11.** Répartition des bactéries isolées en fonction des familles (n= 496).

Famille	Nombre	Fréquence%
<i>Enterobacteriaceae</i>	289	58,1
<i>Staphylococcaceae</i>	99	20
<i>Pseudomonadaceae</i>	51	10,3
<i>Enterococcaceae</i>	29	5,9
<i>Streptococcaceae</i>	13	2,6
<i>Moraxellaceae (Acinetobacter)</i>	15	3,1
<b>Total</b>	496	100

### 1.10. Répartition des entérobactéries

L'histogramme 29 montre la répartition par ordre décroissant des entérobactéries. *P.mirabilis* est en tête de liste avec 16,3%, suivi d'*Escherichia coli* (11,7%), *Morganella morganii* (9,8%), *Proteus vulgaris* (8,6%), *Klebsiella spp.* (7,9%), et en dernière position *Enterobacter spp.* (3,8%) (**Histogramme29**).



**Figure 29.** Répartition des entérobactéries (n= 289).

### 1.11. Résultats selon les bactéries et la nature du prélèvement

- **Fréquence des bactéries isolées dans les prélèvements de pus**

Dans les prélèvements de pus, nous constatons que l'ordre des germes est presque le même. C'est toujours *P.mirabilis* qui prédomine avec 81 cas, soit 19,9%. Il est suivi par *E.coli* (12,2%), *P.aeruginosa* (12%) et *M.morganii* (11,5%). *S.aureus* est en 5<sup>ème</sup> position avec 10,5% (**Tableau 12**).

**Tableau 12.** Fréquence des bactéries isolées dans les prélèvements de pus (n=408).

Bactéries	Nombre des souches	Fréquence%
<i>Proteus mirabilis</i>	81	19,9
<i>Escherichia coli</i>	50	12,2
<i>Pseudomonas aeuroginosa</i>	49	12
<i>Morganella morganii</i>	47	11,5
<i>Staphylococcus aureus</i>	43	10,5
<i>Proteus vulgaris</i>	43	10,5
<i>Klebsiella spp.</i>	28	6,9
<i>Enterococcus spp</i>	24	5,9
<i>Enterobacter spp.</i>	19	4,6
<i>Acinetobacter baumannii</i>	14	3,4
<i>Streptococcus spp.</i>	10	2,5
<b>Total</b>	408	100

- **Fréquence des bactéries isolées dans les prélèvements d'hémoculture**

Dans les hémocultures, staphylocoque à coagulase négative arrive en tête avec 46 cas, soit 52,3%. Cette bactérie pose un grand problème d'interprétation ; s'agit-il de vraies infections ou de simples contaminations. Pour cette raison, la coopération avec le clinicien est très importante pour prendre la décision adéquate. Une fiche de renseignements bien remplie aide aussi pour l'interprétation.

SCN est suivi par *Klebsiella spp.* (12,5%) et *S.aureus* (11,4%). Aucune souche de *P.mirabilis*, *P.aeuroginosa*, *P.vulgaris* et *Enterobacter spp.* n'a été isolée (**Tableau 13**).

**Tableau 13.** Fréquence des bactéries isolées dans les prélèvements de l'hémoculture (n= 88).

Bactéries	Nombre de souches	Fréquence%
Staphylocoque à coagulase négative	46	52,3
<i>Klebsiella spp.</i>	11	12,5
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	11,4
<i>Escherichia coli</i>	8	9,1
<i>Enterococcus spp</i>	5	5,7
<i>Streptococcus spp.</i>	3	3,4
<i>Morganella morganii</i>	7	2,3
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1	1,1
<b>Total</b>	<b>88</b>	<b>100</b>

### 1.12. Fréquence des bactéries isolées selon le sexe

Le tableau 14 (a et b) montre la fréquence des germes isolés selon le sexe. Nous remarquons que la bactérie la plus fréquente chez le sexe masculin est *P. mirabilis* (22,7%). Les bactéries les moins trouvées sont *Streptococcus spp.* et *Acinetobacter baumannii* avec 1,9% et 2,4% respectivement.

La bactérie la plus fréquente chez le sexe féminin est *E.coli* (19,5%) et les bactéries les moins fréquentes sont: *Enterobacter spp.* et *Streptococcus spp.* avec 3,7% et 2,9% respectivement (**Tableau 14**).

**Tableau 14.a)** Fréquence des bactéries isolées selon le sexe (Homme) (n=496).

Bactéries	Nombre des souches	Homme %
<i>Proteus mirabilis</i>	58	22,7
<i>Staphylococcus aureus</i>	33	12,9
<i>Morganella morganii</i>	33	12,9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	29	11,4
<i>Proteus vulgaris</i>	23	9
<i>Klebsiella spp.</i>	21	8,2
Staphylococque à coagulase négative	14	5,5
<i>Enterococcus spp.</i>	12	4,7
<i>Escherichia coli</i>	11	4,3
<i>Enterobacter spp.</i>	10	3,9
<i>Streptococcus spp.</i>	6	2,4
<i>Acinetobacter baumannii</i>	5	1,9
<b>Total</b>	255	≈100

**Tableau 14.b)** Fréquence des bactéries isolées selon le sexe (Femme) (n=496).

<b>Bactéries</b>	<b>Nombre des souches</b>	<b>Femme %</b>
<i>Escherichia coli</i>	47	19,5
Staphylococque à coagulase négative	32	13,3
<i>Proteus mirabilis</i>	23	9,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	22	9,1
<i>Proteus vulgaris</i>	20	8,3
<i>Staphylococcus aureus</i>	20	8,3
<i>Klebsiella spp.</i>	18	7,5
<i>Enterococcus spp.</i>	17	7,1
<i>Morganella morganii</i>	16	6,6
<i>Acinetobacter baumannii</i>	10	4,1
<i>Enterobacter spp.</i>	9	3,7
<i>Streptococcus spp.</i>	7	2,9
<b>Total</b>	241	≈100

## 2. Résistance aux antibiotiques

### 2.1. Taux de résistance de *Proteus mirabilis*

C'est une bactérie qui n'a pas de résistance naturelle, sauf pour la Colistine. Mais elle est devenue résistante à beaucoup d'antibiotiques : 82,7% à l'Amoxicilline, 71,6% à la Céfazoline, 47% au Céfotaxime, 44% à la Gentamicine et 34% à la Ciprofloxacine. La bactérie reste sensible aux carbapénèmes (Imipénème-Ertapenem) (Tableau 15).

**Tableau 15.** Taux de résistance de *Proteus mirabilis* (n=81).

Antibiotiques	Nombre de souches testées	Nombre de résistance	% de résistance
Amoxicilline	81	67	82,7
Piperacilline	50	38	76
Ticarcilline	81	56	69,1
Amoxicilline/Acide clavulanique	44	32	72,7
Céfazoline	81	58	71,6
Céfotaxime	81	38	46,9
Amikacine	65	17	26,1
Gentamicine	79	35	44,3
Ciprofloxacine	59	20	33,9
Triméthoprim/Sulfaméthoxazole	30	21	70
Fosfomycine	29	4	13,7
Chloramphénicol	51	35	68,6

## 2.2. Taux de résistance d'*Escherichia coli*

Les taux de résistance notés sont très élevés : 74% pour l'Amoxicilline, 41% pour l'association Amoxicilline/Acide clavulanique, 45,7% pour la Céfazoline, 33% pour le Céfotaxime, 12% pour la Gentamicine, et 31% pour la Ciprofloxacine. La Colistine, l'Ertapenem et l'Imipénème restent actives (**Tableau 16**).

**Tableau 16.** Taux de résistance d'*Escherichia coli* (n=58).

Antibiotiques	Nombre de souches testées	Nombre de résistance	% des résistances
Amoxicilline	58	43	74,1
Piperacilline	52	39	75
Ticarcilline	54	38	70,3
Amoxicilline/Acide clavulanique	39	16	41
Céfazoline	57	26	45,7
Céfotaxime	58	19	32,8
Amikacine	35	3	8,9
Gentamicine	58	7	12
Ciprofloxacine	39	12	30,8
Triméthoprime/Sulfamethoxazole	32	15	46,9
Fosfomycine	47	2	4,3
Chloramphénicol	27	4	14,8

### 2.3. Taux de résistance de *Staphylococcus aureus*

Toutes les souches isolées sont résistantes à la Pénicilline G et près de la moitié (47%) sont des SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la Méricilline). Cette résistance est accompagnée par celle des aminosides (24,5% pour la Gentamicine) et de la Ciprofloxacine (54,5%) (Tableau 17).

**Tableau 17.** Taux de résistance de *Staphylococcus aureus* (n=53).

Antibiotiques	Nombre de souches testées	Nombre de résistance	% de résistance
Penicilline G	49	49	100
Oxacilline	49	23	46,9
Gentamicine	49	12	24,5
Tobramycine	31	7	22,5
Ciprofloxacine	22	12	54,5
Triméthoprim/Sulfaméthoxazol	22	4	18,2
Fosfomycine	29	1	3,4
Lincomycine	49	8	16,3
Spiramycine	51	8	15,7
Erythromycine	53	36	67,9
Acide fusidique	14	5	35,7

#### 2.4. Taux de résistance de *Pseudomonas aeruginosa*

Les résistances notées pour cette bactérie sont assez basses. Elle est considérée comme la bactérie de l'hospitalisation infectieuse par excellence, qui était caractérisée dans le passé par sa multi-résistance aux antibiotiques. Mais depuis quelques années, elle retourne sensible et c'est notre cas, puisque les taux que nous notons sont assez bas (**Tableau 18**).

**Tableau 18.** Taux de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* (n=51).

Antibiotiques	Nombre de souches testées	Nombre de résistance	% de résistance
Piperacilline	37	13	35,1
Ticarcilline	49	13	26,5
Tazobactam	22	2	40,9
Ceftazidime	44	6	13,6
Cefépime	28	3	10,7
Aztréonam	44	9	20,4
Imipénème	44	2	4,5
Amikacine	40	5	12,5
Gentamicine	50	10	20
Ciprofloxacine	35	2	5,7
Fosfomycine	20	4	20

## 2.5. Taux de résistance de *Morganella morganii*

*Morganella morganii* est naturellement résistante à la Colistine, aux aminopénicillines, aux céphalosporines de 1<sup>ère</sup> génération et à l'association Amoxicilline/Acide clavulanique.

Les résistances acquises sont nombreuses : les céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération (51% pour le Céfotaxime), 34% pour la Gentamicine et 48,4% pour la Ciprofloxacine. La bactérie reste sensible aux carbapénèmes (**Tableau 19**).

**Tableau 19.** Taux de résistance de *Morganella morganii* (n=49).

Antibiotiques	Nombre de souches testées	Nombre de résistance	% de résistance
Piperacilline	34	20	58,8
Ticarcilline	47	24	51
Céfotaxime	47	24	51
Amikacine	40	5	12,5
Gentamicine	47	16	34
Ciprofloxacine	33	16	48,4
Triméthoprime/Sulfamethoxazole	20	12	60
Fosfomycine	20	8	40
Chloramphénicol	30	17	56,6

## 2.6. Taux de résistance de staphylocoque à coagulase négative

Nous notons que 95% des souches isolées sont résistantes à la Pénicilline G et 89% sont résistantes à l'Oxacilline (Méticilline). Cette résistance est accompagnée par celle des aminosides (46,5% pour la Gentamicine), de la Ciprofloxacine (61,9%) et celle des macrolides (80% pour l'Erythromycine) (**Tableau 20**).

