



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique



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

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie et Hygiène Hospitalière

Présenté et soutenu par: BELHEINE Inès

BOUZIOUR Djihed

Thème

Microbiologie et traitement antibiotique du pied diabétique infecté

Soutenu le : 15/09/2020

Jury d'évaluation :

Président : Mme. YUCEF ALI Mounia, *Maitre de conférences B-UFM Constantine I*

Rapporteur: Mme. ZITOUNI Hind, *Maitre de conférences B - UFM Constantine I*

Maitre de stage : Mr. RAMDANI Hakim, *Maitre-assistant- HMRUC*

Examineur: Mme. OUIBRAHIM Amira, *Maitre de conférences B- UFM Constantine I*

Année universitaire 2019/2020

Remerciements

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

*En second lieu, nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à Mme **ZITOUNI Hind** maître de conférences à l'Université Frères Mentouri de Constantine 1, qui est pour nous un encadreur attentif et disponible. Sa compétence distinctive, sa rigueur scientifique nous ont beaucoup aidés. Nous la remercions, pour son assistance matérielle et morale, pour son aide et son soutien.*

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

*Commençant par Mme **YOUCEF ALI Mounia** Maître de conférences à l'Université des Frères Mentouri Constantine1 ; pour avoir accepté de juger ce travail et pour l'insigne honneur qu'elle nous fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire.*

*Un très grand merci à Mme **OUIBRAHIM Amira** Maître de conférences à l'Université des Frères Mentouri Constantine1 ; pour avoir accepté d'examiner et d'évaluer ce modeste travail.*

*Nos remercions aussi Monsieur **KACEM CHAUCHE Noreddine**, chef de département de biologie appliquée pour nous avoir acceptées dans son département.*

Nous exprimons tous nos remerciements à l'ensemble des professeurs de notre spécialité (Microbiologie et Hygiène Hospitalière). Les plus grandes leçons ne sont pas tirées d'un livre mais d'un enseignant tel que vous. Merci d'avoir pris le temps de nous aider au cours de ces années et de nous avoir accompagné dans la maîtrise de nos connaissances

*Nous tenons à remercier également le médecin colonel **KHEMISSI Salim**, chef d'unité de microbiologie du laboratoire, pour son accueil au sein du laboratoire et le médecin commandant **RAMDANI Hakim** maître-assistant en microbiologie, pour nous avoir accueillies dans son équipe et d'avoir accepté de co-encadrer ce travail.*

*Nos remerciements s'adressent également au médecin lieutenant-colonel **GUETTARI Chaouki**, chef de service de médecine interne, pour son accueil au sein du service et à tous le personnel de l'HMRUC qui nous a apporté son soutien.*

Nos sincère remerciements sont pour les patients hospitalisés en médecine interne qui nous ont autorisé a prélevé et photographié leurs plaies.

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

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

A ma famille qui m'a doté d'une éducation digne, son amour a fait de moi la personne que je suis aujourd'hui, particulièrement :

A ma chère mère

Qui n'a jamais cessé, de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs

A mes frères, Sami, Djalel et Saad

A mes sœurs, Loubna et Dalel

A ma belle-sœur BENKHERIEF Lydia

Pour leur soutien moral et leurs conseils précieux tout au long de mes études.

A ma chère cousine, GUENIFI Nedjma

Qui m'a toujours encouragé durant mes études.

A mon chère binôme, BELHEINE Inès

Pour son soutien moral, sa patience, sa sympathie et sa compréhension tout au long de ce travail.

A mes chères amies, Amina, Ikram, Zeineb, Belkis et Dikra

Pour leurs aides et supports dans les moments difficiles.

A mes chères neveux et nièces

J'espère être un bon exemple pour eux.

A toutes mes amies de la promotion de Master 2 microbiologie et hygiène hospitalière.

*A tous les membres des familles, **BOUZIOUR ET BOUZERARA.***

BOUZIOUR Djihed



Dédicaces

Avec l'aide du Tout Puissant, j'ai pu réaliser ce travail et c'est avec un grand plaisir que je le dédie :

*A mes chers grands parents **Youcef** et **Khadîdja**, aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, la profonde gratitude et l'immense amour pour vous, ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.*

*A ma mère **Nassima**, à qui je dois la vie et une part essentielle de ma personnalité. Qu'elle sache que l'amour qu'elle me donne continue à m'animer et me permet d'envisager l'avenir comme un défi. Que Dieu me la garde et la préserve.*

*A mon père **Mohammed Larbi**, décédé trop tôt, tu es mon plus fort repère, un être unique et magnifique. J'espère que du monde qui est sien maintenant, il apprécie cet humble geste comme preuve de reconnaissance de la part d'une fille qui a toujours prié pour le salut de son âme. Puisse dieu, le tout puissant, l'avoir en sa sainte miséricorde !*

*A mes chères tantes **Lilia**, **Lynda**, **Sabrina**, **Sihem**. Je vous remercie pour le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance j'espère que votre bénédiction m'accompagnera toujours.*

*A mon oncle et mon deuxième père **Nadir***

*A mes cousines **Insaf** et **Anfel**, je vous dédie ce travail en témoignage des liens solides et intimes qui nous unissent et pour votre soutien, vos encouragements en vous souhaitant un avenir plein de succès et de bonheur.*

*A mon cher binôme, **Bouziour Djihed**, pour son soutien moral, sa patience, sa sympathie et sa compréhension tout le long de ce travail.*

*A mes chères amies, **AMINA**, **BELKIS**, **BATOUL**, et **DIKRA**. Vous n'avez jamais cessé de me soutenir, m'écouter durant toute notre amitié nous avons partagé des souvenirs agréables et vous avez toujours fait preuve d'une vraie amitié et d'un amour propre que dieu préserve notre amitié.*

BELHEINE Inès



Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction.....1

Synthèse bibliographique

Chapitre 1 Généralités sur le diabète

I.1. Définition	2
I.2. Types de diabètes	2
I.2.1. Diabète type 1.....	2
I.1.2. Diabète type 2	2
I.1.2.3 Les diabètes secondaires.....	3
I.3. Les symptômes	3
I.4. Facteurs de risque	3
I.4.1. Diabète de type 1	3
a. La prédisposition génétique	3
b. Les facteurs environnementaux.....	3
c. Le processus auto-immun	4
I.4.2 Diabète de type 2	4
a. Facteurs génétiques et métaboliques	4
b. Surcharge pondérale et sédentarité	4
c. La nutrition du fœtus et de l'enfant influence le risque futur.....	4
I.5. Les complications.....	4
I.5.1 Macroangiopathie.....	5
I.5.2 Macroangiopathie.....	5
I.6. Comparaison entre les types de diabète.....	6
I.7. Epidémiologie.....	7

Chapitre 2 : Le pied diabétique

II.1. Définition	8
II.2. Anatomie du pied.....	8
II.2.1. Les zones à risque au niveau du pied.....	9
II.3. Physiopathologies	9
II.3.1. La neuropathie périphérique	9

II.3.2. L'artériopathie	10
II.3.3. Infection du pied diabétique	11
II. 3.3.1. Les signes de l'infection	12
II. 3.3.2. Classification de l'infection.....	13
II.4. Epidémiologie du pied diabétique	14

Chapitre 3 : Etiologie

III.1. Cocci à gram positif	15
III.1.1. Staphylocoques.....	15
III.1.2. Streptocoques.....	16
III.1.3. Les entérocoques.....	16
III.2. Les bacilles à Gram négatif	17
III.2.1. Entérobactéries	17
A. <i>E.coli</i>	17
B. <i>Proteus spp</i>	17
C. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	18
D. <i>Enterobacter spp</i>	18
E. <i>Providencia rettgeri</i>	18
F. <i>Morganella morganii</i>	19
G. <i>Serratia spp</i>	19
H. <i>Citrobacter spp</i>	19
III.2.2. Bacilles non fermentaires	20
A. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20
B. <i>Acinetobacter baumannii</i>	20
III.3. Bacilles à Gram positif	21
A. <i>Clostridium spp</i>	21

Chapitre 4 : Antibiotiques et antibiothérapie

IV. 1. Définition	22
IV.2. Classification et mode d'action des antibiotiques.....	22
IV.3. Voie d'administration	22
IV.4. Conditions d'activité des antibiotiques.....	22
IV.5. La résistance bactérienne aux antibiotiques	23
IV.5.1. Définition	23
IV.5.2. Les types de la résistance bactérienne.....	23

IV.5.2.1. Résistance naturelle (RN)	23
IV.5.2.2 Résistance acquise	23
IV.5.3. Les mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	24
IV.5.3.1. Inhibition enzymatique	24
IV.5.3.2. Modification de la cible.....	24
IV.5.3.3. Réduction de la perméabilité cellulaire.....	25
IV.5.3.4. Pompes à efflux	26
IV.5.3.5. Protection de la cible de l'antibiotique.....	26
IV.5.3.6. Piégeage de l'antibiotique	27
IV.6. Les bactéries multi résistantes.....	27
IV.6.1. Définition.....	27
IV.6.1.1 Principales bactéries multi-résistantes d'intérêt clinique.....	28
a. <i>Staphylococcus aureus</i> résistants à la méticilline (SARM).....	28
b. Entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (EBLSE).....	28
c. Entérocoques résistants aux glycopeptides (ERG).....	29
d. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> multi-résistant (PAMR).....	29

Matériels et méthodes

I. Matériel.....	30
I.1. Matériel biologique.....	30
I.2. Matériel non biologique.....	30
II. Méthodes	30
II.1. Prélèvement de pus pour la recherche des bactéries pathogènes.....	30
II.2. Enregistrement des échantillons	32
II.3. Examen direct de pus	33
II.3.1. Examen macroscopique.....	33
II.3.2. Examen microscopique (examen cytobactériologique).....	33
II.3.2.1. Préparation des frottis.....	33
II.3.2.2. Coloration au bleu de méthylène	33
II.3.2. Culture	33
II.3.3. Identification	34
II.3.3.1. Coloration de Gram	34
II.3.3.2. Identification biochimique	34

II.3.3.2.1. Galerie Api 20 ^E	34
II.3.3.3. Tests complémentaires.....	34
II.3.3.3.1. Test de la catalase	34
II.3.3.3.2. Test de l'oxydase	35
II.3.3.3.3. Test de l'esculine.....	36
II.3.3.3.4. Test LATEX	36
II.3.3.3.5. Milieu TSI (triple sugar iron).....	37
II.3.4. Antibiogramme par diffusion des disques.....	38
a. Quand rechercher une BLSE	40
b. Méthodes de détection de la BLSE	41
b.1 Test de synergie	41
b.1.1 Chez les entérobactéries	41
b.1.2 <i>Pseudomonas aeruginosa et Acinetobacter Spp</i>	42
Résultats et discussion	
I. Partie expérimentale	43
I.1. Examen cyto bactériologique du pus.....	43
I.1.1. Examen cytologique.....	43
I.2. Examen bactériologique	43
I.2.1. Observation des cultures et différenciation des colonies	43
I.2.2. Coloration de Gram	44
I.2.3. Test complémentaires.....	44
A. Recherche de l'oxydase	44
B. Recherche de la catalase	45
C. Test de latex.....	45
D. Test de TSI.....	45
E. Test de l'esculine.....	46
I.2.4. Résultat de la galerie API20 ^E	47
I.2.5. Les résultats de l'antibiogramme	50
II. Analyse statistique	52
II.1. Répartition des patients selon les tranches d'âge	52
II.2. Répartition des patients selon le sexe	52
II.3. Répartition des échantillons selon le résultat de la culture	53
II.4. Répartition des cultures positives selon le caractère mono et poly-microbien.....	54

II.5. Répartition des données selon la bactérie la plus fréquente	55
II.6. Répartition des bactéries isolées selon le Gram.....	56
II.7. Répartition des bactéries isolées en fonction de la famille	57
II.8. Répartition des entérobactéries responsables des infections du pied diabétique	58
II.9. Profil de résistance des bactéries aux antibiotiques	59
II.9.1. La résistance aux antibiotiques en fonction de la famille.....	59
II.9.2 Profil de résistance de <i>Staphylococcus aureus</i>	60
II.9.3. Profil de résistance de staphylocoque à coagulase négative.....	61
II.9.4. Profil de résistance d' <i>E.coli</i>	61
II.9.5 Profil de résistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	62
II.9.6 Profil de résistance de <i>Proteus mirabilis</i>	63
II.9.7. Profil de résistance de <i>Proteus vulgaris</i>	64
II.9.8. Profil de résistance d' <i>Enterococcus spp.</i>	65
II.9.9. Profil de résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	66
Conclusion.....	68
Références bibliographique	70

Annexes

Résumés

Liste des figures

Figure 1: Complications du diabète.....	4
Figure 2: Anatomie du pied.....	8
Figure 3: Les zones à risque au niveau du pied.....	9
Figure 4 : Cheminement menant aux plaies du pied chez les diabétiques.....	11
Figure 5: les différents mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	27
Figure 6: Techniques de prélèvement de pus.....	32
Figure 7 : Souche de <i>Klebsiella pneumoniae</i> productrice des BLSE.....	41
Figure 8 : <i>Pseudomonas aeruginosa</i> productrice des BLSE.....	42
Figure 9 : Observation microscopique après coloration au bleu de méthylène (X100).....	43
Figure 10 : Aspect des colonies des bactéries isolées	44
Figure 11 : Test oxydase positif.....	45
Figure 12 : Test catalase positif.....	45
Figure 13 : Test TSI.....	46
Figure 14: Test de l'esculine positif.....	47
Figure 15 : Galerie Api 20 ^E	47
Figure 16 : Profil de résistance ou de sensibilité des bactéries isolées aux antibiotiques.....	51
Figure 17: Répartition des patients selon les tranches d'âge (n=307).....	52
Figure 18 : Répartition des patients selon le sexe (n=307).....	53
Figure 19 : Répartition des échantillons selon le résultat de la culture (n=307).....	54
Figure 20: Répartition des cultures positives selon le caractère mono et poly microbien(n=280).....	55
Figure 21 : Répartition des données selon la bactérie la plus fréquente (n=280).....	56
Figure 22 : Répartition des bactéries isolées selon le Gram (n=341).....	57
Figure 23 : Répartition des bactéries isolées en fonction de la famille	58
Figure 24 : Répartition des entérobactéries responsables des infections du pied Diabétique.....	59
Figure 25 : Profil de résistance des bactéries aux antibiotiques selon les familles.....	60
Figure 26 : Profil de résistance de <i>Staphylococcus aureus</i> (n=16).....	60
Figure 27 : Profil de résistance des staphylocoques à coagulase négative (n=3).....	61
Figure 28 : Profil de résistance d' <i>E. coli</i> (n=7).....	62
Figure 29 : Profil de résistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i> (n=9).....	63
Figure 30 : Profil de résistance de <i>Proteus mirabilis</i> (n=9).....	64
Figure 31: Profil de résistance de <i>Proteus vulgaris</i> (n=7).....	65