**Tableau 20.** Taux de résistance de Staphylocoque à coagulase négative (n= 46).

Antibiotiques	Nombre de souches testées	Nombre de résistance	% des résistances
Penicilline G	41	39	95,1
Oxacilline	45	40	89
Gentamicine	43	20	46,5
Tobramycine	36	16	44,4
Rifampine	27	6	22,2
Ciprofloxacine	21	13	61,9
Triméthoprim/Sulfaméthoxazole	15	9	60
Fosfomycine	20	4	20
Lincomycine	41	15	36,6
Spiramycine	46	16	34,8
Erythromycine	46	37	80,4

## 2.7. Taux de résistance de *Proteus vulgaris*

*Proteus vulgaris* est naturellement résistant aux aminopénicillines : association Amoxicilline+Acide Clavulanique et aux céphalosporines de 1<sup>ère</sup> génération en plus de la Colistine. Des taux de résistance élevés ont été enregistrés vis-à-vis d'autres antibiotiques : à la Ticarcilline (70,8%), au Céfotaxime (33,3%), à la Gentamicine (21%) et à la Ciprofloxacine (26%). La bactérie est restée sensible aux carbapénèmes (**Tableau 21**).

**Tableau 21.** Taux de résistance de *Proteus vulgaris* (n=43).

Antibiotiques	Nombre de souches testées	Nombre de résistance	% de résistance
Piperacilline	29	13	44,8
Ticarciline	42	17	70,8
Céfotaxime	42	14	33,3
Amikacine	41	8	19,5
Gentamicine	42	9	21,4
Ciprofloxacine	27	7	25,9
Thriméthoprim/Sulfaméthoxazole	17	14	82,3
Fosfomycine	17	3	17,6
Colistine	43	43	100
Chloramphénicol	32	15	46,8

### 2.8. Taux de résistance de *Klebsiella spp.*

Les klebsielles sont naturellement résistantes aux aminopénicillines et aux carboxypénicillines. De plus, les taux de résistances acquises sont nombreux et élevés : 81% pour la Céfazoline, 58% pour le Céfotaxime, 32% pour la Gentamicine et 33% pour la Ciprofloxacine.

Il faut signaler que 3 souches (11%) sont résistantes à l'Ertapenem, et une autre (3%) à l'Imipénème. Cette résistance est grave et constitue une preuve du mésusage des antibiotiques, surtout en milieu hospitalier.

Les souches restent sensibles vis-à-vis de la Colistine et de l'Amikacine (**Tableau 22**).

**Tableau 22.** Taux de résistance de *Klebsiella spp.* (n=39).

Antibiotiques	Nombre	Nombre de résistance	% des résistances
Amoxicilline/Acide clavulanique	29	21	72,4
Céfazoline	32	26	81,2
Céfotaxime	38	22	57,8
Céfoxitine	39	4	10,2
Ertapenem	27	3	11,1
Imipénème	33	1	3
Gentamicine	38	12	31,6
Ciprofloxacine	27	9	33,3
Triméthoprim/Sulfaméthoxazole	21	15	71,4
Fosfomycine	22	1	4,5
Chloramphenicol	21	2	9,5

## 2.9. Taux de résistance d'*Enterococcus spp.*

Les entérocoques sont naturellement résistants aux céphalosporines et aux aminosides. Les taux de résistance sont variables selon les antibiotiques.

Ainsi, nous notons un taux de 81% pour la Pénicilline G, alors qu'il est de 36% pour la Rifampicine et de 38,5% pour l'association Triméthoprim/Sulfaméthoxazole.

Il faut noter qu'une souche est résistante à la Vancomycine, c'est une résistance grave car dans certaines situations en milieu hospitalier, cet antibiotique reste la seule alternative du traitement (**Tableau 23**).

**Tableau 23.** Taux de résistance d'*Enterococcus spp.* (n=29).

Antibiotiques	Nombre de souches testées	Nombre de résistance	% des résistances
Penicilline G	21	17	81
Amoxicilline	26	8	40,8
Rifampicine	11	4	36,3
Triméthoprim/Sulfaméthoxazole	13	5	38,5
Ciprofloxacine	6	4	66,7
Spiramycine	24	22	91,7
Erythromycine	29	24	82,8
Vancomycine	28	1	3,6
Pristinamycine	18	10	55,6
Minocycline	15	8	53,3

### 2.10. Taux de résistance d'*Enterobacter spp.*

Le genre *Enterobacter* est naturellement résistant aux aminopénicillines, à l'association Amoxicilline/Acide clavulanique, aux céphalosporines de 1ère génération, en plus de la Céfoxitine pour *E.cloacae* et *E.aerogenes*.

Les résistances acquises sont nombreuses : les céphalosporines de 3ème génération (84,2% pour Céfotaxime), 26,3% pour la Gentamicine, 25% pour la Ciprofloxacine.

Le taux de 94,7% noté pour la Céfoxitine montre qu'il s'agit essentiellement d'*E.cloacae* et/ou *E.aerogenes*. La bactérie reste sensible à l'Imipénème et à la Colistine (**Tableau 24**).

**Tableau 24.** Taux de résistance d'*Enterobacter spp.* (n=19).

Antibiotiques	Nombre	Nombre de résistance	% de résistance
Piperacilline	13	6	46,2
Céfotaxime	19	16	84,2
Amikacine	14	1	7,1
Gentamicine	19	5	26,3
Ciprofloxacine	12	3	25
Thrimétoprime/Sulfaméthoxazole	12	4	33,3
Chloramphénicol	11	2	18,2
Céfoxitine	19	18	94,7

### 2.11. Taux de résistance d'*Acinetobacter baumannii*

Toutes les souches d'*Acinetobacter baumannii* isolées dans notre étude sont résistantes à de nombreuses familles d'antibiotiques. Nous constatons que les taux de résistance sont très élevés et dépassent les 80%. Seule la Colistine reste active. Cette résistance touche même les antibiotiques majeurs contre cette bactérie comme la Piperacilline, la Ticarcilline, la Ceftazidime et l'Imipénème (**Tableau 25**).

**Tableau 25.** Taux de résistance d'*Acinetobacter baumannii* (n=15).

Antibiotiques	Nombre	Nombre de résistance	% de résistance
Piperacilline	14	14	100
Ticarcilline	15	15	100
Piperacilline/Tazobactam	10	10	100
Ceftazidime	14	14	100
Cefépime	11	11	100
Imipénème	13	12	92
Amikacine	11	9	81
Gentamicine	14	13	92
Ciprofloxacine	13	12	92

# **DISCUSSION**

### ✓ **Analyses épidémiologiques**

L'infection du pied diabétique est une complication fréquente et redoutable. Elle constitue un facteur de risque majeur d'amputation et reste parmi les principales causes d'hospitalisation des diabétiques [95].

Une étude a démontré que le risque d'hospitalisation et d'amputation du membre inférieur était respectivement 56 et 155 fois plus important pour les patients diabétiques présentant une infection du pied que pour ceux qui en étaient exempts [96]. Elle est aussi une cause non négligeable d'antibiothérapie non justifiée et participe à ce titre à l'aggravation de la résistance bactérienne et à son extension [97].

Notre travail a pour objectif de déterminer le profil bactériologique ainsi que le profil de résistance aux antibiotiques des bactéries en cause chez la population cible de notre étude et qui est les patients diabétiques souffrant d'une lésion au niveau du pied et sont admis dans le service de médecine interne et d'endocrinologie.

Ainsi, sur un total de 710 prélèvements de pus et d'hémoculture, nous avons enregistré 496 prélèvements positifs, soit 69,9%. Le taux de cultures négatives est de 24%. Alors que le taux de cultures contaminées est de 6,1%. Ceci signifie qu'il y a un grand taux des infections du pied diabétique chez les patients diabétiques, et cela a été démontré par d'autres études.

Les résultats que nous avons retrouvés sont inférieurs à ceux rapportés par une étude faite en 2011 au département d'Endocrinologie et de Métabolisme à l'Université des Sciences Médicales, en Inde, qui indiquent que parmi 62 prélèvements des pieds diabétiques, 79% avaient des cultures positives et 21% avaient des cultures négatives [98]. Ceci peut être justifié par le fait que les patients de notre étude ont préalablement reçu des antibiothérapies.

Nos résultats sont proches de ceux rapportés par une étude faite en 2012 aux services de médecine interne et de chirurgie générale et digestive du Centre Hôpitalo-Universitaire Yalgado Ouédraogo, Burkina Faso, qui indiquent que sur les 71 échantillons, 62 (87,3 %) étaient des cultures positives [99].

Les résultats retrouvés dans notre étude sont supérieurs à ceux rapportés lors d'une étude multicentrique rétrospective en Turquie, qui, sur un total de 455 prélèvements du pied diabétique, nous constatons que 208 (45,71%) étaient des cultures positives [100].

Nous avons noté que le sexe masculin prédominait légèrement (sex-ratio=1,05). Ce résultat peut avoir plusieurs explications : les femmes sont moins négligentes que les hommes, ceux-ci sont plus exposés à cause de leurs métiers, les hommes gardent plus longtemps leurs chaussures...

Notre résultat est proche de celui rapporté par **Awalou et al., 2012**, lors d'une étude faite en 2011 à la clinique médico-chirurgicale du CHU Sylvanus Olympio au Togo qui indiquent que le sexe masculin prédominait également avec un sex-ratio de 1,38 [5], mais il est différent de celui rapporté par **Boudina et al., 2017**, qui notent une prédominance féminine (sex-ratio=0,75) [101].

Selon la nature des prélèvements, nous notons que le prélèvement de pus est le plus fréquent (75,6%) dans notre étude, suivi de l'hémoculture (24,4%).

Le taux des prélèvements positifs diffère d'une étude à une autre. Ainsi, une étude faite en 2007 à l'Hôpital Gabriel Montpied, CHU, Clermont-Ferrand en France a montré que les germes considérés comme pathogènes ont été trouvés dans les prélèvements suivants : écouvillons seuls dans 54% des cas, prélèvements à l'aiguille dans 23% des cas, prélèvements osseux dans 17% des cas et hémocultures dans 6% des cas [102].

L'étude réalisée par **Belouidhine et al., 2014**, au service d'Endocrinologie à l'Hôpital militaire en Tunisie, a signalé que les infections diagnostiquées étaient urinaires dans 63,3 % des cas, infections des plaies dans 20% des cas, stomatologiques dans 6,6 % des cas, pulmonaires dans 6,6 % des cas et hépatiques dans 3,3 % des cas [103].

### ✓ Analyses bactériologiques

La littérature médicale rapporte que jusqu'à la dernière décennie, la plupart des études traitant de la microbiologie des infections du pied diabétique ont été menées en Amérique du Nord et en Europe [7].