Figure 32 : Profil de résistance d'*Enterococcus spp* (n=15).....66

Figure 33 : Profil de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* (n=7).....67

Liste des tableaux

Tableau1 : Comparaison entre le diabète de type 1 et le diabète de type 26

Tableau 2: Classification de l'infection des plaies du pied selon le Consensus International sur le Pied Diabétique.....12

Tableau 3: Classification de l'Université de Texas (UT).....13

Tableau 4: Classification de Wagner13

Tableau 5: Identification présomptive des entérobactéries basée sur la fermentation sucres.46

Tableau 6: Caractères biochimiques des entérobactéries47

Tableau7 : Les espèces bactériennes isolées à partir des plaies infectées du pied chez les diabétiques.....48

Liste des abréviations

- ADH** : Arginine dihydrolase
- ADN** : Acide désoxyribonucléique
- AMC**: Amoxicilline+ Acide clavulanique
- AMP**: Ampicilline
- AMX**: Amoxicilline
- AN**: Amikacine
- ATB**: Antibiotique
- ATM** : Aztréonam
- BGN** : Bacille à Gram négatif
- BLSE**: Beta-lactamase à spectre étendue
- BMR** : Bactérie multirésistante
- C** : Chloramphénicol
- C3G** : céphalosporine de 3^{ème} génération
- CAZ** : Céftazidime
- CIP** : Ciprofloxacine,
- CLSI** : Clinical Laboratory Standardisation Institute
- CM** : Clindamycine
- CMV** : Cytomégalovirus
- CRO** : Céftriaxome
- CS** : Colistine
- CTX** : Céfotaxime
- CZ** : Céfazoline
- D-Ala**: D-Alanine
- DHF** : l'acide tétrahydrofolique
- DHPS** : la dihydroptéroate synthétase
- DID** : Diabète insulino-dépendant
- D-Lac**: D-Lactate
- DNID** : Diabète non insulino-dépendant
- DO** : densité optique
- D-Ser**: D-Serine
- DT 1** : Diabète type 1
- DT 2** : Diabète type 2

E : Erythromycine,
ERG : Entérocoques résistants aux glycopeptides
FA : Acide fusidique
FEP : Céfépime
FOS: Fosfomycine,
FOX : Céfoxitine
GEN : Gentamicine
I : Intermédiaire
IMP : Imipenème
IN : Infection nosocomiale
IVU : Infection des voies urinaires
L : Lincomycine
LDC : Lysine décarboxylase,
LVX : Lévofoxacine
LZD: Linézolide
MAP : Maladie artérielle périphérique
MF : MacFarland
MH : Muller Hinton
M.L.S : Macrolides-Lincosamides-Streptogramines
NA : Acide nalidixique
NET : Netilmecine,
ODC : Ornithine décarboxylase,
OFX : Ofloxacine
ONP G : Orthonitrophényl- β -galactoside,
OX : Oxacilline
PABA : acide para-aminobenzoïque
PAMR : *Pseudomonas aeruginosa* multi-résistant
PBP : Penicillin Binding Protein
PDA /TDA : Tryptophane désaminase,
Péni G : Pénicilline G
pH : Potentiel hydrogène ; Unité de mesure d'acidité
PIP : Pipéracilline
PLP : Protéines liant les pénicillines
PNN : Polynucléaire neutrophile

PT : Pristinamicine

R : Résistante

RA: Rifampicine

RM : L-rhamnose

RN : Résistance naturelle

S : Sensible

SARM : *Staphylococcus aureus* résistante à la méticilline

SCC : Cassette chromosomique staphylococcique

SP : Spirampicyne

SXT: Trimethoprim /Sulfamethoxazole

TCC: Ticarcilline+ Acide clavulanique

TEC: Teicoplanine

TET: Tétracycline

TIC: Ticarcilline

TSI: Triple sugar iron

UFC : Unité formant colonie, unité permettant de dénombrer les bactéries vivantes

UT : Université de Texas

VA : Vancomycine

VP : Pyruvate de sodium



Introduction



Introduction

Le diabète constitue un problème de santé publique majeur, il est une des quatre maladies non transmissibles prioritaires ciblées pour une intervention par les dirigeants du monde (OMS, 2016). Il peut entraîner des complications au niveau de plusieurs parties du corps touchant particulièrement les yeux, les reins, le cœur et les vaisseaux (Drouin *et al.*, 1999), Mais les problèmes liés à la maladie du pied représentent un problème clinique important et souvent difficile (Andrew *et al.*, 2010).

Les pieds des diabétiques sont exposés à développer des troubles trophiques potentiellement graves et pouvant aboutir à des amputations. Le risque est favorisé par la conjonction de complications neurologiques, artérielles et infectieuses consécutives au diabète (Benaibouche *et al.*, 2018).

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 (Labani, 2016). Elle se caractérise la plupart du temps par la multiplicité des souches bactériennes souvent multi résistantes (Zemmouri, 2015).

La connaissance de la microbiologie de l'infection du pied diabétique est nécessaire à l'administration judicieuse d'une antibiothérapie empirique et ciblée (Zanella *et al.*, 2016).

Dans cette optique, il nous a paru intéressant d'étudier les infections du pied chez les diabétiques hospitalisés au niveau du service de médecine interne de l'hôpital Militaire régional universitaire de Constantine (HMRUC). Notre étude, effectuée à l'unité de Microbiologie et Parasitologie du laboratoire central de biologie pendant la période allant du 11 février au 10 mars 2020, a comme principaux objectifs:

- ✓ Isolement et identification des principales bactéries impliquées dans les infections du pied diabétique.
- ✓ Etude du profil d'antibiorésistance des souches isolées.
- ✓ Etude épidémiologique d'une période allant du 1 janvier 2017 au 31 décembre 2019 sur les infections du pied chez les diabétiques hospitalisés en médecine interne à l'hôpital Militaire régional universitaire de Constantine (HMRUC).



Synthèse bibliographique





Chapitre 1 :
Généralités sur le diabète



I. Généralités sur le diabète

I.1. Définition

Le diabète est une maladie chronique métabolique qui affecte le taux du glucose dans le sang (**Diane et Martineau, 2017**). Il est lié à un défaut ou une insuffisance de sécrétion de l'insuline, à des anomalies d'action de l'insuline ou bien à l'association de ces deux mécanismes (**Annick et al., 2012 ; Yach et George, 2003**).

Cette maladie est reconnue par une glycémie à jeun supérieur à 1,26 g/l ou une glycémie à n'importe quel moment de la journée supérieure à 2g/l (**Valdiguie et Thierry, 2000**).

I.2. Types de diabètes

I.2.1. Diabète type 1

Le diabète de type 1 ou diabète insulino-dépendant est une maladie auto-immune caractérisée par la destruction des cellules β langerhansiennes. Il représente 10% des diabètes (**Diakite, 2007**).

On distingue dans la classification de *l'American Diabetes Association*, qui fait référence de sous types:

- ✓ **Le diabète de type 1 (DT1) auto-immun:** le plus fréquent il est caractérisé par la destruction des cellules β par un processus auto-immun, et authentifié par la présence des anticorps anti - cellules d'îlots (**Drouin et al., 1999**).
- ✓ **Le diabète type 1 idiopathique:** caractérisé par l'absence d'auto-anticorps. Il s'agit d'un cadre nosologique mal défini (**CEEDMM, 2011**). Cette forme a une très forte composante héréditaire et elle est plus fréquente chez les sujets d'origine africaine ou asiatique (**Drouin et al., 1999**).

I.2.2. Diabète de type 2 (DT2)

Représente la forme la plus répandue du diabète précédemment appelé diabète non insulino-dépendant ou diabète de la maturité. Il résulte d'une mauvaise utilisation de l'insuline par l'organisme (**OMS, 2017**).

On distingue deux types:

- ✓ L'insulino-résistance: se caractérise par l'incapacité de l'insuline à obtenir une réponse maximale au niveau de ses organes cibles (muscle et foie).
- ✓ L'insulinopénie relative: caractérisée par une insuffisance de sécrétion de l'insuline (**CEEDMM, 2011**).

I.2.3. Les diabètes secondaires

- **Diabète pancréatique:** Pancréatectomie totale, cancer du pancréas, pancréatite chronique, calcifiante éthylique, diabètes tropicaux, hémochromatose, mucoviscidose.
- **Diabètes endocriniens:** Acromégalie, hypercorticisme, phéochromocytome, hyperthyroïdie, hyperaldostérinisme, glucagome, somatostatine.
- **Hépatopathie cirrhogène**
- **Insulinopathie**
- **Diabète Mody (maturity onset diabetes in the young)**
- **Diabète gestationnel (Azebaze, 2004).**

I.3. Les symptômes

Habituellement, les symptômes du diabète de type 1 sont évidents. Ce n'est pas vrai pour le type 2. Beaucoup de gens du type 2 ne découvrent qu'ils ont le diabète jusqu'à ce qu'ils soient traités d'une complication comme une maladie cardiaque, maladie des vaisseaux sanguins (athérosclérose). Les signes pour les deux types sont les suivants:

- **Type 1:** Besoin fréquent d'uriner, une soif accrue, une faim extrême, perte de poids inexplicable, fatigue extrême, troubles de la vision, de l'irritabilité, des nausées et des vomissements.
- **Type 2:** Le gain de poids inexplicable, des douleurs, des crampes, des fourmillements ou des engourdissements dans les pieds, somnolence inhabituelle, de fréquentes infections vaginales ou de la peau, peau sèche, démangeaisons et des à plaies guérissent lente (**Adelkebir, 2014**).

I.4. Facteurs de risque

I.4.1. Diabète de type 1

La survenue du diabète de type 1 nécessite:

a. La prédisposition génétique

Les facteurs génétiques prédisposant sont toujours présents, même si dans 85 % des cas il n'existe pas d'antécédents familiaux de diabète de type 1.

b. Les facteurs environnementaux

Des facteurs environnementaux pourraient être impliqués dans le déclenchement du processus auto-immun du diabète de type 1:

- ✓ **Infection virale:** De nombreux virus ont été incriminés (coxsackies, cytomégalovirus [CMV], virus de la rubéole, des oreillons) sans preuve formelle.
- ✓ **Facteurs nutritionnels:** Introduction trop précoce des protéines du lait de vache.

- ✓ **Facteurs toxiques** : ont aussi été suspectés, mais là encore la preuve directe de leur implication dans le diabète commun manque (CEEDMM, 2011).

c. Le processus auto-immun

L'immunité cellulaire joue un rôle prépondérant, notamment par l'activation des lymphocytes T4, responsables de l'initiation de la réponse immunitaire, et par l'effet destructeur sur les cellules β des lymphocytes T8 cytotoxiques.

Les auto-anticorps jouent un rôle secondaire dans la destruction des cellules β , au moins un des auto-anticorps témoins circulants est détectable dans 85 % des cas (**Chapitre 2, diabétologie, faculté de médecine Toulouse**).

I.4.2. Diabète de type 2

a. Facteurs génétiques et métaboliques

- Plusieurs gènes sont impliqués dans l'apparition du diabète de type 2, et ont un rôle dans le développement pancréatique ou la synthèse de l'insuline.
- La glucotoxicité: la diminution de l'insulinosécrétion et l'insulinorésistance est aggravée par l'hyperglycémie, notamment par l'élévation du seuil du « glucose *sensor*» des cellules bêta (CEEDMM, 2011).
- La lipolyse des adipocytes en raison de l'insulinopénie et l'insulinorésistance est responsable de l'augmentation des acides gras libres, qui aboutissent à augmenter le « seuil *sensor*» de l'insulinosécrétion et aggraver la diminution de l'insulinosécrétion (CEEDMM, 2011).
- Les adipokines: L'insulinorésistance est en partie liée à la sécrétion d'adipokines par les adipocytes (CEEDMM, 2011).

b. Surcharge pondérale et sédentarité

Sont les facteurs de risque principaux impliqués dans le DT2.

c. La nutrition du fœtus et de l'enfant influence le risque futur (OMS, 2016).

I.5. Les complications

Les complications sont beaucoup moins fréquentes et moins graves chez les personnes qui ont bien contrôlé leur taux de sucre dans le sang.

En fait, plus le contrôle est bien fait, plus le risque de complications est faible. C'est pourquoi l'éducation des patients, la compréhension et la participation sont essentielles (**Abelkebir, 2014**).

L'atteinte vasculaire au cours du diabète concerne l'intégralité des vaisseaux de l'organisme, quels que soient leur taille et les tissus qu'ils irriguent. Cette atteinte a parfois une traduction clinique (CEEDMM, 2011).

On distingue classiquement:

I.5.1. Macroangiopathie

Il s'agit des complications macrovasculaires (atteinte des artères de calibre supérieur à 200 μ m) (Guillet, 2010), qui se traduisent en une athérosclérose accélérée, avec certaines spécificités. Elle concerne le cœur (infarctus du myocarde), le cerveau et les membres inférieurs avec l'artérite (CEEDMM, 2011).

I.5.2. Microangiopathie

La microangiopathie touche les petits vaisseaux (artérioles, veinules et capillaires de diamètre inférieur à 30 μ m). Elle concerne indifféremment tous les tissus et organes (Geoffroy, 2005), mais ses manifestations cliniques ne deviennent sensibles qu'au niveau des fibres nerveuses (neuropathie), des micro-vaisseaux rénaux (néphropathie) et rétiens (Rétinopathie) (Raccah, 2004).