Les bactéries aérobies à Gram positif sont les plus fréquentes ; dans ce groupe, *Staphylococcus aureus* est la bactérie le plus souvent mise en évidence, de façon isolée ou au sein d'une population poly-microbienne [104].

En revanche, des études récemment réalisées dans des régions du globe à climat chaud (principalement en Inde, au Moyen-Orient et en Afrique) montrent que *S. aureus* est moins

prévalent ; les infections à entérobactéries et à *Pseudomonas aeruginosa* sont rapportées comme étant les plus fréquentes [7].

Parmi les hypothèses de cette variation géographique, citons les différences épidémiologiques, les pratiques personnelles d'hygiène ou du chaussage, la disponibilité et l'utilisation des antibiotiques sans ordonnance ou encore d'autres facteurs soupçonnés et non prouvés tels qu'un climat aride ou le lavage itératif des pieds [7].

Dans notre étude, les entérobactéries sont majoritaires (58,1%), suivies par les cocci à Gram positif (28,5%). Le taux d'isolement des bacilles à Gram négatif non fermentants est de 13,4%.

Nos résultats sont proches de ceux d'une étude faite en 2017 au CHU de Annaba, qui note que les entérobactéries dominaient avec 66% suivies par les cocci à Gram positifs avec 33% [101].

Nos résultats sont inférieurs à ceux de l'étude Indienne [98], qui rapporte que parmi 82 isolats bactériens, 68,3% étaient des Gram négatifs et 31,7% étaient des Gram positifs.

Les infections modérées à sévères et les infections de plaies traumatiques sont souvent poly-microbiennes, avec des coques à Gram positif (*S.aureus*), des bacilles à Gram négatif (*Klebsiella spp. Escherichia coli, Proteus mirabilis...*) et des bacilles à Gram négatif non fermentants (*Pseudomonas aeruginosa*) [7].

Les souches de *Proteus mirabilis* font partie du microbiote intestinal de l'homme et de l'animal. Elles sont retrouvées aussi à l'état saprophyte sur la peau et les muqueuses .En raison de leurs habitats variés, elles ont plusieurs voies possibles d'infections humaines [105].

C'est ainsi que parmi 496 isolats bactériens de notre étude, *Proteus mirabilis* domine avec 16,3%, suivi par *Escherichia coli* avec 11,6% des germes isolés. Ils sont suivis par *Staphylococcus aureus* (10,7%) et *Pseudomonas aeruginosa* (10,3%).

Nos résultats sont proches de ceux rapportés par **Krir et al.**, en 2013, qui notent que les bactéries à Gram négatif dominant (78,1%) avec *Proteus mirabilis* en tête (30,7%), suivi par *Staphylococcus aureus*(21,9%), *Pseudomonas aeruginosa* (15%) et *Klebsiella spp.* (8,8%) [106].

Nos résultats sont différents de ceux trouvés en 2007 dans tous les départements des maladies infectieuses des hôpitaux de la Turquie où on note que *Staphylococcus aureus* était

la bactérie la plus isolée (63%), suivie par *Escherichia coli* (15%), *Pseudomonas aeruginosa* (12,4%) et *Proteus spp.* (9,6%) [100].

### ✓ Profil de résistance des bactéries

*Proteus mirabilis* est une bactérie qui ne possède pas de gènes de résistance. Elle est donc sensible à tous les antibiotiques actifs sur les bacilles à Gram négatif en dehors de sa résistance naturelle à la Colistine.

Nous avons enregistré des taux de résistance acquises élevés de *P.mirabilis* vis-à-vis de plusieurs familles d'antibiotiques : des bêta-lactamines (Amoxicilline 83%), des céphalosporines (Céfazoline 69% et Céfotaxime 47%), des aminosides (Gentamicine 45%) et des fluoroquinolones (Ciprofloxacine 33%). La bactérie reste sensible aux carbapénèmes (Imipénème et Ertapenem).

Nos résultats sont supérieurs à ceux d'une étude réalisée par **Djombera, 2016** à la Faculté de Pharmacie à Bamako, qui objective que cette bactéries est résistante à l'Amoxicilline, à la Ticarcilline et à la Céfazoline avec des taux de résistance de 67,27%, 76,36%, 66,07% respectivement [107].

Les souches d'*Escherichia coli* occupent la deuxième place des espèces isolées dans notre étude. Nous notons des résistances importantes à l'ensemble des antibiotiques testés. La résistance aux aminopénicillines (Amoxicilline) est la plus importante (74%). Nous avons également observé 75% de résistance à la Ticarcilline, 41% à l'association Amoxicilline/Acide clavulanique, 12% à la Gentamicine, 46% à la Céfazoline, 33% au Céfotaxime et 31% à la Ciprofloxacine. La Colistine et l'Imipénème restent actives.

Nos résultats sont proches de ceux d'une étude faite en 2012 à l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V où les auteurs rapportent que les souches d'*Escherichia coli* sont constamment sensibles à l'Ertapenem et à l'Amikacine, mais elles semblent être inconstamment sensibles à la Gentamicine (21% de résistance), tandis que la résistance vis-à-vis de l'association Amoxicilline/Acide clavulanique est de 52% de l'ensemble des souches *E.coli* isolées [108].

Les résultats que nous avons enregistrés sont inférieurs à ceux rapportés lors d'une étude faite en 2016 au service de médecine interne du CHU de Constantine, qui indiquent que les taux de résistance sont élevés vis-à-vis de l'Amoxicilline (84%), à l'association

Amoxicilline/Acide clavulanique (73%), au Céfotaxime (32%), à la Gentamicine (19%), à la Ciprofloxacine 76% et à la Céfazoline (73%) [109].

Nos résultats sont également inférieurs à ceux de l'étude faite en 2018 par **Mezhoud et Khalfallah**, à l'Hôpital Militaire Universitaire Régional de Constantine, qui ont également enregistré des taux de résistance élevés des souches d'*Escherichia coli* à l'Ampicilline (84,61%), à la Ticarcilline (84,61%) et à l'association Amoxicilline/Acide clavulanique (53,84%) [110].

Les staphylocoques dorés Méricilline résistants (SARM) constituent actuellement un problème mondial de première importance. Leur isolement n'est pas obligatoirement synonyme de virulence accrue [111].

Toutes les souches de *Staphylococcus aureus* isolées dans notre étude sont résistantes à la Pénicilline G. Cette résistance est due à la production d'une pénicillinase.

Près de la moitié (47%) sont des SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la Méricilline). Cette résistance est accompagnée par celles des aminosides (25% pour la Gentamicine), des fluoroquinolones (55% pour la Ciprofloxacine) et des macrolides (67% pour l'Erythromycine). Par contre, la Vancomycine, la Rifamycine et la Pristinamycine restent actives.

Nos résultats sont proches de ceux d'une étude faite en 2012 à la Faculté de médecine à l'Université du Koweït qui rapportent que sur les 144 isolats de *S.aureus* de pus du pied diabétique, 41,6% et 1,4% étaient respectivement résistants à la Méthicilline et à la Rifampicine. La totalité des isolats de *S.aureus* de cette étude était sensible à la Vancomycine [111].

Nos résultats sont aussi comparables à ceux retrouvés dans l'étude faite en 2016 au service de médecine interne du CHU de Constantine, qui notent que *Staphylococcus aureus* est résistant à plusieurs familles d'antibiotiques: bêta-lactamines (Oxacilline à 92%), aminosides (Gentamicine à 85%) et aux fluoroquinolones (Ciprofloxacine à 62%) [109].

Les résultats notés dans notre étude sont supérieurs à ceux d'une étude réalisée en 2007 à l'Hôpital Général Universitaire José en Espagne qui soulignent que *S. aureus* était résistant à la Pénicilline dans 100% des cas, à la Méricilline (SARM) dans 38% des cas et à la Ciprofloxacine dans 46% des cas [112].

*Pseudomonas aeruginosa* est considéré comme la bactérie de l'hospitalisation infectieuse par excellence, qui était caractérisée dans le passé par sa multi-résistance aux antibiotiques.

Mais depuis quelques années, elle retrouve la sensibilité, et c'est notre cas. C'est une constatation retrouvée dans toute la littérature mondiale.

Les résistances notées pour *P.aeruginosa* dans notre série sont assez faibles vis-à-vis de la majorité des antibiotiques comme la Ticarcilline (34%), l'Imipénème (5%), la Gentamicine (20%), la Ceftazidime (14%) et la Ciprofloxacine (5%). Alors qu'il y a quelques années, ces taux dépassaient les 70%.

Les résultats notés sont proches de ceux de l'étude faite en 2016 à l'hôpital de Constantine qui rapporte que les souches de cette bactérie sont résistantes à de faibles taux : 21% à la Ticarcilline et à la Piperacilline, 21% à l'Imipénème, 16% à la Gentamicine, 13% à la Ceftazidime et 15% à la Ciprofloxacine [109].

Nos résultats sont inférieurs à ceux de l'étude Togolaise faite qui indiquent que les taux de résistance sont : 50% à la Gentamicine et à la Ceftazidime, 51% à la Ciprofloxacine [98].

Les souches de *Morganella morganii* sont naturellement résistantes à la Colistine, aux aminopénicillines, aux céphalosporines de 1<sup>ère</sup> génération et à l'association Amoxicilline/Acide clavulanique.

Les résistances acquises sont nombreuses vis-à-vis des bêta-lactamines (51% pour la Ticarcilline), des aminosides (48% pour la Gentamicine), des céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération (51% pour le Céfotaxime) et des fluoroquinolones (48% pour la Ciprofloxacine). Par contre, la bactérie est restée sensible aux carbapénèmes (Ertapenem et Imipénème).

Les résultats notés sont aussi supérieurs à ceux de l'étude faite au CHU de Constantine qui montrent qu'il y a beaucoup de résistances acquises comme : à la Ticarcilline (32%), au Céfotaxime (23%), à la Gentamicine (23%), et la Ciprofloxacine (23%) [109].

*Proteus vulgaris* a les mêmes résistances naturelles que *Morganella morganii*. Des taux de résistance élevés ont été enregistrés vis-à-vis d'autres antibiotiques : à la Ticarcilline (64%), à la Ceftazidime (37%), à la Gentamicine (21%) et à la Ciprofloxacine (25%). La bactérie reste sensible aux carbapénèmes.

Nos résultats sont supérieurs à ceux de l'étude réalisée au CHU de Constantine, qui montrent que les souches de *P. vulgaris* sont résistantes à la Ticarcilline (25%), au Céfotaxime (32%), à la Gentamicine (21%) et à la Ciprofloxacine (26%) [109].

Les klebsielles sont naturellement résistantes aux aminopénicillines et aux carboxypénicillines. De plus, les taux de résistances acquises sont nombreux et élevés : 81% à la Céfazoline, 58% au Céfotaxime, 32% à la Gentamicine et 33% à la Ciprofloxacine. Les souches restent sensibles vis-à-vis de la Colistine et de l'Amikacine.