I.5.3. Le pied diabétique

Ce dernier souvent dû à une combinaison de la neuropathie et de la maladie artérielle, peut provoquer un ulcère de la peau et une infection. Dans les cas les plus graves, ça peut entraîner la nécrose et la gangrène.

Il s'agit de la cause la plus fréquente d'amputations chez les adultes (Abdelkbir, 2014).

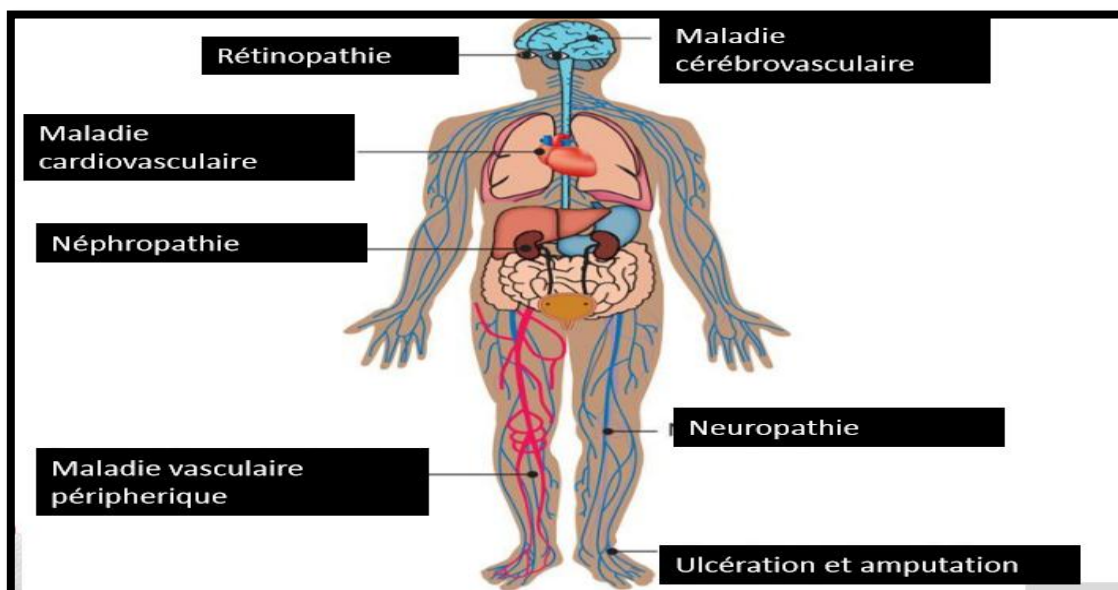


Figure 1: Complications du diabète (OMS, 2016)

I.6. Comparaison entre les 2 types les plus importants de diabète

Tableau1 : Comparaison entre le diabète de type 1 et le diabète de type 2 (Khelif, 2012)

	Diabète type 1	Diabète type 2
Autres appellations	Diabète insulino-dépendant (DID) Diabète juvénile Diabète maigre	Diabète non insulino-dépendant (DNID) Diabète de la maturité
Fréquence	Moins de 10% des cas	Plus de 90% des cas
Age de survenue	Avant 35 ans	Après 40 ans
Hyperglycémie au diagnostic	Majeure >3g/l	Souvent < 2g/l
Cétose	Souvent ++ à +++	Le plus souvent 0
Complication dégénérative	Absente	Présente dans 50% des cas au moment du diagnostic
Cause principale de mortalité	Insuffisance rénale	Maladie cardiovasculaire
Injection d'insuline	Obligatoire	Nécessaire qu'après échec des mesures hygiéno-diabétiques et antidiabétiques oraux
Développement	Rapide et symptomatique	Progressif et asymptomatique
Mécanisme	Destruction des cellules β du pancréas entraînant l'arrêt de la production d'insuline	Diminution de la production d'insuline et moindre efficacité (insulinorésistance).
Complication aiguë	Acidocétose diabétique	Etat hyperosmolaire : cétose rarement avec infection ou stress
Causes	Maladie auto-immune dirigée contre les cellules β du pancréas	Maladie sous l'influence du mode de vie (alimentation sédentarité) et des facteurs génétiques.
Symptômes	Besoin fréquent d'uriner, une soif accrue, une faim extrême, perte de poids inexpliqué, fatigue extrême, trouble de vision, de l'irritabilité, des nausées et des vomissements.	Tous les symptômes du type 1 plus : le gain de poids inexpliqué, des douleurs, des crampes, des fourmillements ou des engourdissements dans le pied, somnolence inhabituelle, de fréquentes infections vaginales ou de la peau, peau sèche, démangeaisons et des plaies guérissent lentement.

DID : Diabète insulino-dépendant, DNID : Diabète non insulino-dépendant

I.7. Epidémiologie du diabète

➤ Dans le monde

Le diabète pose un vrai problème de santé publique par sa prévalence et le poids de ses complications chroniques dominées par les complications cardiovasculaires, le pied diabétique, l'insuffisance rénale chronique et la rétinopathie.

La population diabétique mondiale était de 382 millions avec 5,1 millions de décès en 2013. Le nombre des diabétiques peut passer à 592 millions en 2035. Cette épidémie qui concerne surtout le diabète type 2 est liée à plusieurs facteurs dont le vieillissement de la population, les régimes hypercaloriques, l'obésité et les changements de mode de vie dominés par la sédentarité (OMS, 2013).

➤ En Algérie

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

Chez les Touaregs du sud algérien dans la même tranche d'âge, elle n'est que de 1,3% ce qui met l'accent sur l'influence du mode de vie et de l'activité physique sur le développement de la maladie.

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 (Abtroun et Aouiche *et al.*, 2015).



Chapitre 2 :
Le pied diabétique



II. Le pied diabétique

II.1. Définition

Le terme « pied diabétique » désigne l'ensemble des anomalies cliniques du pied chez une personne diabétique qui sont la conséquence du développement des complications chroniques du diabète constituées de la triade neuropathie, artériopathie et infection.

Classiquement, 15 % des patients diabétiques présenteront une ulcération au cours de leur vie. Le diabète est un facteur aggravant comparativement à une population non diabétique, le taux d'ulcération est multiplié par 5 et le taux d'amputation multiplié par 7 (Martini, Senneville, 2018).

II.2. Anatomie du pied

Le pied est la partie la plus distale du membre inférieur, il s'articule avec la jambe, et il comprend 26 os, 29 articulations, 42 muscles et une multitude de ligaments et de tendons (Figure 2). Les programmes mécaniques du pied sont multiples avec les situations qui se rencontrent lors de la marche aussi bien en terrain plat qu'en terrain irrégulier. Les deux fonctions principales sont la stabilité et la mobilité. « Structure déformable, organe tout terrain » le pied s'adapte aux forces, il représente le meilleur exemple de système architectural complet alliant: solidité, souplesse et stabilité (Kourichi et Moussaoui, 2018).

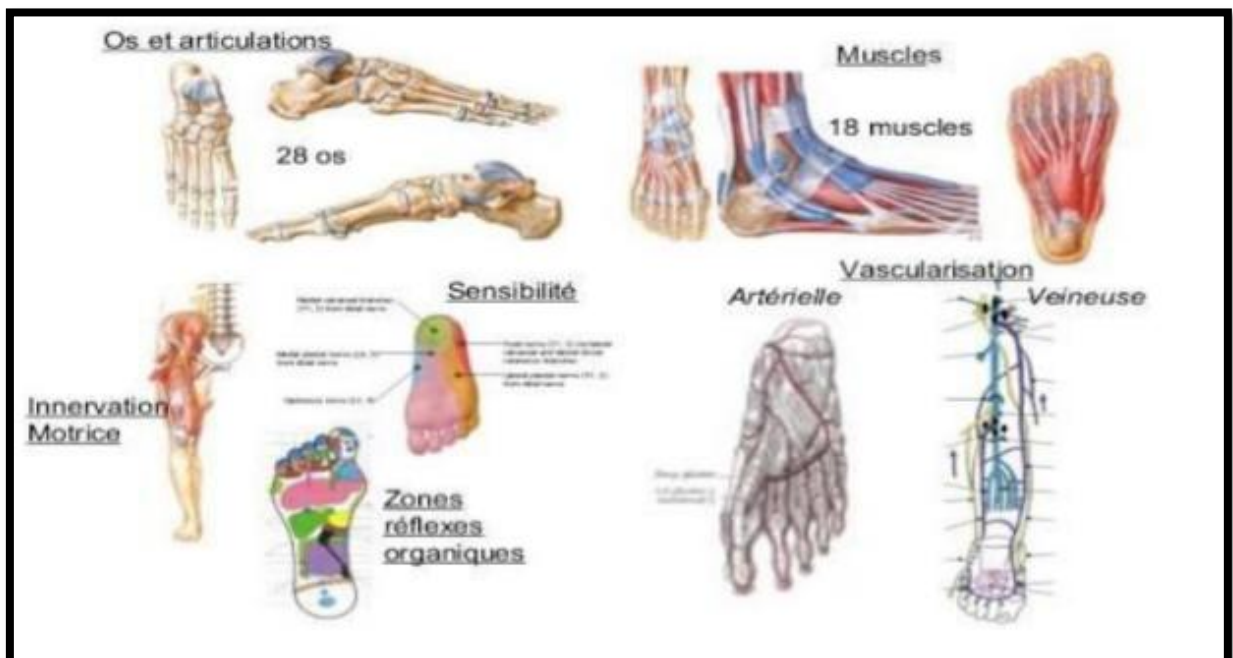


Figure 2: Anatomie du pied (Pacôme, 2014)

II.2.1. Les zones à risque au niveau du pied

Plusieurs raisons expliquent cette susceptibilité particulière du pied :

Le pied est la zone de contact du corps avec le sol qui le soumet à des forces de contraintes importantes. Comme il est en atmosphère confinée, il devient le siège de fréquentes macérations, ce qui explique le risque d'infections mycosiques et/ou bactériennes (Figure 3) (Kourichi et Moussaoui, 2018).



Figure 3: Les zones à risque au niveau du pied (Kourichi et Moussaoui, 2018)

II.3. Physiopathologies

L'origine et le développement des plaies aux pieds chez les personnes diabétiques sont multifactoriels en fait, les plaies résultent des complications du diabète que sont la neuropathie périphérique, la maladie artérielle périphérique, et l'infection (Figure 4) (Diane et Martineau, 2017).

II.3.1. La neuropathie périphérique

La neuropathie périphérique associée au diabète constitue un important facteur du développement des plaies au pied. Il est apporté qu'elle est en cause de 90 % des cas d'ulcères du pied diabétique (Diane et Martineau, 2017).

Les facteurs associés au développement de la neuropathie périphérique sont les années d'évolution du diabète et le contrôle glycémique. Les neuropathies se distinguent selon les nerfs qu'elles altèrent, la gravité du déficit fonctionnel et les symptômes qu'elles provoquent. Elles sont de trois types : sensitive, motrice ou végétative.

✓ **Neuropathie sensitive**

Affecte les nerfs du système nerveux périphérique. Les nerfs sensitifs servent à un éventail de fonctions spécialisées, notamment la transmission au cerveau des stimuli concernant la température, la douleur, la pression et la position du pied perçus (**Diane et Martineau, 2017**).

✓ **Neuropathie motrice**

Altère les nerfs moteurs contrôlant les mouvements du pied et le tonus musculaire (**Diane et Martineau, 2017**).

✓ **Neuropathie végétative**

Appelée aussi neuropathie autonome, touche le système nerveux autonome. Elle est responsable des troubles sudoraux, d'une hyperpulsatilité artérielle et de l'ouverture de shunts artérioveineux (**GOT, 1999**).

II.3.2. L'artériopathie

Le diabète est un facteur de risque vasculaire qui touche les vaisseaux de tout calibre. Chez le patient diabétique, les lésions oblitérantes sont plus fréquentes au niveau jambier, sur les artères de moyen et de petit calibre, que les lésions aorto-iliaques (**Kourichi et Moussaoui, 2018**).

La maladie artérielle périphérique (MAP) se réfère à un blocage d'une artère, causé par des dépôts de lipides sur la paroi des vaisseaux artériels des jambes. Cliniquement, le blocage de l'artère entraîne une diminution de la circulation sanguine vers les tissus sous le blocage, ce qui diminue ainsi chroniquement l'apport en nutriments et en oxygène et cause une incapacité pour l'organisme de fournir un débit sanguin plus élevé. C'est pourquoi la MAP nuit à la cicatrisation de la plaie (**Diane et Luce Martineau, 2017**).

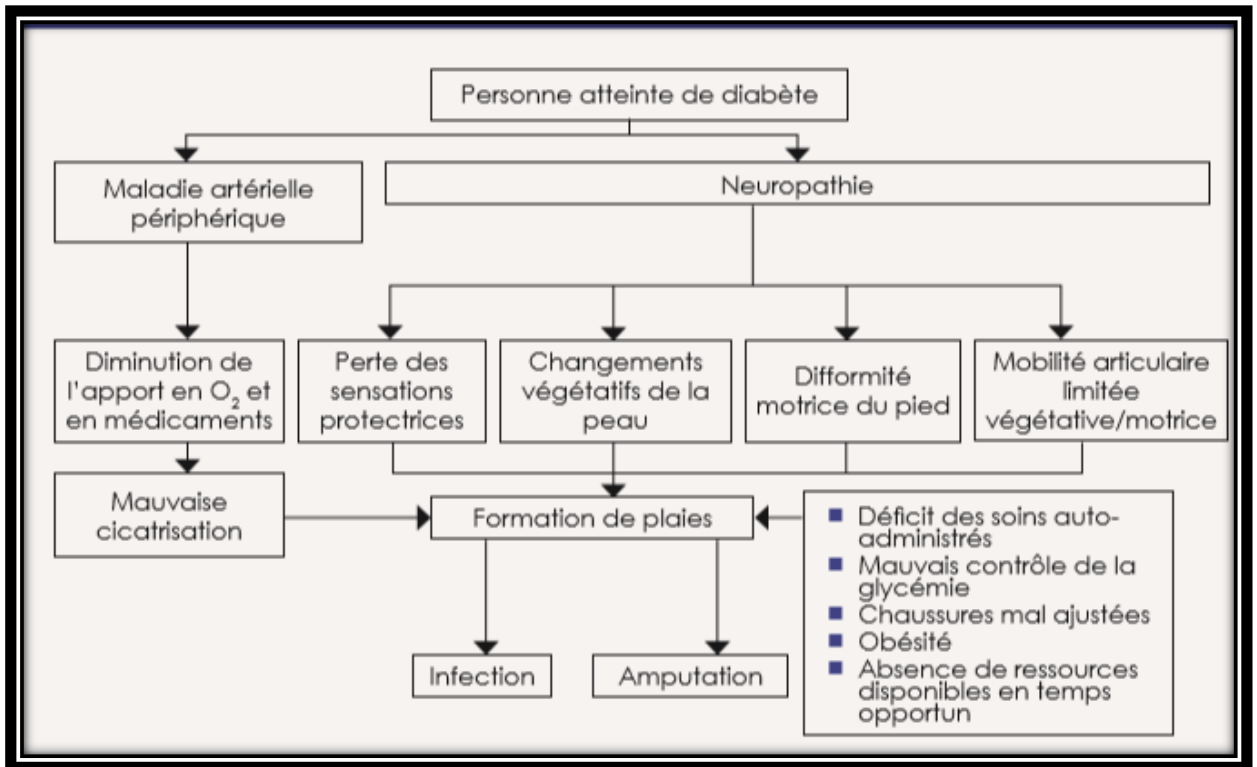


Figure 4 : Cheminement menant aux plaies du pied chez les diabétiques (Orsted *et al.*, 2006)

II.3.3. Infection du pied diabétique

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

La fréquence et la gravité des infections sont favorisées d'abord par des facteurs locaux: les fissures, crevasses, plaies par frottement, constituant autant de portes d'entrées à l'infection, souvent diagnostiquée tardivement par l'indolence de la plaie liée à la neuropathie (Levanic, 2008).

Le plus souvent (70% à 80 % des cas) sont des infections poly-microbiennes associant des germes Gram +, des Gram- et des anaérobies, qui vont poser des problèmes thérapeutiques.

Le Staphylocoque doré est l'espèce bactérienne la plus constamment retrouvée. L'association d'une atteinte neuropathique et d'une atteinte vasculaire rend le pied du diabétique plus vulnérable aux infections. Même superficielle, une infection du pied peut évoluer de manière dramatique (Kourichi et Moussaoui, 2018).

II. 3.3.1. Les signes de l'infection

Les signes évoquant l'infection :

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

II. 3.2.2. Classification de l'infection

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

Il existe également d'autres classifications on note :

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

Tableau 2 : Classification de l'infection des plaies du pied selon le Consensus International sur le Pied Diabétique (Benaïbouche *et al.*, 2018)

Grade 1	Pas de symptômes, ni de signes d'infection.
Grade 2	Atteinte cutanée uniquement (sans atteinte des tissus sous cutanés ni systémique) avec au moins deux des signes suivants: chaleur locale, érythème de 0,5 à 2 cm autour de l'ulcère, sensibilité locale ou douleur, tuméfaction locale ou induration, décharge purulente, les autres causes de réaction inflammatoire de la peau doivent être éliminées (par exemple : traumatisme, goutte, fracture, etc..).
Grade 3	Erythème de plus de 2 cm et une des constatations décrites ci-dessus : infection atteignant les structures au-delà de la peau et du tissu sous-cutané, ne doit pas y avoir de repense inflammatoire systémique.
Grade 4	Quelle que soit l'infection locale, si présence de signes systémiques manifestes par au moins deux des caractéristiques suivantes : température > 38°C ou < 36°C, fréquence cardiaque > 90bpm, fréquence respiratoire > 20cycles/mn, paCO ₂ de < 32mmGH, leucocytes > 12000G/l ou < 4000G/l, 10%de formes leucocytaires immatures.

Tableau 3 : Classification de l'Université de Texas (UT) (Benaibouche *et al.*, 2018)

	Grade 0 Lésion épithélialisée	Grade 1 Plaie superficielle	Grade 2 Atteinte du tendon	Grade 3 Atteinte de l'os ou de l'articulation
Stade A Pas d'infection Pas d'ischémie	0A	1A	2A	3A
Stade B Infection, mais pas d'ischémie	0B	1B	2B	3B
Stade C pas d'infection mais ischémie	0C	1C	2C	3C
Stade D Infection et ischémie	0D	1D	2D	3D

Tableau 4 : Classification de Wagner (Benaibouche *et al.*, 2018)

Grade 0	Pas de lésion ouverte, mais présence possible de déformation et/ou de cellulite.
Grade 1	Ulcère superficiel sans pénétration vers les tendons, l'os ou les tissus profonds.
Grade 2	Extension profonde vers les tendons, l'os ou les articulations. Prise en charge multidisciplinaire
Grade 3	Abcès, ostéomyélite, ostéoarthrite.
Grade 4	Gangrène localisée au talon ou à l'avant-pied.
Grade 5	Gangrène étendue à tout le pied.

II.4. Epidémiologie du pied diabétique

15% des diabétiques à travers le monde développent un ulcère ou des infections du pied durant leur vie. Les conséquences principales des problèmes des pieds diabétiques sont les ulcères et les amputations.

5 à 10% des diabétiques seront un jour victime d'une amputation. On comptabilise environ 10 000 amputations par an dues au diabète et 50% pourraient être évitées (**Kourichi et Moussaoui, 2018**).

Il est donc indispensable de rechercher les diabétiques à risque podologique, c'est-à-dire les diabétiques ayant perdu la sensibilité à la douleur au niveau des pieds ou les diabétiques ayant une artérite des membres inférieurs, et doivent recevoir une éducation podologique spécialisée (**Kourichi et Moussaoui, 2018**).



Chapitre 3 :
Etiologie



III. Etiologie

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

Ces germes peuvent agir en synergie et entraîner une vaste et rapide destruction tissulaire. Lorsque des bactéries Gram négatif (*Proteus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*) des entérocoques et des anaérobies sont mises en causes, les complications du type nécrose, cellulite ou ostéite sont plus fréquentes qu'avec une prédominance de Gram positif. La survenue de bactériémies, rare, est habituellement le fait d'infections du pied particulièrement sévères, à haut risque d'amputations (Levanic, 2008).

III.1. Cocci à Gram positif

III.1.1. Staphylocoques

Les bactéries du genre *Staphylococcus* sont des coques (Cocci) à Gram positif, groupées en amas ayant la forme de grappes de raisin, non sporulées, aéro-anaérobies facultatives. (Université Pierre et Marie Curie., 2003). La présence d'une coagulase est utilisée pour distinguer *S. aureus* (coagulase positive) des autres staphylocoques. (Hart et Shears., 1997).

➤ Habitat

Les staphylocoques sont une composante essentielle de la flore humaine normale, mais comprennent aussi des espèces qui sont pathogènes (Hart et Shers, 1997). Ils sont fragiles et vivent à l'état commensal au niveau des téguments ou des muqueuses de l'homme ou des animaux. Certains groupes sont rencontrés dans le sol, l'air et l'eau. Leur présence normale au niveau cutanéomuqueux explique qu'ils peuvent contaminer fréquemment des prélèvements et constituer des souillures (Verdier et al., 2015).

➤ Le pouvoir pathogène

Staphylococcus aureus (communément appelée staphylocoque doré), comme toute bactérie pyogène, est à l'origine d'infections suppuratives. Il s'agit le plus souvent d'auto-infections à partir de la flore endogène, mais l'origine peut aussi être exogène. (Verdier et al., 2015).

Les infections suppuratives impliquent la prolifération bactérienne, l'invasion puis la destruction des tissus de l'hôte et une action inflammatoire localisée ou généralisée. Elles sont à l'origine de:

L'infection cutanée, sous-cutanée et muqueuse qui peuvent être superficielles ou profondes, septicémie, L'infection viscérale à partir de bactériémies, avec des localisations osseuses, pulmonaires urogénitales, neuroméningite ou cardiaques (**Verdier et al., 2015**).

III.1.2. Streptocoques

Les streptocoques sont des Cocci à Gram positif disposés en chaînettes différenciables des staphylocoques par l'absence de catalase (**Hart et Shears, 1997**). Ces bactéries sont exigeantes en nombreux facteurs de croissance (**Bouvet, 2011**).

En 1928, LANCEFIELD propose une classification qui repose sur le typage d'un antigène polysaccharidique de paroi qui porte son nom et qui remplace les classifications précédentes basées uniquement sur les propriétés hémolytiques. Donc on peut les classer en sérogroupes de A à T. Certains streptocoques qui ne possèdent pas d'antigène sont les « non groupables » (**Université Pierre et Marie Curie, 2003**).

➤ Habitat

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 (streptocoques du groupe B et streptocoques non groupables et non hémolytiques.) ou de la muqueuse génitale (groupe B) ou de l'intestin (anciens streptocoques du groupe D ou entérocoques considérés maintenant comme faisant partie d'un genre à part, le genre *Enterococcus*) (**Université Pierre et Marie Curie Bactériologie, 2003**).

➤ Pouvoir pathogène

Les streptocoques sont, après les staphylocoques, les bactéries pyogènes. Les plus pathogène d'entre eux est le streptocoque bêta-hémolytique (*Streptococcus pyogenes*). Qui est responsable de la majorité des affections. Les réactions immunologiques de l'hôte infecté par *S. pyogenes* sont beaucoup plus complexes que celles qui s'observent lors d'une infection par *S. aureus* (**Sorbonne université, 2003**).

III.1.3. Entérocoques

Les entérocoques sont des bactéries à Gram positif, non sporulantes qui se présentent sous forme de coques isolées, arrangées en paires ou en chaînettes, anaérobies aérotolestants (**Hebert, 2008**).

➤ Habitat

Les entérocoques sont des bactéries ubiquistes, présentes dans de différentes niches écologiques telle que l'intestin de l'homme et des animaux à sang chaud (10^5 - 10^8 UFC /g de matière fécale), plus rarement dans le vagin ou dans la cavité buccale. On les retrouve

également dans les eaux usées, l'eau douce, l'eau de mer, le sol sur les végétaux et chez les insectes. Plus exceptionnellement, leur présence est signalée dans le tractus intestinal des animaux à sang froid (**Herbet, 2008**).

➤ **Le pouvoir pathogène**

Ils font partie des pathogènes nosocomiaux les plus communs, et sont responsables d'infections urinaires ou intra-abdominales, d'abcès viscéraux, de pneumonies, de septicémies, d'endocardites et de méningites (**Herbet, 2008**).

III.2. Les bacilles à Gram négatif

III.2.1. Entérobactéries

Les entérobactéries appartiennent à une grande famille qui regroupe des bacilles à Gram négatif (BGN). Cette famille comporte plusieurs genres, espèces et stéréotypes.

La classification récente (hybridation ADN-ADN) recense 33 genres et plus de 140 espèces, parmi tous les genres et les espèces décrits, une vingtaine est impliquée dans la pathologie humaine : *E.coli*, *Proteus*, *Shigella*, *Salmonella*, *Citrobacter*, *Klebsiella* et *Enterobacter* (**Bousekraoui et al., 2017**).

A. *Escherichia coli*

Escherichia coli est un bacille à Gram négatif aérobie-anaérobie facultatif. Mobile par des flagelles péritriches, non-sporulant, chémoorganotrophe (**Girard, 2005**).

➤ **Habitat**

E. coli est une bactérie commensale de tube digestif de l'homme et les mammifères, elle est l'espèce prédominante du microbiote aérobie de l'intestin à raison de 10^8 par gramme de fèces (**Université Pierre et Marie Curie, 2003**). La présence de colibacilles ou espèces voisines (les coliformes) dans l'eau est un témoin de contamination fécale (**Khayar, 2011**).

➤ **Le pouvoir pathogène**

Certaines souches sont pathogènes capables de provoquer chez l'hôte des infections que l'on classe en deux catégories : infections intestinales (diarrhées) et infections extra-intestinales (infections urinaires, bactériémies, méningites néonatales) (**Université Pierre et Marie Curie, 2003**).

B. *Proteus spp*

Les bactéries du genre *Proteus* sont des bacilles Gram négatif aérobies mobiles (**Agence de la santé publique du Canada, 2011**). Produisant des désaminases (tryptophane désaminase et phénylalanine désaminase). Les *Proteus* produisent en outre une uréase (**Khayar, 2011**).

➤ **Habitat et pouvoir pathogène**

Les espèces du genre *Proteus* font partie de la flore gastro-intestinale normale de l'humain. En bactériologie médicale, on les isole au cours des infections des voies urinaires IVU et de rares cas de bactériémie secondaire à une IVU, et des infections respiratoires ou autres (Agence de la santé publique du Canada, 2011). En raison de leur pouvoir alcalinisant dû à l'uréase, les *Proteus* sont parfois cause de lithiases urinaires (Khayar, 2011).

C. *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae est appelée "pneumobacille de Friedlander (Khayar, 2011). Est un bacille à Gram négatif, se présentant de manière isolé, ou groupé par deux ou en courtes chaînes et présentant les caractères généraux de la famille des *Enterobacteriaceae*. C'est une bactérie immobile, non sporulée, capsulée, aéroanaérobie (Bacteria Free).

➤ **Habitat et pouvoir pathogène**

Elles sont très répandues dans la nature (eaux, sols). Ce sont des commensaux du tube digestif des animaux et de l'homme qui peut également en héberger dans l'oropharynx. Elles sont responsables des infections urinaires au 2ème rang après *E. coli*, des infections respiratoires de bactériémies et des infections neuro-méningées post traumatiques ou post-chirurgicales. Les isollements sont beaucoup plus fréquents à l'hôpital - et singulièrement dans les services de réanimation - qu'en ville (Khayar, 2011).

D. *Enterobacter*

Les *Enterobacter* sont des bacilles à Gram négatif généralement mobiles, fermentent ou non le lactose et ils ont une β -galactosidase (Boudjamaa,2015).L'espèce type est *Enterobacter cloacae*.