Les résultats notés sont proches de ceux de l'étude réalisée à la clinique médico-chirurgicale Togolaise qui montrent que les souches de *Klebsiella spp.* sont résistantes, principalement à la Ciprofloxacine (68%). La bactérie est restée sensible à la Colistine et à l'Imipénème [5].

Nos résultats sont également proches de ceux de l'étude réalisée au CHU de Constantine qui rapportent que les souches de cette bactérie sont résistantes à la Céfazoline (56%), au Céfotaxime (40%), à la Gentamicine (30%) et à la Ciprofloxacine (32%) [109].

Les entérocoques sont considérés comme des germes commensaux, mais parfois chez les immunodéprimés comme les diabétiques, ce sont des pathogènes opportunistes. Cette bactérie est de plus en plus incriminée dans les infections, surtout hospitalières [113].

Les deux espèces les plus fréquemment rencontrées en pathologie humaine sont : *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium*. Les infections les plus souvent causées par ce germe sont les infections urinaires. Sa présence dans les infections du pied diabétique a également commencé à être remarquable du fait de leur capacité remarquable de s'adapter à leur environnement ainsi que leur résistance acquise à plusieurs classes d'antibiotiques [7].

Les entérocoques sont naturellement résistants aux céphalosporines et aux aminosides. En dehors des macrolides (Spiramycine 92%) et les lincosamides, les taux de résistance restant bas pour le reste des antibiotiques.

Nos résultats sont similaires à ceux rapportés par l'étude de **Hannat et al., 2010** au service de médecine interne du CHU de Sétif, qui indiquent que les souches isolées d'*Enterococcus spp.* étaient multi-résistantes vis-à-vis de la majorité des antibiotiques comme : les bêta-lactamines (61% à la Ticarcilline), les aminosides (54% à la Gentamicine) et les macrolides (77% à la Pristinamycine). Une sensibilité totale des souches de cette étude a été notée à la Vancomycine [114].

Nos résultats sont aussi comparables à ceux retrouvés par **Mamtora et al.**, en 2017, qui rapportent que les souches d'*Enterococcus spp.* étaient résistantes aux macrolides (Erythromycine 87%) et aux fluoroquinolones (Ciprofloxacin 72%) [115].

Le genre *Enterobacter* est naturellement résistant à l'Amoxicilline, à l'association Amoxicilline/acide clavulanique et aux céphalosporines de 1<sup>ère</sup> génération, en plus de la Céfoxitine pour *E.cloacae* et *E.aerogenes*.

Les résistances acquises des souches isolées de notre étude sont nombreuses : 84% pour les céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération (Céfotaxime), 26% pour la Gentamicine et 25% pour la Ciprofloxacin.

Le taux de 95% pour la Céfoxitine montre qu'il s'agit essentiellement d'*E.cloacae* et *E.aerogenes*. La bactérie reste sensible à l'Imipénème et à la Colistine.

Nos résultats sont proches de ceux retrouvés dans les travaux d'**Aich, 2017** au MAROC, qui note que les souches d'*Enterobacter spp.* sont résistantes à la Gentamicine (27%), à la Ciprofloxacin et à l'association Triméthoprime/Sulfaméthoxazole (40%). La totalité des souches isolées était sensible à l'Amikacine, l'Imipénème et à la Colistine [97].

Nos résultats sont proches de ceux de l'étude réalisée au CHU de Constantine qui rapporte que les souches d'*Enterobacter spp.* sont résistantes à la Céfotaxime (83%), à la Gentamicine (39%) et à la Ciprofloxacin (31%) [109].

Toutes les souches d'*Acinetobacter baumannii* isolées dans notre étude sont résistantes à de nombreuses familles d'antibiotiques. Nous constatons que les taux de résistance sont très élevés et dépassent les 80%. Seule la Colistine reste active. Ainsi, nous notons une résistance totale à la Piperacilline, la Ticarcilline, la Ceftazidime et 92% de résistance à l'Imipénème.

Les résultats rapportés par **Jones et al., 2004** sont proches des nôtres. En effet, de nombreuses résistances totales ont été enregistrées y compris à la Piperacilline, à la Ticarcilline et à la Ceftazidime. Seule la Colistine reste active [116].

Nos résultats sont similaires à ceux des travaux de l'**Aich, 2017** qui rapportent que les souches d'*Acinetobacter baumannii* isolées sont multirésistantes. En effet, toutes les souches étaient totalement résistantes aux uréido pénicillines et aux carboxypénicillines, à l'Amikacine, à l'Imipénème, à la Gentamicine, à la Ceftazidime et à la Ciprofloxacin. Toutes les souches isolées étaient sensibles à la Colistine [97].

Les résultats que nous avons enregistrés sont également similaires à ceux rapportés par l'étude réalisée au CHU de Constantine, qui indiquent que les taux de résistance d'*Acinetobacter baumannii* aux antibiotiques dépassent les 80% : 94% à la Ticarcilline, plus de 83% à l'Imipenème, 94% à la Céfazoline, 89% à la Ciprofloxacine et à la Piperacilline [109].

# **CONCLUSION**

L'infection du pied diabétique est une complication fréquente du diabète, silencieuse mais grave par sa mortalité et sa morbidité. Sa prise en charge diagnostique et thérapeutique se fait souvent en retard d'où le nombre important d'amputation chez les patients diabétiques, même dans les pays de haut niveau socioéconomique.

L'antibiothérapie est l'un des éléments clés pour venir au bout des infections du pied diabétique, mais elle est génératrice de l'apparition des résistances bactériennes aux antibiotiques. Il est donc primordial de connaître les agents responsables de ces infections afin de déterminer la nature et la durée de l'antibiotique choisi, à l'aide des prélèvements bactériologiques de qualité.

Ce travail a pour objectif de connaître les bactéries isolées des prélèvements de pus et d'hémocultures des patients diabétiques ainsi que l'étude de leur profil de résistance afin de donner une base objective à l'antibiothérapie des infections du pied diabétique.

Il s'agit d'une étude rétrospective d'un an (2019) et une étude prospective qui s'étalent sur une période d'un mois du (09/02/2020) au (08/03/2020) incluant les prélèvements des patients admis au service de médecine interne et d'endocrinologie du CHU de Constantine.

L'identification bactérienne a été faite par les méthodes conventionnelles. L'étude de la résistance aux antibiotiques a été effectuée par la méthode de diffusion en milieu gélosé.

Le taux de positivité globale est de 69,9%, soit 496 prélèvements. Nous avons constaté une légère prédominance masculine (sex-ratio = 1,05). Il s'agit essentiellement des prélèvements de pus (75,6%) suivis par les hémocultures (24,4%).

Les entérobactéries sont les bactéries les plus isolées (58,1%). Elles sont suivies de cocci à Gram positif (28,5%) et des bacilles à Gram négatif non fermentants (13,3%). Les principaux germes isolés sont *Proteus mirabilis* (16,3%), *Escherichia coli* (11,7%), *S.aureus* (10,7%) et *Morganella morganii* (9,8%).

Nous avons noté des taux de résistance élevés aux principales familles d'antibiotiques testés.

Ainsi, pour *Proteus mirabilis* nous avons noté des résistances acquises: 83% à l'Amoxicilline, 44% à la Gentamicine, 34% au Céfotaxime, 72% à la Céfazoline, 47% à la Ciprofloxacine.

## Conclusion

---

Des taux de résistance élevés sont, aussi, retrouvés chez *Escherichia coli*: 74% à l'Amoxicilline, 41% à l'association Amoxicilline/Acide clavulanique, 33% à la Céfazoline, 33% au Céfotaxime, 12% à la Gentamicine et 31% à la Ciprofloxacine.

Pour *Staphylococcus aureus*, de nombreuses résistances sont également retrouvées. Près de la moitié (47%) sont des SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la Méricilline). Cette résistance est accompagnée par celles des aminosides (25% pour la Gentamicine), des fluoroquinolones (55% pour la Ciprofloxacine) et des macrolides (67% pour l'Erythromycine).

Concernant les entérocoques, en dehors de leur résistance naturelle aux aminosides et aux céphalosporines, les taux de résistance restant bas pour le reste des antibiotiques.

*Acinetobacter baumannii* est la bactérie la plus résistante aux antibiotiques. En effet, des taux de plus de 80 % de résistance sont notés pour tous les antibiotiques testés en dehors de la Colistine qui reste active.

Dans ces circonstances, la collaboration cliniciens-biologistes devient primordiale. Mais, il faut également promouvoir des programmes d'éducation sanitaires concentrés et évaluables, développer des unités de soins spécialisés dans le dépistage et le traitement des pieds diabétiques.

# **BIBLIOGRAPHIE**

## Bibliographie

---

- [1] **Jaacks LM, Siegel KR, Gujral UP, Narayan KM.**(2016). Diabetes: A 21st century epidemic. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2016; 30(3):331-43.
- [2] **Malek R.** (2007). Epidémiologie du diabète dans le monde et en Algérie. [En ligne].
- [3] **La science pour la santé (2019).** Diabète de type 1. [En ligne].
- [4] **Nicodème JD, Paulin EN, Zingg M, Uçkay I, Malacarne S, Suva D.** (2015). Pied diabétique infecté : du diagnostic à la prise en charge. *Revue Médicale Suisse* 2015; volume 11. 1238-1241.
- [5] **Awalou MD, Mossi EK, Djagadou AK, Balaka A, Tchamdja T, Moukaila R.** (2018). *The Pan African Medical Journal.*2018; 30: 4.
- [6] **Guira O, Tiéno H, Traoré S, Diallo I, Ouangré E, Sgna Y, Zabsonné I.** (2014). Ecologie bactérienne et facteurs déterminant le profil bactériologique du pied diabétique infecté à Ouagadougou, Burkina Faso. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique.* P.307-311. Vol: 108 N°5.
- [7] **Zanella MC, Kressmanin B, Wuarin L, Coulin B, Maître S, Suva D, Benjamin A, Uckay I.** (2016). Microbiologie et traitement antibiotique du pied diabétique infecté. *Revue Médicale Suisse* 2016 ; 12 : 732-7.
- [8] **Schaper NC, Dryden M, Kujath P.** (2013). Efficacy and safety of IV / PO moxifloxacin and IV piperacillin / tazobactam followed by PO amoxicillin / clavulanic acid in the treatment of diabetic foot infections : Results of the RELIEF study. *Infection* 2013;41:175-86.
- [9] **Organisation Mondiale de la Santé.** (2019). Diabète. [En ligne].
- [10] **Organisation Mondiale de la Santé.** (2019). Diabète type 1 et 2. [En ligne].
- [11] **Pirson N, Maiter D, Alexopoulou O.** (2016).Prise en charge du diabète gestationnel en 2016 : une revue de la littérature. *Louvain Med* 2016; 135 : 661-668.
- [12] **Firdous P, Nissar K, Ali S, Ganai B, Shabir U, Hassan T, Masoodi S.** (2018).Genetic Testing of Maturity-Onset Diabetes of the Young Current Status and Future Perspectives 2018. *Frontiers in Endocrinology*, 9, 253.
- [13] **A gharbi B.** (2008).Les diabètes secondaires (étude d'une observation et revue de littérature). Thèse de doctorat, 2653.