➤ **Habitat et pouvoir pathogène**

Bactéries telluriques, saprophyte des cavités naturelles et du tube digestif, elles sont fréquemment retrouvées dans les eaux de surface, le sol et les végétaux. Elles sont susceptibles de se développer à basse température et d'acquérir, en particulier l'espèce *cloacae*, une résistance importante aux agents antibactériens.

Enterobacter cloacea une bactérie pathogène opportuniste responsable en milieu hospitalier d'infections urinaires, de bactériémies, de méningites ou de suppurations diverses (Boudjamaa, 2015).

E. *Providencia rettgeri*

Bacille à Gram négatif anaérobie facultative (Wilson *et al.*, 2015).

➤ **Habitat et pouvoir pathogène**

Le plus souvent isolée des sources génito-urinaires et gastro-intestinales, provoque des diarrhées et symptômes urogénitaux (**Wilson et al., 2015**).

F. *Morganella morganii*

Bacille à Gram négatif, initialement appelé *Proteus morganii* (**Clave, 2016**). Fermenteur des sucres, produit des désaminases (tryptophane désaminase et phénylalanine désaminase) (**Khayar, 2011**).

➤ **Habitat et Pouvoir pathogène**

Bactérie commensale du tube digestif des animaux et de l'homme. Elle est opportuniste rencontrée le plus souvent à l'hôpital, qui cause des infections chez les immunodéprimés (Infection urinaire, Infections extra-digestives diverses. Rares infection materno-fœtale, Bactériémies et septicémies très rarement) (**Clave, 2016**).

G. *Serratia spp*

Les espèces du genre *Serratia* sont des bactéries anaérobies facultatives, chimio-organotrophiques, ayant de faibles besoins nutritionnels, Ce sont des bâtonnets Gram négatif. Elles possèdent un flagelle péritriche qui leur permet de nager et de se déplacer en faisceau en forme d'hélice (avec différenciation) (**Agence de la santé publique du Canada, 2010**).

➤ **Habitat et pouvoir pathogène**

Les espèces de *Serratia* sont omniprésentes dans le sol, l'eau et à la surface des plantes. Mais seule l'espèce type, *Serratia marcescens* est fréquemment isolée chez l'homme (**Khayar, 2011**). Elle se comporte de plus en plus souvent comme un pathogène opportuniste responsable d'une multitude d'infections, dont la bactériémie, la pneumonie, les infections liées aux cathéters intraveineux, l'ostéomyélite, l'endocardite et, rarement, l'endophtalmie endogène et exogène (**Agence de la santé publique du Canada, 2010**).

H. *Citrobacter spp*

Les bactéries du genre *Citrobacter*, sont des bacilles ou des coccobacilles Gram négatif et facultativement anaérobies dont la mobilité est assurée par des flagelles. Elles sont capables d'utiliser le citrate de sodium comme unique source de carbone (**Agence de la santé publique du Canada, 2010**).

➤ **Pouvoir pathogène**

Les bactéries du genre *Citrobacter* sont des agents pathogènes nosocomiaux opportunistes rares qui entraînent normalement des infections des voies urinaires, des bactériémies, des

sepsis abdominaux et des abcès cérébraux ainsi que des pneumonies et d'autres infections néonatales comme la méningite, le sepsis néonatal, l'infection articulaire (**Agence de la santé publique du Canada, 2010**).

III.2.2. Bacilles non fermentaires

A. *Pseudomonas aeruginosa*

Est un bacille à Gram négatif ubiquitaire aérobic strict appartenant à la famille des *Pseudomonadaceae*, mobiles grâce à la présence d'un flagelle monotriche polaire. *Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie mésophile capable de se multiplier à l'intérieur d'un large spectre de température allant de 4° à 45°C facilement distinctive grâce à la production de la pyocyanine, un pigment bleu-vert diffusible dans le milieu extracellulaire, d'où le nom de bacille pyocyanique (**Elmeskini, 2011**). Il est naturellement résistant à de très nombreux antibiotiques (**Université Pierre et Marie Curie, 2003**).

➤ **Habitat**

Bactéries saprophytes, on les trouve essentiellement dans l'eau. Elles peuvent contaminer des solutés pour perfusion, des solutions antiseptiques, des préparations médicamenteuses liquides (**Université Pierre et Marie Curie, 2003**).

➤ **Le pouvoir pathogène**

Pseudomonas aeruginosa exprime son potentiel pathogène lorsqu'elle est introduite dans des zones aux défenses immunitaires diminuées. Opportuniste majeur, elle est ainsi responsable : des suppurations, des blessures et des brûlures, d'infections locales iatrogènes après manœuvre instrumentale et des septicémies, de surinfection des bronches dans la mucoviscidose, grâce à la production d'élastase (**Université Pierre et Marie Curie, 2003**).

B. *Acinetobacter baumannii*

Les *Acinetobacter* sont des bacilles immobiles, souvent groupés en diplobacilles courts, aérobies stricts, habituellement saprophytes. Ils jouent un rôle d'opportunistes mineurs en milieu hospitalier (**Université Pierre et Marie Curie, 2003**).

➤ **Habitat**

Les bactéries du genre *Acinetobacter* sont considérées comme des bactéries ubiquistes. Elles sont capables d'utiliser une grande variété de substrats comme source d'énergie, ce qui leur permet d'avoir un habitat très large et de persister dans un environnement hostile.

Elles sont très répandues dans la nature ainsi que chez l'animal et dans l'alimentation (produits laitiers, viandes...) et elles font également partie de la flore résidente normale de la peau saine (**Guillou, 2005 ; Pierrick, 2015**).

III.3. Bacilles à Gram positif

A. *Clostridium spp*

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

➤ Habitat et pouvoir pathogène

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

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



Chapitre 4 :
Antibiotiques et antibiothérapie



IV. Antibiotiques et antibiothérapie

IV. 1. Définition

Un antibiotique (ATB) est une substance chimique produite par un microorganisme (le plus souvent un champignon) et capable de détruire (bactéricide) ou d'empêcher la croissance des autres microorganismes (bactériostatique). Par extension, toute substance naturelle ou synthétique susceptible d'empêcher le développement des microorganismes est appelée antibiotique.

Le rôle des antibiotiques est d'abord d'abaisser la quantité des bactéries présentes au site infectieux pour permettre aux défenses immunitaire d'assurer leur rôle. Le premier antibiotique connu, la sulfanilamide (sulfamide) a été isolé en 1935 (**Moutonet *et al.*, 2000 ; El Abdani, 2016**).

IV.2. Classification et mode d'action des antibiotiques

Les différents antibiotiques exploités en médecine thérapeutique peuvent être classés par famille chimique et par leurs modes d'action. Les cibles décrites jusqu'à présent sont la paroi, la membrane, l'acide nucléique et les ribosomes des micro-organismes (**Annexe 1**) (**El Abdani, 2016**).

IV.3. Voie d'administration

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

IV.4. Conditions d'activité des antibiotiques

Afin de pouvoir exercer son activité antibactérienne, un antibiotique doit :

- Atteindre sa cible, et donc pénétrer la membrane externe, la paroi, et la membrane cytoplasmique.
- Persister à des concentrations suffisantes.
- Reconnaître la cible.

Les bactéries développent des mécanismes afin d'empêcher l'une ou l'autre de ces étapes, et ainsi permettre l'émergence de résistances aux antibiotiques (**Ziai, 2014**).

IV.5. La résistance bactérienne aux antibiotiques

IV.5.1. Définition

L'organisation mondiale de la santé a défini la résistance bactérienne aux antibiotiques dès 1961 comme suit :

Une souche est dite « résistante » lorsque la concentration d'antibiotique qu'elle est capable de supporter est notablement plus élevée que la concentration atteignable *in vivo* (El Abdani, 2016).

On peut définir la résistance aux ATB cliniquement en disant: Une bactérie est dite «résistante» quand elle échappe à l'action de l'antibiotique supposé actif, prescrit au malade, c'est ce qui se manifeste par un échec clinique relatif ou absolu de l'antibiothérapie. Dans la majorité des infections, un échec clinique se traduit par l'absence d'amélioration (fièvre, mal être de l'état général, etc.) après environ 72 heures de traitement et la prescription d'un deuxième antibiotique (El Abdani, 2016).

IV.5.2. Les types de la résistance bactérienne

IV.5.2.1. Résistance naturelle (RN)

Une résistance intrinsèque se définit comme une caractéristique fonctionnelle ou structurelle conférant une certaine tolérance, voir une insensibilité totale, à tous les membres d'un groupe de bactéries (une espèce, un genre ou parfois un groupe plus grand), vis-à-vis d'une molécule particulière ou vis à vis une classe d'antibiotique (Muylaert et Mainil, 2012). Elle est stable, transmise à la descendance (elle a pour support génétique le chromosome bactérien) (Loziewski, *et al.*, 2010).

Cette résistance peut être due à l'inaccessibilité de la cible pour l'antibiotique, à une faible affinité de la cible pour l'antibiotique ou encore à l'absence de la cible. Par exemple, la résistance des entérobactéries et du *Pseudomonas spp* aux macrolides ou des bactéries à Gram négatif à la vancomycine est naturelle (Sylvie, 2009).

IV.5.2.2 Résistance acquise

Les bactéries peuvent développer une résistance à un antibiotique au quel elles étaient préalablement sensibles, ce qui implique des changements génétiques. Cette résistance est un phénomène qui apparait au niveau des souches d'une espèce donnée, normalement sensible à cet antibiotique (Sylvie, 2009).

Ces changements peuvent être de deux types : soit une mutation spontanée, soit l'acquisition de gènes par un autre micro-organisme (El Abdani, 2016).

IV.5.3. Les mécanismes de résistance aux antibiotiques

Les bactéries ont développées différents mécanismes afin de neutraliser l'action des agents antibactériens, il existe plusieurs mécanismes permettent aux bactéries de résister face à un antibiotique (Muylaert et Mainil, 2012).

IV.5.3.1. Inhibition enzymatique

Le micro-organisme produit une enzyme qui inactive l'antibiotique en le modifiant ou en l'hydrolysant. La production enzymatique peut être induite par un facteur externe ou constant (Fosseprez, 2013).

✓ Production de β -lactamase

Les β -lactamases sont des enzymes produites par les bactéries et transmises par des chromosomes ou des plasmides. Elles constituent un mécanisme de résistance très efficace (Sylvie, 2009).

L'enzyme va modifier le noyau actif de l'antibiotique par clivage ou par addition d'un groupement chimique, empêche la fixation de l'antibiotique sur sa cible et provoque une perte d'activité (Muylaert et Mainil, 2012).

Parmi les bactéries à Gram positif, le *Staphylococcus aureus* ainsi que l'entérocoque sont les pathogènes les plus susceptibles de produire des β -lactamases transmises par des plasmides et capable d'hydrolyser les pénicillines ou les céphalosporines. Les bacilles à Gram négatif (BGN), en particulier les entérobactéries, produisent une grande variété de β -lactamases (Sylvie, 2009).

Il existe plusieurs familles de β -lactamases, des changements relativement mineurs des séquences des gènes originaux ont entraîné une modification significative de l'affinité des enzymes pour le substrat, et il s'est développé un groupe de β -lactamases à spectre étendu, les BLSE ou ESBL. La majorité de ces BLSE sont dérivés des spectres TEM-1 et SHV-1 (Sylvie, 2009).

De nouvelles familles de BLSE ont été décrites récemment (CTX-M, OXA, etc.) (Sylvie, 2009). Elles sont rencontrées notamment chez *Klebsiella pneumoniae* mais aussi chez les entérobactéries, ce sont des enzymes capables de lyser aussi bien les pénicillines que les céphalosporines y compris les céphalosporines de 3ème génération (Costés, 2016).

IV.5.3.2. Modification de la cible

La cible de l'antibiotique peut être structurellement modifiée ou remplacée, de telle sorte que le composant antibactérien ne puisse plus se lier et exercer son activité au niveau de la bactérie (Muylaert et Mainil, 2012).

Ce mécanisme va jouer sur de différents composants cellulaires (Costés, 2016).

Voici quelques exemples :

✓ **Altération des protéines de liaison aux pénicillines (PLP) aussi connues sous PBP (*Penicillin Binding Protein*)**

Les PLP ou "protéines liant les pénicillines" sont des enzymes qui catalysent l'étape finale de la biosynthèse du peptidoglycane (paroi bactérienne) et qui sont la cible des bêta-lactamines (en se fixant aux PLP les bêta-lactamines les empêchent de jouer leur rôle ; la synthèse du peptidoglycane est donc entravée) (Lozniewski *et al.*, 2010).

On retrouve plus ce mécanisme chez les bactéries Gram positif. Il s'agit d'un type de résistance qui met en jeu des modifications de la structure de la protéine liant les pénicillines soit de façon quantitative (la PLP 5 d'*Enterococcus faecalis*) ou qualitative c'est-à-dire réduire l'affinité (le gène *mecA* permet de coder une PLP supplémentaire la PLP 2a conférant la résistance à la méticilline de *Staphylococcus aureus*) (Costés, 2016), soit par une mutation des gènes chromosomiques, soit par l'acquisition de gènes supplémentaires exprimant de nouvelles PLP (Sylvie, 2009).

✓ **Altération de l'ADN-gyrase et de la topo-isomérase**

L'ADN gyrase est une enzyme nécessaire à l'activité des quinolones. Des mutations spontanées d'un seul acide aminé de l'ADN gyrase engendrent de la résistance. Il en est de même pour les mutations de la topoisomérase IV (Sylvie, 2009).

✓ **Altération des précurseurs cibles de la paroi cellulaire bactérienne**

Chez *Enterococcus spp.*, et actuellement chez certaines souches de *Staphylococcus aureus*, la transformation de la séquence DAAla-DAAla du précurseur pentapeptidique du peptidoglycane en DAAla-DLac ou DAAla-DSer, réduit l'affinité de la vancomycine et/ou de la téicoplanine pour ce précurseur. Ce phénomène peut être induit par l'utilisation de la vancomycine, comme pour l'entérocoque résistant à la vancomycine (Sylvie, 2009).

✓ **Altération des enzymes cibles**

Une modification de la dihydrofolate synthétase résistante à la liaison avec les sulfamides et de la dihydrofolate réductase insensible au triméthoprimine entraîne également une résistance. La résistance des bactéries à gram négatif envers les sulfamides est attribuable aux plasmides générant des enzymes résistantes (Fosseprez, 2013).

IV.5.3.3. Réduction de la perméabilité cellulaire

Les antibiotiques doivent traverser la paroi pour pénétrer dans la bactérie. Le passage se fait par diffusion passive à travers des porines. La réduction de la perméabilité cellulaire se produit par diminution de l'entrée de l'antibiotique sur son site, provoquée par une modification de la perméabilité de la membrane interne ou externe de la bactérie. Cette forme

de résistance peut s'exercer d'une part, au même endroit sur plusieurs classes d'antibiotiques, étant donné que de nombreux médicaments peuvent emprunter la même porine. D'autre part, elle peut être spécifique, lorsqu'un seul agent emprunte cette porine. Par exemple, la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* à l'imipénème illustre la résistance spécifique causée par la perte d'une porine propre aux carbapénèmes (Fosseprez, 2013).

Des mutations au niveau des gènes qui codent pour les porines et qui conduisent à leur perte, exemple : la réduction de l'expression de la porine OmpF chez *E. coli* qui entraîne une réduction de sensibilité aux quinolones, aux bêta-lactames, aux tétracyclines et au chloramphénicol (Muylaert et Mainil, 2012).

L'imperméabilité liée aux porines s'associe souvent à la synthèse de β -lactamases pour conférer une résistance à la bactérie. Il arrive à l'occasion qu'une bactérie ne devienne résistante que lorsque ces deux phénomènes se produisent simultanément. Par exemple, pour les bactéries *Enterobacter spp.*, et *Serratia spp.*, la résistance à l'imipénème résulte à la fois d'une modification de la perméabilité cellulaire et d'une hausse de la synthèse des β -lactamases chromosomiques (Sylvie, 2009).

IV.5.3.4. Pompes à efflux

L'efflux actif, médié par des protéines transmembranaires connues sous le terme de pompes à efflux ou transporteurs actifs. Ces pompes ont besoin d'énergie

Ces pompes à efflux ont généralement une spécificité de substrats assez large, et seulement certaines d'entre elles confèrent une résistance aux antibiotiques. La résistance provient de la réduction de concentration en antimicrobien dans le cytoplasme de la bactérie, ce qui prévient et limite l'accès de l'antibiotique à sa cible (Muylaert et Mainil, 2012).

Parmi les bactéries d'importance clinique munies d'une pompe à efflux comme mécanisme de résistance, on trouve l'*E. coli* et le *Shigella spp.*, Le *S. aureus* peut également comporter une pompe à efflux lui permettant d'acquérir une résistance aux macrolides (Sylvie, 2009).

IV.5.3.5. Protection de la cible de l'antibiotique

La protection de la cible de l'antibiotique est un mode de résistance bien connu pour la famille des tétracyclines et plus récemment décrit pour les quinolones et les fluoroquinolones. On ne dénombre pas moins de huit protéines de protection ribosomiale qui confèrent une résistance aux tétracyclines en les déplaçant de leur site de fixation par la création d'un encombrement stérique au niveau du ribosome (Muylaert et Mainil, 2012).

IV.5.3.6. Piégeage de l'antibiotique

Les bactéries sont capables de piéger un antibiotique en augmentant la production de sa cible ou en produisant une autre molécule possédant une affinité pour ce dernier. Il en résulte une diminution de l'antibiotique à l'état libre au niveau de la cible. Ainsi des mutations chromosomiques responsables d'une surproduction des cibles des sulfamides et du triméthoprimine ont été décrites chez de nombreuses espèces bactériennes. Ce mécanisme est également impliqué dans des bas niveaux de résistance aux glycopeptides chez certaines souches de *S. aureus*, et à la tobramycine chez *E. coli* (Muylaert et Mainil, 2012).

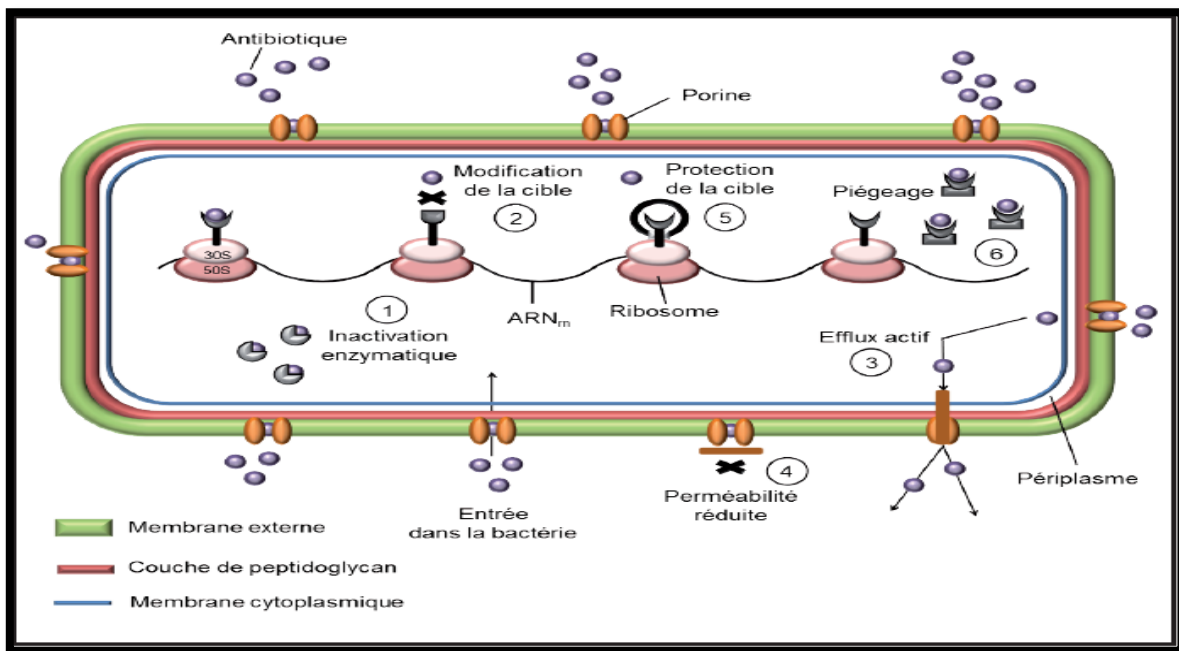


Figure 5: Les différents mécanismes de résistance aux antibiotiques (Muylaert et Mainil, 2012).

IV.6. Les bactéries multi résistantes

Depuis quelques années, l'émergence des bactéries multi résistantes (BMR) est devenue un enjeu majeur de Santé Publique. La place grandissante des entérobactéries exprimant une bêtalactamase à spectre étendu (BLSE) parmi les BMR et la diffusion aisée des gènes de résistance aux antibiotiques ne cessent d'inquiéter les pouvoirs publics et les structures de lutte contre les infections nosocomiales (Pierrot, 2015).

IV.6.1. Définition

Les bactéries sont dites multi résistantes (BMR) aux antibiotiques lorsque, du fait de l'accumulation des résistances naturelles et acquises, elles ne sont plus sensibles qu'à un nombre restreint d'antibiotiques utilisables en thérapeutique (Khiev et Veber, 2010).

IV.6.1.1. Principales bactéries multi-résistantes d'intérêt clinique

En raison de leur fréquence élevée, de la gravité des infections dont elles sont responsables et de leur capacité à diffuser dans le milieu hospitalier, les bactéries multi-résistantes suivantes doivent faire l'objet d'un programme de surveillance et de prévention pour limiter leur dissémination (Amhal, 2017).

a. *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM)

S.aureus est une des deux principales espèces responsables d'infections nosocomiales. Les SARM représentent 5 à 10% des bactéries isolées des infections nosocomiales (IN), ils sont résistants à toutes les β -lactamines et très souvent résistants aux aminosides, aux macrolides et aux fluoroquinolones (Vincent, 2000).

Cette résistance à la méticilline est liée à l'acquisition d'une cassette chromosomique staphylococcique (SCCmec) portant le gène *mecA*, qui code pour une protéine membranaire additionnelle nommée Penicillin Binding Protein 2a (PBP2a) dont l'affinité pour les bêta-lactamines est très faible (Kouatchet et Eveillard, 2012).

b. Entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (EBLSE)

Les entérobactéries dans leur ensemble représentent 35 à 40% des bactéries responsables d'infections nosocomiales (IN). Les EBLSE représentent environ 1% des bactéries isolées dans les IN (Vincent, J, 2000).

De manière générale, les entérobactéries utilisent les différents mécanismes de résistance cités précédemment (troubles de la perméabilité, systèmes d'efflux, modification de la cible, inactivation enzymatique). Dans la majorité des cas, les bactéries produisent les β -lactamases qui confèrent la capacité d'hydrolyser la plupart des pénicillines et des céphalosporines, mais elles restent sensibles aux céphamycines ainsi qu'aux carbapénèmes avec une corésistance aux aminosides, les tétracyclines et les fluoroquinolones est fréquente. Les bêta-lactamases sont inhibées par l'acide clavulanique. (Pierrot, 2015).

Des mutations ponctuelles des gènes portés par les plasmides ont conduit à un élargissement du spectre d'action des enzymes et à l'émergence de β -lactamases à spectre étendu ainsi qu'à la diffusion de ces gènes aux autres entérobactéries grâce aux plasmides. Ces bêta lactamases ne sont plus sensibles aux inhibiteurs de β -lactamases (Pierrot, 2015).

c. Entérocoques résistants aux glycopeptides (ERG)

Les entérocoques sont naturellement résistants aux céphalosporines et la majorité des souches d'*enterococcus faecalis* sont sensibles à l'ampicilline. Les premières souches d'*E. faecium* présentant un haut niveau de résistance aux glycopeptides (vancomycine et teicoplanine) ont été rapportées en France en 1987. Des gènes de résistance (*vanA* à *vanB*)

permettent à la bactérie de synthétiser des précurseurs modifiés du peptidoglycane, cible d'action des glycopeptides, entraînant une diminution de l'affinité des antibiotiques. Le gène *vanA* est le plus fréquent et confère une résistance de haut niveau aux glycopeptides. Ce gène est localisé sur un transposon rendant son transfert possible à d'autres bactéries (**Pierrot, 2015**).

d. *Pseudomonas aeruginosa* multi-résistant (PAMR)

P. aeruginosa est caractérisé par une résistance naturelle à de nombreux antibiotiques (aminopénicillines, les céphalosporines de 3ème génération, l'ertapénème, la kanamycine, les tétracyclines), mais les résistances acquises sont fréquentes et favorisées par la pression de sélection de l'antibiothérapie. Les souches de PAMR cumulent le plus souvent plusieurs mécanismes de résistance et provoquent des infections parfois graves. Certaines souches sont devenues toto-résistantes, c'est-à-dire résistantes à tous les antibiotiques disponibles. Ce dernier cas est encore rare mais le phénomène est en augmentation (**Pierrot, 2015**).

Dans les hôpitaux concernés, ces souches doivent faire l'objectif d'une stratégie spécifique, notamment d'une politique de prescription des antibiotiques, et des mesures de contrôle de l'environnement (**Vicent, 2000**).



Matériel et méthodes



Matériel et méthodes

• Présentation de l'étude

Le travail de recherche de ce mémoire a été réalisé au niveau du laboratoire central unité de microbiologie-parasitologie et au niveau du service de médecine interne de l'hôpital militaire régional universitaire de Constantine (Commandant Abdelali Benbaatouche) durant une période d'un mois, il est divisé en deux parties :

- ✓ Un travail expérimental d'une durée d'un mois du 11 février jusqu'au 10 mars 2020
- ✓ Une étude rétrospective sur les trois dernières années du 1^{er} janvier 2017 au 31 décembre 2019.

• Considération éthique

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

I. Matériel

I.1. Matériel biologique

Notre étude a porté sur des échantillons provenant des patients diabétiques diagnostiqués cliniquement (pied diabétique), présentant une infection au niveau du pied, traduite par l'apparition du pus dans le foyer infecté.

I.2. Matériel non biologique

Concernant la culture bactérienne nous avons utilisé différents milieux de culture solides et liquides. Par ailleurs nous avons utilisé divers appareils, des verreries, des réactifs et des disques d'antibiotique.

II. Méthodes

II.1. Prélèvement de pus pour la recherche des bactéries pathogènes

- Pus superficiel

-Réalisation d'un écouvillonnage : des écouvillons stériles fermés hermétiquement sont utilisés pour assurer un prélèvement aseptique.

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

-Placer de préférence l'écouvillon contenant le prélèvement dans un sac hermétique stérile (pour élimination de perte ou de projection en cas d'accident).

- Lésion superficielle fermée

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

Le prélèvement peut être réalisé de 2 façons :

- Aspirer le pus à travers la peau par le biais d'une seringue avec une aiguille introduite dans le foyer infectieux. Et si le volume du prélèvement est faible, ajouter quelques gouttes de sérum physiologique stérile à l'aiguille. Identifier la seringue avec le code à barre correspondant.
- Ouvrir la lésion avec la pointe d'un vaccinostyle. Imbiber un écouvillon avec quelques gouttes de sérum physiologique et prélever la sécrétion à l'aide de l'écouvillon.

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

- **Lésion superficielle ouverte**

Enlever le pansement s'il y en a. Nettoyer avec la solution antiseptique le pourtour de la lésion à prélever afin d'éliminer la flore commensale. Débarrasser la plaie des souillures superficielles avec des compresses stériles humidifiées avec de l'eau physiologique. Procéder à l'écouvillonnage de la lésion en essayant de prélever les sécrétions les plus purulentes et en évitant de contaminer le prélèvement par des bactéries colonisant les alentours de la lésion.

Procéder à l'identique avec un deuxième écouvillon.

En présence de particules purulentes au bord de la lésion : prélever à la curette. En cas de traitement antibiotique topique (local) : le traitement sera suspendu 48 heures avant le prélèvement pour éviter les faux résultats.