## Bibliographie

---

- [14] **Meglio D, Evans-Molina L, Oram.** (2018).Type 1 diabetes. The Lancet 2018, 391(10138), 2449–2462.
- [15] **Philippe J, Kalbermatten D.** (2016).Prévention et guérison du diabète : est-ce possible ? Revue Médicale Suisse; 2016 ; volume 1078-83 ; 1078.
- [16] **Tenenbaum M, Bonnefond A, Froguel P, Abderrahmani A.** (2018).Physiopathologie du diabète. Revue Francophone Des Laboratoires, 2018(502), 26–32.
- [17] **Ser N, Claire Le Tallec.** (2008). Diabète sucré de type 1 et 2 de l'enfant et de l'adulte. 20;7.
- [18] **Halimi S, Grimaldi A, GERSON M, ROSTOKER G.** (2017). Traitement médicamenteux du diabète de type 2 (Actualisation). Recommandation de Bonne Pratique. Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé; vol. 13, n° 5, 2017.
- [19] **Henri M** (2011).Obésité et insulino-résistance : étude longitudinale avec un traceur du transport du glucose [125I]-6-déoxy-6-iodo-D-glucose. Sciences agricoles, 2011.
- [20] **Société Française d'Endocrinologie.** (2018). Le site d'Endocrinologie, Diabétologie et des Maladies Métaboliques. Diabète sucré de type 1. [En ligne].
- [21] **Abtroun F.** (2015). Guide de bonnes pratiques en diabétologie à l'usage des Praticiens. 117 pages.
- [22] **International Diabetes Federation.** L'Atlas du diabète de la FID. 9<sup>ème</sup> édition 2019.
- [23] **Demnati C, Khiari K, Hadj Ali I, M'Chirgui N, Lakhoua Y. Ben Abdallah N.** (2010). Fréquence de la microangiopathie chez les diabétiques de type 1 et de type 2.Diabetes Metab 2010, 36, A4-A109.
- [24] **Beer S, Arnold J.** (2015).Prévenir les complications du diabète de type 2 : des recommandations Evidence-Based à la réalité Patient-Based. Revue Médicale Suisse 2015; volume 1. 30421
- [25] **Malgrange, D.** (2018). Physiopathologie du pied diabétique. La Revue de Médecine Interne, 29, S231–S237.
- [26] **Guerin-Dubourg A.** (2015). Etude des modifications structurales et fonctionnelles de l'albumine dans le diabète de type 2 : identification de biomarqueurs de glycoxydation et de

## Bibliographie

---

facteurs de risque de complications vasculaires. Thèse de doctorat en biochimie Présentée pour l'obtention du titre de Docteur de l'université de la Réunion 2015.

[27] **Hôpital Européen Georges-Pompidou.** (2015).Diabète. Complications : l'atteinte des grosses artères ou la macro-angiopathie. [En ligne].

[28] **Radi L, El Aziz S, Chadli A, El Ghoumari H, Farouqi A.** (2010). P267 Complications métaboliques aiguës du diabète. Diabetes & Metabolism, 36, A101–A102.

[29] **Menon E, Ribeiro C.** (2011). Chapitre 102-les comas diabétiques. Urgences 2011. 1141-1156 ; 1148.

[30] **Ouled Zein A, Ould Zein V, Ould Ishagh E, Lemine.** (2011).Coma hyperosmolaire inaugural d'un diabète type 2. Elsevier Masson SAS. Vol. 37, N 1s1. P. 301.

[31] **Médecine Université Sorbonne.** (2017).Chapitre 9 - Coma hypoglycémique : physiopathologie, étiologie, diagnostic, traitement 2017.

[32] **Benhamou PY.** (2015). Diagnostic positif et étiologique du diabète. Corpus Médical – Faculté de Médecine de Grenoble 2015. [En ligne].

[33] **Praz G. Houriet P.** (2012). Infections et diabète : le pied diabétique. Revue Médicale Suisse 2012; volume -2.22440.

[34] **Belouidhnine M, Zouaoui C, Jaidane A, Ouertani H, Borni Z.** (2013). Diabète et complications infectieuses : aspects épidémiologiques et cliniques. Diabetes Metab 2013, 39, A106-A121.

[35] **Zitouni H.** (2017). Hygiène et infections nosocomiales. Cours magistral de Master 1 en Microbiologie et Hygiène Hospitalière.

[36] **Guyane A.** (2004). Processus infectieux. Biologie et physiopathologie humaine. [En ligne].

[37] **Raggabi C, Moussaoui S, Ajdi F, Chraibi A.** (2016). Annales d'Endocrinologie. Vol 67, N° 5 -octobre 2016, pp. 464-465.

[38] **Di Benedetto C, Bruno A, Bernasconi E.** (2013). Infection du site chirurgical : facteurs de risque, prévention, diagnostic et traitement. Revue Médicale Suisse 2013; volume 9. 1832-1839.

## **Bibliographie**

---

[39] **Médecine et Droit.** (2015). Les infections nosocomiales. Dossier élaboré par les services du Ministère de la Santé. Elsevier journal.vol 2015.

[40] **Sultan A.** (2019). Doctissimo santé. Qu'est-ce que le diabète ? Les complications infectieuses du diabète 2019.[En ligne].

[41] **Chanson P. Bougnères P.** (2018). Journées Nationales du DES d'Endocrinologie-Diabète et Maladies Métaboliques Médecine Clinique Endocrinologie & Diabète. SSN : 2018 ; 1639-6685.

[42] **Nicodème J, Paulin E, Zingg M, Uçkay I, Malacarne S, Suva D.** (2015). Pied diabétique infecté : du diagnostic à la prise en charge. Revue Médicale Suisse.2015; volume 11.1238-1241

[43] **Orioli L, Vandeleene B.** (2017). La prise en charge du pied diabétique : de la nécessité d'une équipe pluridisciplinaire. Actualités diagnostiques et thérapeutiques dans la prise en charge du pied diabétique. Louvain Med 2017; 136 (3) : 187-194 - 14<sup>e</sup> Congrès UCL d'Endocrino-Diabétologie.

[44] **Malgrange D.** (2018). Physiopathologie du pied diabétique. La Revue de Médecine Interne, 29, S231–S237.

[45] **Diabète Quebec des rayons d'espoir.** (2019). Qu'est-ce que la neuropathie ? [En ligne]

[46] **Vallat J, Magy I.** (2017). Polyneuropathies périphériques. Service de neurologie, CHU Dupuytren, France. 17-100-A-10.

[47] **Hartemann-Heurtier A, Deybach C.** (2014). Artériopathie oblitérante des membres inférieurs et diabète sucré. Mini Revue. Sang Thrombose Vaisseaux 2014 ; 16, n° 8 : 393-402.

[48] **Société de Chirurgie Vasculaire et Endovasculaire de Langue Française.** (2019). Qu'est-ce que l'artérite diabétique? [En ligne].

[49] **Radi L, Daoudi A, Nassib M, Chadli A.** (2016).Infection urinaire et diabète. Diabetes Metab 2016, 34, A40-A100.

[50] **Bouissou F.** (2010). Les infections urinaires chez l'enfant et l'adulte, leucocyturie. 7pages.

[51] **Sciensano be.** (2019).Infections du sang. [En ligne].

## Bibliographie

---

- [52] **Bush LM. (2018).**Bactériémie. Le manuel MSD, version pour professionnels de la santé 2018. [En ligne].
- [53] **Preiser J, Devos P. (2016).** Contrôle glycémique et états septiques. Réanimation, 17(3), 192–196.
- [54] **Maggio P. (2018).**Sepsis et choc septique. Le manuel MSD, version pour professionnels de la santé 2018. [En ligne].
- [55] **Denis F, Ploy M, Martin C, Bingen E, Quentin R. (2011).** Bactériologie Médicale. 2<sup>ème</sup> Edition. Paris : ELSEVIER MASSON, 2011. 631 pages.
- [56] **Miszczycha S. (2013).** Croissance et survie des *Escherichia coli* producteurs de Shiga-toxine (STEC) en fonction de technologies fromagères en mettant e, œuvre du lait cru. Thèse de doctorat en Physiologie génétique moléculaire. Université Blaise Pascal de Clermont-Ferrand.p.26.
- [57] **Société Marocaine d’Infectiologie et de Vaccinologie.** Guide pratique des bactéries pathogènes. Edition 2017.92 pages.
- [58] **El Fertas S, Aissani R, Messai Y, Alouache S, Bekour R. (2012).**Virulence profiles and antibiotic susceptibility patterns of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from different clinical specimens. PATBIO-3048.
- [59] **Mirabaud MI. (2010).** Entérobactéries à Béta-lactamases à spectre élargi en pédiatrie. Thèse présentée à la Faculté de Médecine de l’Université de Genève pour obtenir le grade de Docteur en médecine. Faculté de médecine. Département de Pédiatrie. Section de médecine clinique 2010. Thèse de doctorat en médecine. Thèse n°10303
- [60] **Grimont P. (2015).**Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology. Volume 2: The *Proteobacteria*, Part B: The Gamma *Proteobacteria*. New York: springer-verlag.
- [61] **Médecine Sorbonne Université, (2014).** Cours de Bactériologie. Chapitre4- Les streptocoques, entérocoques et pneumocoques. [En ligne].
- [62] **Stucki K, Nendaz M, Harbarth S. (2014).**Infections à entérocoques : du plus simple au plus complexe. Revue Médicale Suisse 2014; volume 10. 1918-1923

## Bibliographie

---

- [63] **Elmeskini K.** (2011). Etude épidémiologique des infections à *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse de doctorat en pharmacie 2011. Université Mohamed V faculté de médecine et de pharmacie-Rabat.P4.
- [64] **Service de médecine préventive hospitalière.** (2017). Pathologies et microorganismes. *Acinetobacter spp.* multiresistant dans les services de soins - V 6.0 – 2017.
- [65] **Santé sur le Net.** Mycose des pieds. [En ligne].
- [66] **Talha HI.** (2018).Infections urinaires fongiques. Le manuel MSD, version pour professionnels de la santé 2018. [En ligne].
- [67] **Lavigne JP, Sotto A.** (2005). Association Française d’Urologie. Candidurie, infections, épidémiologie, diagnostic, traitement. Prog Urol, 2005, 15, 213-216.
- [68] **KEITA D.** (2010). Etude de la sensibilité aux antibiotiques des germes isolés dans les infections ostéo-articulaires. Faculté de Médecine de Pharmacie et d’Odonto-Stomatologie, Bamako, Mali. Thèse de doctorat en pharmacie.
- [69] **Cavallo J.** (2015). Lecture interprétative de l’antibiogramme.
- [70] **Youcef-Ali M.** Cours magistral de Master 1. Microbiologie et Hygiène Hospitalière.
- [71] **Berche P, Galillard J, Simonet M.** (1989). Bactériologie médicale. Editeurs n° 9789. Imprimé en France, (juin 1989). Page 335.
- [72] **Bernard P, Jarlier V Santerre-Henriksen A.** (2007). Sensibilité aux antibiotiques des souches de *Staphylococcus aureus* responsables d’infections cutanées communautaires. Service de dermatologie, hôpital Robert-Debré, CHU de Reims.
- [73] **Hnich H.** (2017). La résistance bactérienne : mécanismes et méthodes de détection au laboratoire. Thèse de doctorat en pharmacie. Faculté de Médecine et de Pharmacie, Maroc. Thèse N°272/17.
- [74] **James A. Karlowsky, Nancy M. Laing, Trish Baudry, Nachum Kaplan, David Vaughan, Daryl J. Hoban, George G. Zhanel.** (2006). In Vitro Activity of API-1252, a Novel FabI. Inhibitor, against Clinical Isolates of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. American Society for Microbiology. Vol. 51, No. 4. p. 1580–1581.