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

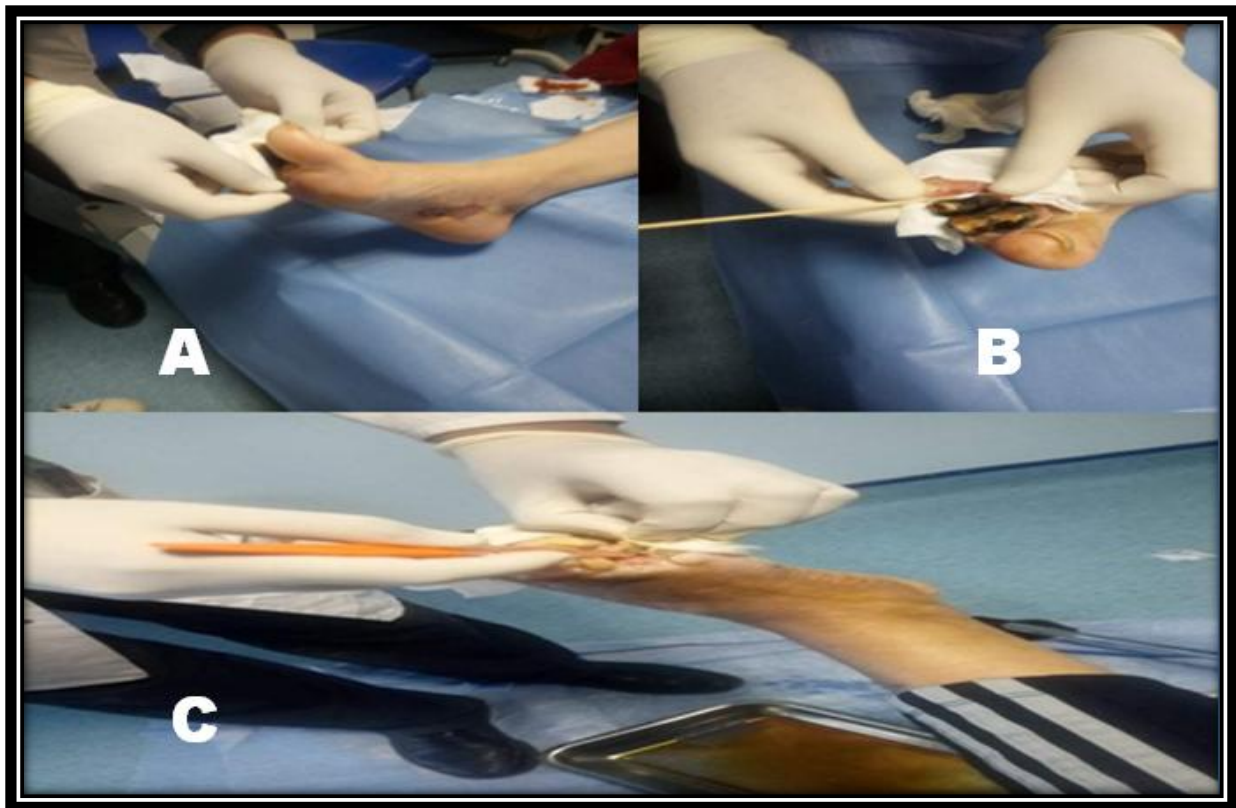


Figure 6: Techniques de prélèvement de pus

A : nettoyage de la plaie avec une compresse imbibée avec du sérum physiologique,

B : écouvillonnage, C : grattage de la peau à l'aide d'un scalpel.

Les prélèvements sont effectués au niveau du service de médecine interne. Ils doivent être identifiés par une étiquette collée sur un tube portant: le nom, le prénom, l'âge du patient ainsi que la date du recueil. Ils sont ensuite immédiatement acheminés au laboratoire de Microbiologie afin d'être analysés.

II.2. Enregistrement des échantillons

Lors de la réception des prélèvements, les informations correspondant à chaque échantillon sont enregistrées sur le registre du laboratoire et sur la feuille de renseignements en respectant le numéro d'ordre interne, le nom, le prénom, l'âge du patient ainsi que le service et l'examen demandé. Les résultats de l'examen microscopique du pus ainsi que le diagnostic sont enregistrés aussi sur le registre par la suite.

II.3. Examen direct de pus

II.3.1. Examen macroscopique

Il a une valeur importante, non seulement pour dépister les erreurs de prélèvement, mais aussi pour orienter le diagnostic bactériologique.

On observe la couleur du pus, sa consistance et son odeur. La couleur du pus varie en fonction du type de bactéries présentes. La bactérie pyogène la plus fréquente en pathologie infectieuse est le *Staphylococcus aureus*, qui produit un pus jaune crémeux. Le pus, dans les infections au bacille pyocyanique (*Pseudomonas aeruginosa*), est verdâtre, avec une odeur parfumée (Mihaela *et al.*, 2019).

II.3.2. Examen microscopique (examen cyto bactériologique)

Avec un microscope, on examine des frottis fixés et colorés. Deux écouvillons sont prélevés, le premier pour la coloration au bleu de méthylène et le second sert aux cultures.

II.3.2.1. Préparation des frottis

- **Étalement :** A partir du pus, on peut effectuer des frottis directement. On étale l'échantillon à l'aide de l'écouvillon sur la lame, en faisant attention à laisser les marges libres. Le frotti est séché à température ambiante.
- **Fixation :** C'est une étape nécessaire pour que le produit biologique (le pus) adhère à la lame, pour tuer les bactéries et pour faciliter l'absorption du colorant sur la surface de la lame.

Les frottis sont fixés avant d'être colorés, le plus souvent à la flamme. La lame est passée 3 ou 4 fois dans la flamme.

II.3.2.2. Coloration au bleu de méthylène

Les frottis fixés à la flamme sont couverts de bleu de méthylène avec un temps de réaction de 1 à 2 minutes. Après rinçage à l'eau, les frottis sont séchés et observés sous microscope à immersion.

Cet examen permet d'observer la nature des éléments cellulaires, leur état et d'observer éventuellement les bactéries, leurs forme et leurs disposition (Mihaela *et al.*, 2019).

II.3.2. Culture

Un ensemencement en stries à l'aide d'une pipette pasteur stérile est réalisé sur des milieux solides (gélés) qui doivent satisfaire les besoins nutritifs et énergétiques des bactéries à cultiver avec une technique particulière d'ensemencement (isolement orthogonal ou en quadrant) sur :

- Gélose Chapman qui est utilisée pour la sélection des bactéries halophiles du genre *Staphylococcus*, *Enterococcus* et *Bacillus*. Les boîtes sont incubées en aérobiose 18 à 24 heures.
- Gélose Hecktoen employée pour l'isolement des entérobactéries, ainsi que de nombreuses bactéries à Gram négatif, avec une incubation en aérobiose 18 à 24 heures.

-Pour l'isolement des bactéries exigeantes comme les streptocoques, les géloses au sang frais ou sang cuit (milieu chocolat) sont employées et incubées sous CO₂ (**Annexe 2**).

II.3.3. Identification

II.3.3.1. Coloration de Gram

La coloration de Gram permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne et d'utiliser ces propriétés pour les distinguer et les classer. On distingue ainsi deux grands groupes de bactéries grâce à la structure de leur paroi : Gram positif et Gram négatif (**Mihael et al., 2019**).

Coloration de Gram a été réalisée selon la méthode conventionnelle (**Annexe 3**).

II.3.3.2. Identification biochimique

II.3.3.2.1. Galerie Api 20^E

La galerie API20^E est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres à Gram négatif non fastidieux, comprenant 20 tests biochimiques miniaturisés. Ainsi qu'une base de données (**Murray et al., 1999**).

✓ Principe

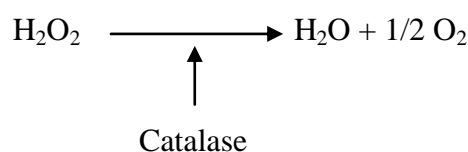
La galerie API20^E comporte 20 micro-tubes contenant des substrats sous forme déshydratée. Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide d'un tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification (**Moustardier, 1972**).

Préparation de la galerie API 20^E selon la méthode conventionnelle (**Annexe 4**).

II.3.3.3. Tests complémentaires

II.3.3.3.1. Test de la catalase

La catalase est une enzyme présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobie facultatives. Elle décompose l'eau oxygénée formée en eau et oxygène qui se dégage (**Camille, 2014**).



La recherche de la catalase est un test fondamental pour l'identification des bactéries à Gram positif (staphylocoques et streptocoques).

- **Technique**

Prendre un tube à hémolyse contenant 1ml d'eau physiologique stérile :

Prendre une quantité suffisante d'une culture bactérienne de 24 h afin d'obtenir une suspension épaisse (turbidité importante).

Ajouter 2 à 3 gouttes d'eau oxygénée à 3% sans agiter. Attendre 1 à 2 minutes avant d'observer (**Camille, 2014**).

- **Lecture**

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

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

II.3.3.3.2. Test de l'oxydase

L'oxydase ou cytochrome oxydase est une enzyme présente dans certaines chaînes respiratoire cytochromique bactérienne (**Camille, 2014**).

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

- **Principe**

Le test de l'oxydase est fondé sur la production bactérienne d'une enzyme oxydase intracellulaire.

En présence d'oxygène atmosphérique et de cytochrome C, cette enzyme oxyde le réactif pour former un composé coloré en violet, l'indophénol.

L'acide ascorbique incorporé dans le réactif (Oxydase Reagent), agit en tant qu'agent réducteur pour limiter l'auto-oxydation du réactif et améliorer la stabilité du réactif (**Camille, 2014**).

- **Technique**

Placer un morceau de papier imprégné de la N-diméthyl-paraphénylène diamine sur une lame à l'aide d'une pince flambée.

Avec une pipette Pasteur prélever une colonie sur milieu solide et la déposer doucement sur le papier.

La lecture du résultat est immédiate et sans incubation (**Meziani, 2012**).

- **Lecture**

- Si la colonie prend une teinte rose, violette, le germe possède une oxydase : le test est positif.

- Si la colonie reste incolore, le germe ne possède pas d'oxydase, le test est négatif.

II.3.3.3.3. Test de l'esculine

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

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

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

- **Principe**

L'esculine est un hétéroside, dont l'hydrolyse est catalysée par une bêta-glucosidase ; cette enzyme encore appelée esculinase, coupe la liaison glucosidique entre le glucose et l'esculétine ce dernier composé se combine avec les ions fer du citrate de fer ammoniacal pour donner un composé de coloration foncée à noire qui diffuse dans le milieu. Le test esculine est alors dit positif (Camille, 2014).

- **Technique**

Ensemencer la gélose inclinée esculine avec 2 gouttes de suspension de la culture à étudier. Incuber 24h à 37°C.

- **Lecture**

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

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

- Coloration noire : hydrolyse de l'esculine et production d'esculétine qui réagit avec le fer.

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

II.3.3.3.4. Test LATEX

Le kit Prolex™ Staph Latex contient des particules en latex de polystyrène bleu sensibilisées par du fibrinogène et des IgG. Lorsque des colonies de staphylocoques possédant de la coagulase liée (facteur d'agglutination) et / ou de la protéine A sont mélangées au réactif Latex, les particules en latex présentent une puissante agglutination dans un délai de 20 secondes.

- **Technique**

- Sortir le kit de test du réfrigérateur 10 minutes avant l'emploi et laisser les réactifs Latex atteindre la température ambiante.
- Remettre le réactif Latex en suspension en retournant plusieurs fois le flacon compte-gouttes.
- Dispenser 1 goutte de réactif Staph Test Latex sur un cercle de la carte de test.
- À l'aide d'une aiguille ou anse stérile, transférer deux colonies de l'isolat du test sur le cercle.
- Mélanger ceci dans le réactif Latex de test et étaler de manière à couvrir la totalité de la surface du cercle.
- Secouer délicatement la carte pour permettre au mélange de s'écouler lentement sur la totalité de la surface du cercle de test.
- Observer l'agglutination éventuelle pendant un maximum de 20 secondes.

- **Lecture**

Présence de coagulation (+) => *Staphylococcus aureus*.

Absence de coagulation (-) => staphylocoque à coagulase négative(SCN).

II.3.3.3.5. Milieu TSI (triple sugar iron)

La gélose TSI est utilisée pour l'identification présomptive des entérobactéries basée sur la fermentation du glucose, du lactose, du saccharose et sur la production de gaz et d'H₂S.

Le rouge de phénol est l'indicateur colorant virant du rouge au jaune pour un résultat positif. Le noircissement du culot indique la présence de H₂S.

- **Technique**

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

- **Lecture**

Le milieu de départ est translucide et rouge.

- **Culot**

Jaune : fermentation du glucose (glucose +).

Rouge ou inchangé : pas de fermentation du glucose (glucose -).

Noir : formation du sulfure d'hydrogène.

Cassure de la gélose : formation de gaz à partir du glucose.

- **Pente**

Jaune : lactose et/ou saccharose positif.

Rouge ou inchangé : lactose et/ou saccharose négatif.

II.3.4. Antibiogramme par diffusion des disques

Il s'agit d'une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques supposés ou connus (**Mihaela et al., 2019**).

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

- **Milieu pour antibiogramme**

Le milieu Mueller- Hinton (MH) doit être coulé en boîte de Pétri sur une épaisseur de 4 mm. Les géloses doivent être séchées avant l'emploi (**Rahal et al., 2014**).

- **Préparation de l'inoculum**

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

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

Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 MF ce (qui correspond à un inoculum d'environ $1 \text{ à } 2 \times 10^8$ UFC/mL pour *Escherichia coli*). Ou à une densité optique D.O de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm. L'utilisation d'un densitomètre est fortement souhaitable (**Rahal et al., 2014**).

- **Ensemencement**

Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum, puis l'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum l'écouvillon.

Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées. Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.

Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

Ensemencer dans les mêmes conditions la (ou les) souches de référence (**Rahal et al., 2014**).

- **Application des disques d'antibiotiques**

Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotique sur une boîte de Pétri de 90 mm. (Du fait du chevauchement des zones d'inhibition et pour limiter les interférences entre les antibiotiques) (CASFM ,2018).