## Bibliographie

---

- [75] **Louergue J, Laudat P, Audurier A.** (2005). Infections à *Staphylococcus saprophyticus*. Laboratoire de Bactériologie, Hôpital Trousseau C.H.R de Tours. Médecine et Maladies infectieuses-12- N°2- 72 à 76.
- [76] **Labani Y.** (2016). Profil bactériologique et fréquence de résistance aux antibiotiques de l'infection du pied diabétique. Thèse de doctorat en médecine. Thèse n°22.
- [77] **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.
- [78] **Thabet L, Zoghalmi A, Boukadida J, Ghanem A, Messadi A.** (2013). Étude comparative de la résistance aux antibiotiques des principales bactéries isolées au service de Réanimation de brûlés durant deux périodes (2005-2008, 2008-2011) et dans deux structures hospitalières (Hôpital Aziza Othmana, Centre de traumatologie).
- [79] **Freney F, Renaud W, Hansen C.** (1995). Manuel de Bactériologie clinique. Vol 1, 2<sup>e</sup> édition J Elsevier 1995, pp 159-195.
- [80] **Guide Technique d'Hygiène Hospitalière.** (2004). Page 1 / 2 C.CLIN Sud-Est. Fiche n° 10.04.
- [81] **Vachée A.** (2013). Prélèvements microbiologiques d'un mal perforant du pied diabétique Quand et Comment ? 2<sup>ème</sup> réunion régionale sur l'infection du pied diabétique. Laboratoire de biologie CH de Roubaix.
- [82] **Dargère S.** (2015). Modalités de prélèvement des hémocultures: Hémoculture unique. Service de Maladies Infectieuses CHU Caen.
- [83] **Microbiologie médicale.** (2017). Diagnostic au laboratoire des bactériémies. [En ligne].
- [84] **Mihaela-Diana P.** (2019). Manuel de Microbiologie Travaux Pratiques - PARTIE GÉNÉRALE Médecine générale, Section Française. Editeur Victor Babeş Timișoara.
- [85] **Berche P, Galillard J, Simonet M.** Bactériologie médicale. Editeurs n° 9789. Imprimé en France, (juin 1995), page 260.
- [86] **Biomérieux.** BACT/ALERT Flacons. (2019). [En ligne].
- [87] **Mast Group.** TSI (gélose). (2005). [En ligne].
- [88] **Simmons Citrate Gélosé.** Milieu de différenciation des entérobactéries. (2005). [En ligne].

## Bibliographie

---

- [89] **Gaillaume PY.** (2004). Le milieu mannitol-mobilité. [En ligne].
- [90] **Djelouat S.** (2015). Le diagnostic biochimique bactérien – Collection guide pratique de microbiologie médicale. Éditions sciences et techniques. 7<sup>ème</sup> Edition.
- [91] **Garnier F, Denis F.** (2007). Bactériologie médicale : Techniques usuelles : Cocci à Gram positif. Masson Elsevier. Chapitre 29 .251, 254. 58.
- [92] **Guillaume PY.** (2004). Les milieux de cultures en microbiologie. [En ligne].
- [93] **Quentin-Noury C.** (2016). Automatisation de l'antibiogramme au laboratoire de bactériologie. « Microbiologie Fondamentale et Pathogénicité ». UMR CNRS 5234.
- [94] **Société Française de Microbiologie.** (2018). Comité de l'antibiogramme de la Société Française Microbiologie. Recommandations 2018 V.2.0 Septembre.
- [95] **Lipsky BA, Berendt AR, Cornia PB.** (2012). Infectious Diseases Society of America clinical practice guideline for the diagnosis and treatment of diabetic foot infections. *Clinical infectious diseases*. 2012;54(12):e132-e173.
- [96] **Lavery LA, Armstrong DG, Wunderlich RP, Mohler MJ, Wendel CS, Lipsky BA.** (2006). Risk factors for foot infections in individuals with diabetes. *Diabetes care*. Jun 2016;29(6):1288-1293.
- [97] **Aich F.** (2017). Infection du pied diabétique : aspects bactériologiques et résistance aux antibiotiques. Thèse de doctorat en médecine à l'Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès.P.61
- [98] **Tiwari S, Daliparthy D, Pratyush, Dwivedi A, Sajiv K, Surya K.** (2011). Microbiological and clinical characteristics of diabetic foot infections in northern India. *Infectious Developed Countries* 2012; 6(4):329-332.
- [99] **The bacterial microflora of diabetic foot infection and factors determining its spectrum in Ouagadougou (Burkina Faso)** 2011. [En ligne].
- [100] **Akalin N, Kandemir S, Akbulut B, Demirdal A, Balik T, Azak R, Sengoz G.** (2016) Causative Pathogens and Antibiotic Resistance in Diabetic Foot Infections: A prospective étude multicentrique, *Journal du diabète et ses complications*. S1056-8727 (16) 00071-4.
- [101] **Boudina H, Haddam M.** (2017). Profil bactériologique dans les infections du pied diabétique. *SFE Poitiers 2017 / Annales d'Endocrinologie* 78 (2017) 397–433.page 379.

- [102] **Couret G, Desbiez F, Thieblot P, Tauveron I, Bonnet R, Beytout J, Laurichesse H, Lesens O.** (2007). Émergence des infections monomicrobiennes à staphylocoque doré méticilline-résistant dans les ostéites du pied diabétique ; Étude rétrospective de 48 cas. *Presse Med.* 2007; 36: 851–8. Elsevier Masson SAS.
- [103] **Belouidhine M, Zouaoui C, Jaidane A, Ouertani H, Borni Z.** (2014). Diabète et complications infectieuses : aspects épidémiologiques et cliniques. *Diabetes Metab* 2014, 39, A106-A121.
- [104] **Sapico FL, Canawati HN, Witte JL, Montgomerie JZ, Wagner FW Jr, Bessman AN.** (2010). Quantitative aerobic and anaerobic bacteriology of infected diabetic feet. *Journal Clinical Microbiology* 2010;12:413–20.
- [105] **Manos J, Belas R.** (2006). The Genre *Proteus*, *Providencia*, *Morganella* in Dworkin. (2006). M, Strackebrandt E, 2006, pp 245-69.
- [106] **Krir A Dhraief S, Messadi A, Thabet L.** (2019). Profil bactériologique et résistance aux antibiotiques des bactéries isolées dans un service de réanimation 2019 Sep 30; 32(3): 197–202.
- [107] **Djombera Z.** (2018). Surveillance de la résistance aux antimicrobiens des souches de *Proteus* isolées au laboratoire Odolphe Merieux-Bamako. Thèse de doctorat.
- [108] **Zemmouri A, Tarchouli M, Benbouha A, Lamkinsi T, Bensghir M, Elouennass M, Haimeur C.** (2015). Profil bactériologique du pied diabétique et son impact sur le choix des antibiotiques. *Pan African Medical Journal* 2015 ; 20: 148.
- [109] **Benlabed K, Lezzar A, Laouar H, Bentchouala C, Benkhemissa M, Khelifa F, Alleg H.** (2016). Le pied diabétique : données épidémiologiques. 35èmes Journées Scientifiques du CHU de Constantine.
- [110] **Mezhoud R, Khalfellah N.** (2018). Profil de résistance des bactéries associées au pied diabétique au niveau de l'Hôpital Militaire Régional et Universitaire de Constantine (HMRUC).
- [111] **Al Benwan K, Al Mulla A, Vincent O.** (2008). A study of the microbiology of diabetic foot infections in a teaching hospital in Kuwait. *Journal of Infection and Public Health* (2012) 5, 1—8. Published by Elsevier Ltd.

- [112] **Martinez-Gómez D, Ramirez-Almagro C, Campillo-Soto A, Morales-Cuenca G, Enferm G.** (2009). Infections du pied diabétique - prévalence de différents micro-organismes et sensibilité aux antimicrobiens. *Infection Microbiology Clinic*. 2009; 27 (6): 317–321
- [113] **Citron DM, Goldstein EJ, Merriam CV, Lipsky BA, Abramson MA.** (2007). Bacteriology of moderate-to-severe diabetic foot infections and in vitro activity of antimicrobial agents. *Journal of Clinical Microbiology*. 2007;45(9):2819-2828.
- [114] **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. 34 (53).
- [115] **Mamtora D, Saseedharan S, Bhalekar P, Katakdhond S.** (2019) Microbiological profile and antibiotic susceptibility pattern of Gram-positive isolates at a tertiary care hospital. *Journal of Laboratory Physicians | Published by Wolters Kluwer – Medknow 2019. Journal of Laboratory Physicians | Published by Wolters Kluwer – Medknow 5 pages.*
- [116] **Jones M, Draghi D, Thernsberry C, Karlowsky J, Sahn D, Wenzel R.** (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.

# ***ANNEXE***

**Annexe 1 : Milieux de cultures.**

**Gélose Nutritive**

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

pH = 6.8 +/- 0.2

**Gélose Chapman**

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°

**Gélose au sang cuit**

Mélange spécial de peptones.....	23 g
Amidon.....	1 g
NaCl.....	5 g
Agar.....	10 g
Sang de mouton.....	50 ml

pH = 7.3

**Gélose Hecktoen**

Peptone .....	12 g
Extrait de levure .....	3 g
NaCl.....	5 g
Sels biliaires.....	9 g
Thiosulfate de sodium.....	5 g
Citrate de fer ammoniacal.....	1,5 g

Lactose.....	12 g
Salicine.....	2 g
Saccharose.....	12 g
Bleu de bromothymol.....	0,002 g
Fuchsine acide.....	0,1 g
Agar.....	14 g

pH = 7.5

**Milieu Mueller-Hinton**

Infusion de viande de boeuf.....	300 g
Hydrolysate de caséine.....	17.5 g
Amidon .....	1.5 g
Gélose .....	10 g

pH = 7.4

**Milieu T.S.I :**

Extrait de boeuf.....	3 g
Extrait de levure.....	3 g
Peptone.....	20 g
Chlorure de Sodium.....	5 g
Lactose.....	10 g
Saccharose.....	10 g
Glucose.....	1 g
Citrate ferrique.....	3 g
Thiosulfate de Sodium.....	3 g
Rouge de phénol.....	0.025 g
Gélose.....	12 g

pH = 7.4

**Milieu Mannitol-Mobilité-Nitrate**

Peptone trypsique de caséine.....	10 g
Mannitol .....	7.5 g
Rouge de phénol à 1 %.....	4 m

Nitrate de Potassium.....	1 g
Agar .....	3.5 g

pH = 7.6

**Milieu au citrate de Simmons**

Sulfate de Magnésium.....	0.2 g
Phosphate monoamonique.....	1 g
Phosphate bipotassique.....	1 g
Citrate de Sodium.....	2 g
Chlorure de Sodium.....	5 g
Bleu de Bromothymol.....	0.08 g
Gélose .....	15 g

pH = 7

**Urée-indole.**

Tryptophane.....	3 g
Phosphate diacide de potassium.....	1 g
Phosphate monoacide de potassium.....	1 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Urée.....	20 g
Alcool à 95 °.....	10 ml
Rouge de phénol en solution à 1 %.....	20.5 ml
Eau distillée.....	1000 ml

**Milieu Clark et Lubs**

Peptone de white.....	5 g
Glucose .....	5 g
Phosphate de Potassium.....	5 g

pH= 7.5

### 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 : Cl<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>...]) 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, H<sub>2</sub>S, URE créer une anaérobiose en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
- Refermer la boîte d'incubation.
- Incuber à 36 °C ± 2°C pendant 18-24 heures.

**Annexe**

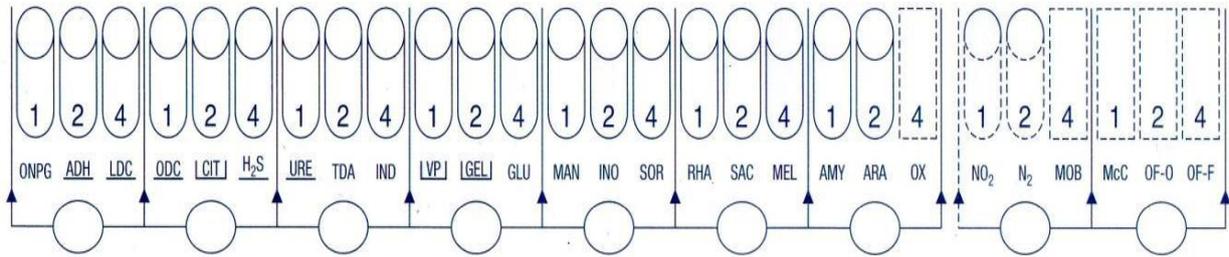
**Annexe 3: la fiche des résultats standards de la galerie API20E.**

**api® 20E**

CE 07223 C

REF : \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_

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



Imprimé en France / Printed in France

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

## Annexe

### 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	Révélateur	Lecture directe ou indirecte Test (si nécessaire)	Résultat -	Résultat +
ONPG	ONPG = Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	Béta galactosidase		Lecture directe		
ADH LDC ODC	Arginine Lysine Ornithine	Arginine Dihydrólase Lysine Décarboxylase Ornithine Décarboxylase	Rouge de phénol	Lecture directe		
[CIT]	Citrate	Utilisation du citrate	BBT	Lecture directe		
H <sub>2</sub> S	Thiosulfate de sodium	Production d'H <sub>2</sub> S	Fe III	Lecture directe		
URÉ	Urée	Uréase	Rouge de Phénol	Lecture directe		 
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase		Lecture indirecte		 
IND	Tryptophane	Tryptophanase ou production d'indole		Lecture indirecte	 	 
[VP]	Pyruvate de sodium	production d'acétoine (3-hydroxybutanone)		Lecture indirecte		 
[GEL]	Gélatine	gélatinase	Particules de charbon	Lecture directe		
GLU à ARA = zymogramme	Substrat carboné (glucide)	Utilisation de substrats carbonés (glucides)	BBT	Lecture directe		
NO <sub>2</sub> /N <sub>2</sub>	Nitrates (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	Nitrate réductase		Lecture indirecte		

### Annexes 5 : Bact-Alert3D



Le BACT/ALERT 3D est un appareil de détection des hémocultures positives. Il est composé d'une chambre d'incubation, d'un moniteur, d'un clavier, d'une imprimante, d'un lecteur de code-barres, d'un onduleur et d'une souris. La chambre d'incubation est subdivisée en deux tiroirs ayant chacun une capacité de 60 flacons de culture.

### ✓ **Procédure de chargement des flacons d'hémoculture :**

Depuis l'écran principal, cliqué sur le bouton de chargement depuis l'écran principal, cliquer sur le bouton de chargement, L'écran ci-contre s'ouvre :

- Scanner le code-barres du flacon.
- S'assurer que le N ° flacon s'affiche dans le champ correspondant, et que le type de flacon correspond à celui à charger.

L'instrument indique alors les emplacements disponibles :

- Un voyant vert s'allume sur la face avant du ou des tiroir(s) où des positions sont disponibles.
- Ouvrir le tiroir dans lequel on souhaite charger le flacon.
- Un voyant orange, témoin d'ouverture, sur la face avant du tiroir choisi s'allume.
- Introduire le flacon dans une cellule disponible (diode verte allumée).
- L'écran de chargement se « rafraîchit », indiquant que la position choisie a bien associé le N° de code à barres du flacon introduit.
- La diode verte correspondante à la position chargée clignote.
- Revenir à l'écran principal en appuyant sur la touche ✓

### ✓ **Procédure de déchargement des flacons d'hémoculture négatifs :**

Au moins une fois par jour, décharger les flacons au terme de leur protocole d'incubation.

- Cliquer, depuis l'écran principal, sur le bouton représentant un flacon négatif, allumé en bleu.
- Une diode verte s'allume dans le ou les tiroirs contenant des flacons négatifs à décharger.
- Ouvrir un tiroir dont la diode frontale est allumée en vert.
- Repérer la ou les diodes allumées en vert, des cellules contenant un flacon négatif à décharger.

## Annexe

---

- Retirer les flacons, un à un, sans cliquer sur la touche de validation, et sans les scanner : pour chacun des flacons déchargés, une fenêtre ouvre, indiquant le code à barre du flacon déchargé. La diode de la dernière position déchargée clignote en vert.
- Une fois les flacons retirés, cliqué sur la touche √ pour revenir à l'écran principal.
  - ✓ **Procédure de déchargement des flacons d'hémoculture positifs :**

Dès lors qu'un flacon prend l'état positif :

- Le fond d'écran BACT/ALERT s'allume en jaune
- Si paramétrée, une alarme sonore retentit.

Cliquer, depuis l'écran principal (fond jaune), sur le bouton représentant un flacon positif, allumé en bleu.

- Une diode verte s'allume dans le ou les tiroirs contenant des flacons positifs à décharger.
- Ouvrir le tiroir allumé.
- Repérer la ou les diodes allumées en vert, des cellules contenant un flacon positif à décharger.
- Retirer le ou les flacons, un à un, sans cliquer sur la touche de validation, et sans les scanner : pour chacun des flacons déchargés, une fenêtre s'ouvre, indiquant le code à barre du flacon déchargé. La diode de la dernière cellule déchargée clignote en vert.
- Une fois les flacons retirés, cliqué sur la touche √ pour revenir à l'écran principal.

## Annexe

---

### Annexe 6: Réactifs de la coloration de Gram

#### Violet de gentiane

Phénol.....	2.0 g
Violet de gentiane.....	1.0 g
Éthanol à 90°.....	10 ml
Eau distillée.....	100 ml

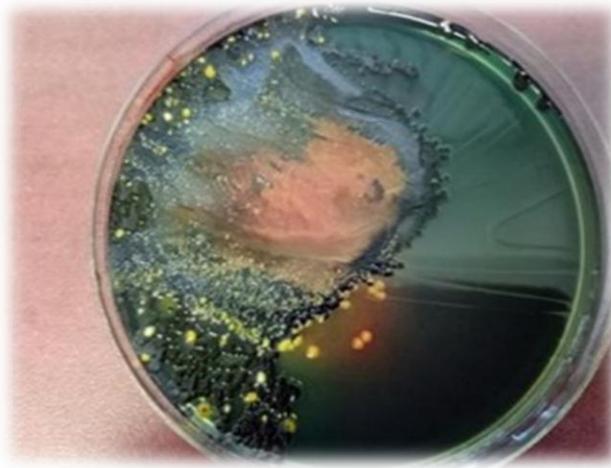
#### Lugol

Iodure de potassium.....	2.0 g
Iode métalloïde.....	1.0 g
Eau distillée .....	300 ml

#### Fuschine de ziehl

Fuchine basique.....	1.0g
Phénol.....	5.0 g
Éthanol à 90°.....	10 ml
Eau distillée .....	100 ml

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

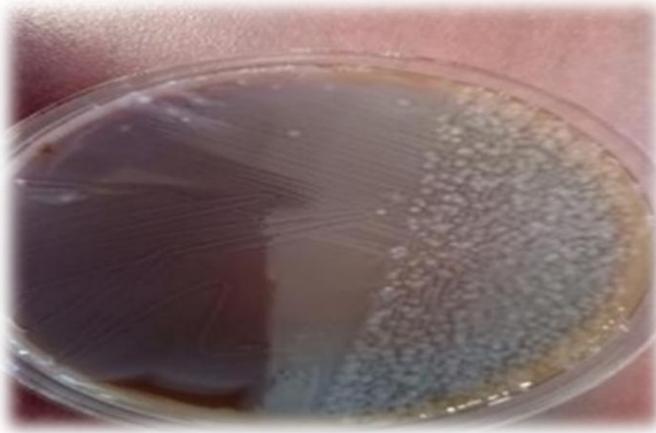


*Proteus mirabilis*



*Staphylococcus aureus*

## Annexe



*Acinetobacter baumannii*



*Streptocoque spp.*

### Annexe 8 : Caractères biochimiques des entérobactéries.

	Mobilité	LAClase	ONPG	ADH	LDC	ODC	CITrate (Simmons)	H <sub>2</sub> S	URÉE (uréase)	PDA ou TDA	INDole	VP	GELatine	MANitrol	SACcharose	RM	DNase
<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	(-)	(+)	V	-	-	-	-	+	-	-	+	V	+	-
<i>Citrobacter freundii</i>	+	V	+	V	-	(-)	+	(+)	-	-	(-)	-	-	+	V	+	-
<i>Citrobacter divers</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>	+	-	(-)	-	-	+	-	(-)	+	+	+	-	-	-	-	+	-

(+) : Le caractère est positif.

(-) : Le caractère est négatif.

(V) : Variable.

## Annexe

### Annexe 9 : Tableaux des valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI

Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Enterococcus spp.*

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

Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *P.aeruginosa*.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ticarcilline	75 µg	14	---	15	128	----	64	Détection de BLSE en plaçant le disque de TCC entre le disque de CAZ et le disque d'AZM (voir chapitre tests complémentaires). L'application des breakpoints pour les céphalosporines dépend du respect de posologies précises. Ceftazidime et Aztréonam : 1g toutes les 6h ou 2g toutes les 8h.
Ticarcilline + ac.clavulanique	75/10µg	14	---	15	128/2	-----	64/2	
Pipéracilline	100 µg	17	---	18	128	-----	64	Il est recommandé d'informer les infectiologues, pharmaciens, comité des antibiotiques et CLIN de l'hôpital, de ces nouveaux critères d'interprétation. Consulter le clinicien, en particulier pour les patients spécifiques.
Ceftazidime	30 µg	14	15 – 17	18	32	16	8	
Aztréonam	30 µg	15	16 – 21	22	32	16	8	
Imipénème	10 µg	13	14 – 15	16	16	8	4	En cas de diamètre R ou I, détection de carbapénèmases (voir recherches complémentaires).
Amikacine	30 µg	14	15 – 16	17	64	32	16	
Gentamicine	10 µg	12	13 – 14	15	16	8	4	
Nétilmicine	30 µg	12	13 – 14	15	32	16	8	
Tobramycine	10 µg	12	13 · 14	15	16	8	4	
Ciprofloxacine	5µg	15	16 · 20	21	4	2	1	
Lévofloxacine	5µg	13	14 · 16	17	8	4	2	
Fosfomycine **	50µg + 50µg G6P	< 14	-----	≥ 14	> 32	----	≤ 32	Tester avec un inoculum 0,5MF dilué au 1/10 <sup>ème</sup> – ne pas prendre en compte la présence de colonies dans la zone d'inhibition
Rifampicine **	30 µg	< 14	14 · 18	≥ 19	> 16	16-8	≤ 4	Tester avec un inoculum 0,5MF dilué au 1/10 <sup>ème</sup>
Colistine	10µg	10	-----	11	8	4	2	

## Annexe

### Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour Entérobactéries spp.

Antibiotiques testés	Charge des Disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ampicilline	10µg	≤ 13	14 – 16	≥ 17	≥ 32	16	≤ 8	La réponse à l'ampicilline est valable pour l'amoxicilline
Amoxicilline +Ac.clavulanique	20/10µg	≤ 13	14 – 17	≥ 18	≥ 32/16	16/8	≤ 8/4	Les breakpoints des céphalosporines et de l'Aztréonam ont été révisés en fonction des propriétés PK-PD et des données cliniques. Ainsi, l'application de ces breakpoints dépend du respect de posologies précises : céfazoline (2g toutes les 8h), céfoxitine (1g toutes les 8h), céftriaxone (1g toutes les 24h)...
Céfazoline	30µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23	≥ 8	4	≤ 2	Suite à la révision des breakpoints des céphalosporines, la lecture interprétative anciennement basée sur la détection ou non d'une BLSE, n'est plus nécessaire.
Céfalotine	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	A souligner cependant que la détection phénotypique de la BLSE garde tout son intérêt dans les études épidémiologiques et en hygiène hospitalière. (voir chapitre recherches complémentaires).
Céfoxitine	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	La réponse R, I ou S se fait en se référant aux seuls diamètres mesurés.
Céfotaxime	30µg	≤ 22	23 – 25	≥ 26	≥ 4	2	≤ 1	
Ceftriaxone	30µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1	
Imipénème/Méropénème	10µg	≤ 19	20 - 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1	Les breakpoints des carbapénèmes ont été révisés en fonction des propriétés PK-PD et des données cliniques. L'application de ces breakpoints dépend du respect des posologies suivantes : Imipénème : 500 mg toutes les 6h ou 1 g toutes les 8h, Ertapénème : 1g toutes les 24h, Méropénème : 1g toutes les 8h. La détection phénotypique d'une carbapénémase par le test MHT est réservée aux études épidémiologiques (voir chapitre recherches complémentaires).
Ertapénème	10µg	≤ 19	20 - 22	≥ 23	≥ 1	0,5	≤ 0,25	
Amikacine	30µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16	
Gentamicine	10µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	
Acide nalidixique	30µg	≤ 13	14 – 18	≥ 19	≥ 32	---	≤ 16	La sensibilité diminuée aux fluoroquinolones est détectée chez les salmonelles isolées d'infections extra-intestinales en testant l'Acide nalidixique à l'antibiogramme.
Ciprofloxacine	5µg	≤ 15	16 – 20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1	
Chloramphénicol	30µg	≤ 12	13 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	Ne pas tester en routine sauf pour les salmonelles.
Colistine	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	Ne tester à l'antibiogramme que pour un but diagnostique. (résistance si culture au contact du disque ou présence d'une cocarde).
Furanes	300µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 128	64	≤ 32	
Fosfomycine	200µg	≤ 12	13 – 15	≥ 16	≥ 256	128	≤ 64	Indiqué uniquement pour les souches d'E.coli isolées d'infections urinaires. La CMI est déterminée par la technique de dilution en gélose supplémentée de 25µg/ml de glucose 6-phosphate.
Triméthoprime+Sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	≤ 10	11 – 15	≥ 16	≥ 4/76	-----	≤ 2/38	

### Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Staphylococcus* spp.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Pénicilline	10 UI	28	---	29	0,25	-----	0,12	Le test de la β-lactamase confirme les cas douteux (voir « Tests complémentaires ».) Interprétation valable pour toutes les pénicillines inactivées par les β-lactamases (ampicilline, ticarcilline, pipéracilline.....)
Oxacilline ( <i>S.aureus</i> )	1 µg	10	11 – 12	13	4	-----	2	Tester le disque de céfoxitine 30 µg pour détecter la résistance à la méticilline de <i>S.aureus</i> et des staphylocoques à coagulase négative.
Oxacilline ( <i>S.lugdunensis</i> )	1 µg	----	-----	-----	4	-----	2	En cas de résultat intermédiaire ou de discordance entre les disques d'oxacilline et de céfoxitine, se référer au chapitre « Tests complémentaires ».
Céfoxitine ( <i>S.aureus</i> et <i>S.lugdunensis</i> )	30 µg	21	---	22	8	-----	4	La résistance à la céfoxitine (et à l'oxacilline) signifie la résistance à toute la famille des β-lactamines.
Oxacilline (S.C.N. sauf <i>S.lugdunensis</i> )	1 µg	----	---	-----	0,5	-----	0,25	
Céfoxitine (S.C.N. sauf <i>S.lugdunensis</i> )	30 µg	24	---	25	---	----	---	
Gentamicine	10 µg	12	13 – 14	15	16	8	4	Les souches résistantes à la gentamicine sont résistantes à tous les autres aminosides sauf à la streptomycine.**
Kanamycine	30 µg	13	14 – 17	18	64	32	16	Pour <i>S.aureus</i> , les souches résistantes à la Kanamycine doivent être interprétées « R » à l'amikacine quelque soit le diamètre autour de l'amikacine**.
Amikacine	30 µg	14	15 – 16	17	64	32	16	
Erythromycine	15 µg	13	14 – 22	23	8	1-4	0,5	Détecter la résistance inducible en plaçant le disque d'érythromycine à côté du disque de clindamycine. En présence d'une image d'antagonisme, répondre « Résistance à érythromycine et clindamycine »
Clindamycine	2µg	14	15 – 20	21	4	1-2	0,5	

## Annexe

---

### Annexe 10 : Fiches d'antibiogramme des entérobactéries

**CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE DR. BENBADIS, CONSTANTINE**

**SERVICE DE MICROBIOLOGIE. PR K. BENLABED- POSTE : 20-94**

N°/.....

**ANTIBIOGRAMME : ENTEROBACTERIES**

Nom :..... Prénom :..... Age :.....

Nature de prélèvement :..... Service :.....

Diagnostique Bactériologique :.....

AMOXICILLINE			GENTAMYCINE		
AMOXICILLINE+ AC.CLAVULANIQUE			KANAMYCINE		
TICARCILLINE			TOBRAMYCINE		
PIPERACILLINE			NETILMYCINE		
CEFAZOLINE			AMIKACINE		
CEFOXITINE			ACIDE NALIDIXIQUE		
CEFOTAXIME			PEFLOXACINE		
CEFTAZIDIME			CIPROFLOXACINE		
CEFIPIME			SULFAMETHOXAZOLE+ TRIMETOPRIM		
AZTREONAM			COLISTINE		
ERTAPENEM			CHLORAMPHENICOL		
IMIPINEM			NITROFURANTOINE		
FOSFOMYCINE					
TETRACYCLINE					

S: SENSIBLE; I: INTERMEDIAIRE; R: RESISTANT

Constantine, le.....

Le Chef d'Unité,

**Annexe 11 : Fiche d'antibiogramme des streptocoques, entérocoques, staphylocoques**

**CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE DR. BENBADIS. CONSTANTINE**

**SERVICE DE MICROBIOLOGIE. PR K. BENLABED- POSTE : 20-94**

N°/.....

**ANTIBIOGRAMME : STREPTOCOQUE, ENTEROCOQUE**

**STAPHYLOCOQUE, HAEMOPHILUS**

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

Nature de prélèvement : ..... Service : .....

Diagnostic Bactériologique : .....

PENICILLINE			ERYTHROMYCINE		
OXACILLINE			SPIRAMYCINE		
AMOXICILLINE			LINCOMYCINE		
AMOXICILLINE+ AC.CLAVULANIQUE			PRISTNAMYCINE		
CEFAZOLINE			TETRACYCLINE		
CEFOXITINE			MINOCYCLINE		
CEFOTAXIME			SULFAMETHOXAZOE + TRIMETOPRIM		
IMPINEM			AC. FUSIDIQUE		
KANAMYCINE			RIFAMPICINE		
TOBRAMYCINE			VANCOMYCINE		
GENTAMYCINE			TEICOPLANINE		
NETILMYCINE			PEFLOXACINE		
AMIKACINE			CIPROFLOXACINE		
GENTAMYCINE HN			LEVOFLOXACINE		
STREPTOMYCINE HN			OFLOXACINE		
TELITHROMYCINE			CHLORAMPHENICOL		
FOSFOMYCINE					

S: SENSIBLE; I: INTERMIDIAIRE ; R: RESISTANT

Constantine, le.....

**Annexe**

---

**Annexe12 : Fiche d'antibiogramme des bacilles non fermentants**

**CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE DE CONSTANTINE**

**DR. BENBADIS**

SERVICE DE MICROBIOLOGIE.

PR K. BENLABED- POSTE : 20-94

N°/.....

**ANTIBIOGRAMME : BACILLES NON FERMENTAIRES**

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

Nature de prélèvement : ..... Service : .....

Diagnostic Bactériologique : .....

CARBENICILLINE			KANAMYCINE		
TICARCILLINE			TOBRAMYCINE		
PIPERACILLINE			GENTAMICINE		
TICARCILLINE+ AC.CLAVULANIQUE			AMIKACINE		
PIPERACILLINE+ TAZOBACTAM			PEFLOXACINE		
CEFTAZIDIME			CIPROFLOXACINE		
CEFEPIME			SULFAMETHOXAZOE +		
CEFPIROME			TRIMETOPRIM		
CEFSULODINE			SULFAMETHOXAZOE		
AZTREONAM			TRIMETOPRIM		
IMIPINEM			COLISTINE		
FOSFOMYCINE			CHLORAMPHENICOL		

S: SENSIBLE; I: INTERMEDIAIRE ; R: RESISTANT

Constantine, le.....

Le Chef d'Unité