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

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

- **Antibiotiques utilisés**

- **β -lactamines**

Pénicilline : Pénicilline G, Oxacilline, Ampicilline, Amoxicilline, Amoxicilline-acide clavulanique, Ticarcilline, Ticarcilline-acide clavulanique, Pipéracilline et Pipéracilline-acide clavulanique.

Céphalosporines : Céftazidime, Céfazoline, Céftriaxome, Céfoxitine, Céfotaxime,

Monobactame : Aztréoname.

Carbapénèmes: Imipénème.

- **Aminosides**

Amikacine, Gentamicine et Netilmicine.

- **Macrolides-Lincosamides-Streptogramines (M.L.S)**

Erythromycine, Spirampicyne, Lincomycine, Clindamycine et Pristinamycine.

- **Glycopeptides**

Teicoplanine et Vancomycine.

- **Fluoroquinolones/ quinolone**

Ofloxacin, ciprofloxacine, lévofloxacine et acide nalidixique,

- **Divers**

Acide fusidique, Chloramphénicol, Rifampicine, Fosfomycine, Triméthoprime/ Sulfamethoxazole, Linozolid, Colistine.

- **Cyclines**

Tétracycline.

- **Conditions d'incubation**

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

Remarque : il est préférable d'incuber les boîtes dans les 15 min qui suivent le dépôt des disques sans dépasser les 30 min. si elles sont abandonnées à température ambiante après le

dépôt des disques, la pré-diffusion des antibiotiques engendrera des zones d'inhibitions faussement agrandies (CASFM ,2018).

- **Lecture**

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

Pour les bactéries testées sur Mueller-Hinton simple, les mesures seront prises en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de Pétri fermée. Pour les bactéries testées sur Mueller-Hinton au sang, les mesures de diamètre de zones d'inhibition seront prises, boîte de Pétri ouverte et bien éclairée.

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

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

- **Recherche des β - lactamase à spectre étendu (BLSE) chez les entérobactéries *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter spp***

- a. Quand rechercher une BLSE**

La recherche des BLSE a pour but de déterminer la sensibilité des entérobactéries *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter spp* aux céphalosporines. Elle a un intérêt dans les études épidémiologiques et en hygiène hospitalière.

Une BLSE est déterminée par un diamètre inférieur aux valeurs suivantes (Rahal *et al.*, 2014) :

- Céfotaxime (CTX \leq 27mm)
- Céftriaxone (CRO \leq 25mm)
- Aztréonam (ATM \leq 27mm)

- b. Méthodes de détection de la BLSE**

- b.1 Test de synergie**

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

- b.1.1 Chez les entérobactéries**

- **Technique**

La recherche de BLSE se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme en déposant un disque d'amoxicilline + acide clavulanique (AMC 20/10 μ g) à 30mm (centre à centre) d'un disque de C3G [CTX (30 μ g)]. Incuber 18h à 35°C.

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

- **Lecture**

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

- AMC et CTX (AMC et TIO).
- AMC et CAZ.
- AMC et ATM (Rahal *et al.*, 2014).

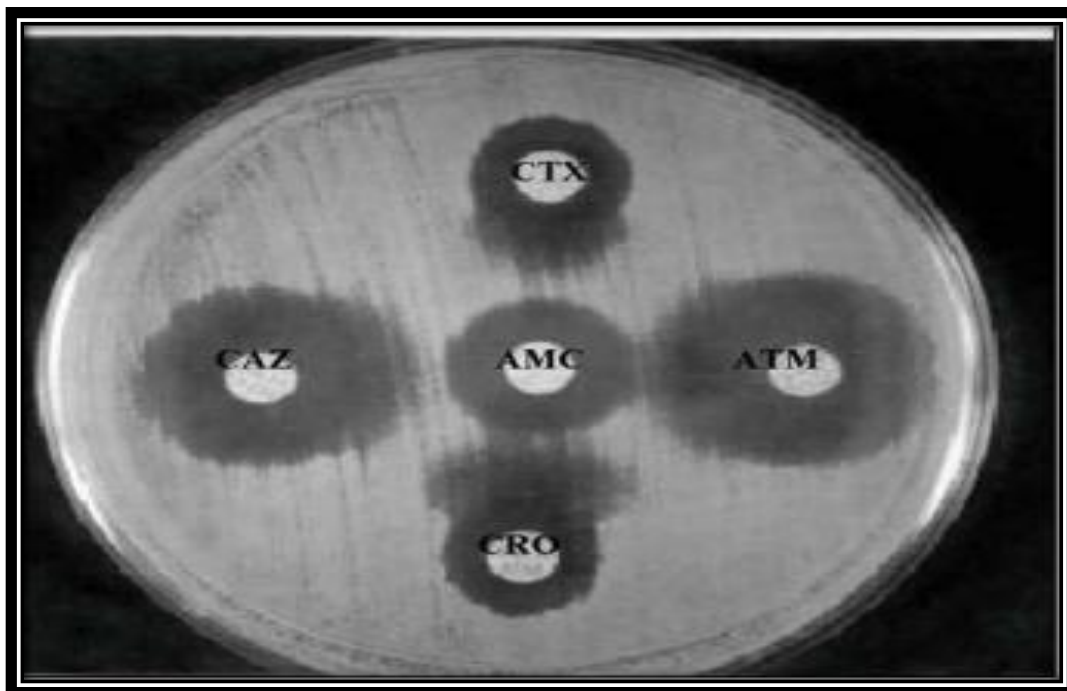


Figure 7 : Souche de *Klebsiella pneumoniae* productrice des BLSE (Rahal *et al.*, 2014)

Remarque: Chez *P.mirabilis*, *P.vulgaris*, *Morganella morganii*, *Providencia stuartii*, les BLSE s'expriment à bas niveau dans ce cas le test de synergie est optimisé en disposant les disques à une distance de 40 à 50 mm au lieu de 30 mm (Rahal *et al.*, 2014).

b.1.2 *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter Spp.*

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

- **Technique**

La recherche de la BLSE se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme en déposant un disque de ticarcilline plus acide clavulanique (TCC 75/10 μ g) à 30mm (centre à

centre) d'un disque de C3G : céftazidime (CAZ 30 μ g), aztréonam (ATM 30 μ g), céfépime (FEP 30 μ g)

Incuber 18 h à 35°C (Rahal *et al.*, 2014).

- **Lecture**

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

-TCC et CAZ

-TCC et ATM

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

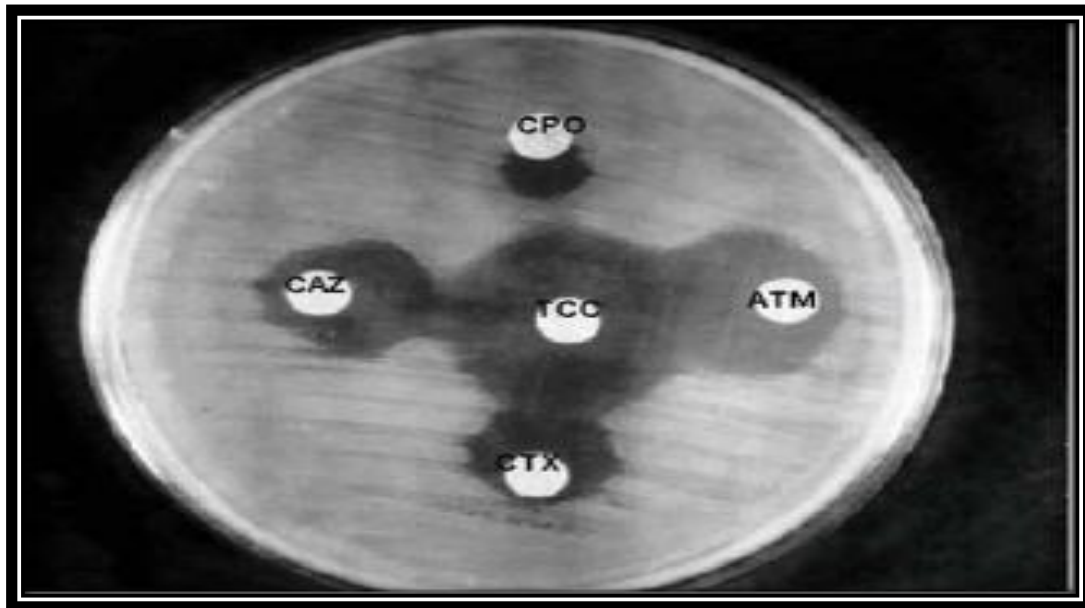


Figure 8 : *Pseudomonas aeruginosa* productrice des BLSE (Rahal *et al.*, 2014)



Résultats et discussion



I. Partie expérimentale

I.1. Examen cytobactériologique du pus

I.1.1. Examen cytologique

- **Coloration au bleu de méthylène**

L'observation des frottis colorés au bleu de méthylène sous microscope optique nous a permis de révéler les caractéristiques des bactéries (forme, taille et disposition), ainsi que l'abondance des polynucléaires neutrophiles (PNN) (rares, assez nombreuses, très nombreuses).

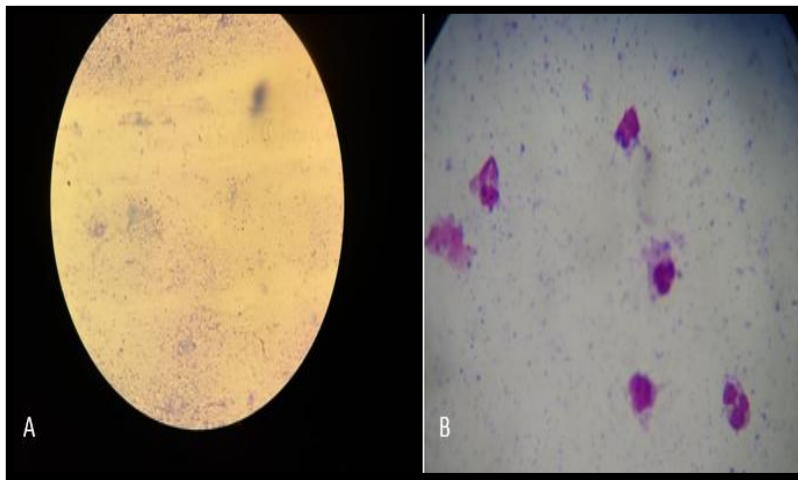


Figure 9 : Observation microscopique après coloration au bleu de méthylène (X100)

A : observation microscopique des bactéries, B : observation microscopique des polynucléaires neutrophiles (PNN)

I.2. Examen bactériologique

I.2.1. Observation des cultures et différenciation des colonies

La première étape du diagnostic bactérien est la description macroscopique des colonies. Après l'isolement des souches à partir de différents prélèvements, nous avons pu voir différents caractères (Figure10).

L'aspect des colonies dépend du milieu utilisé, de la durée et de la température d'incubation.

Parmi les caractères observés on trouve :

- **La forme des colonies** : Rondes, irrégulières et envahissantes.
- **Le relief** : On observe des colonies bombées, plates ou en vagues concentriques.
- **Le contour** : régulier ou irrégulier.
- **La taille** : ponctiformes, petites colonies, moyennes, ou grosses.
- **La surface** : lisse ou rugueuse.

- **La couleur :** peut-être naturelle (pigment) ou due à une coloration ou un indicateur de pH présent dans le milieu.

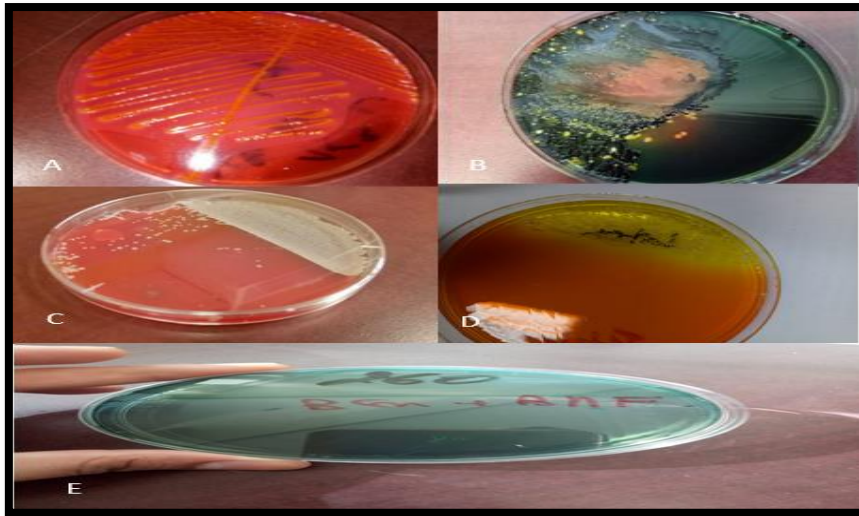


Figure 10 : Aspect des colonies des bactéries isolées

A : *Acinetobacter spp*, B : *Proteus mirabilis*, C : *Streptococcus Spp*, D: *Staphylococcus aureus*, E : *Pseudomonas aeruginosa*

I.2.2. Coloration de Gram

L'observation microscopique après coloration de Gram nous a révélé la présence de différentes formes bactériennes. Les bactéries à Gram positif apparaissent colorées en violet et les bactéries à Gram négatif en rose.

I.2.3. Test complémentaires

Grace aux tests biochimiques, il est possible de connaître certaines caractéristiques du métabolisme des bactéries analysées.

A. Recherche de l'oxydase

La réaction positive s'est traduite par l'apparition d'une coloration violette à l'endroit où la colonie a été déposée (Figure 11), soit immédiatement ou bien quelques secondes après.

Les résultats obtenus étaient les suivants : Les entérobactéries et *Acinetobacter spp* étaient dépourvues d'oxydase (pas de coloration), donc elles sont oxydase négative. Par contre *Pseudomonas aeruginosa* s'est révélée oxydase positive.



Figure 11 : Test oxydase positif

B. Recherche de la catalase

La réaction positive de la catalase est mise en évidence par un dégagement gazeux immédiat résultant de la décomposition de l'eau oxygénée (Figure12).

Toutes les entérobactéries et les staphylocoques sont des catalases positives, par contre les streptocoques sont des catalase négative.



Figure 12 : Test catalase positif

C. Test de latex

Une réaction est positive lorsqu'il y a formation d'agrégats uniquement avec le latex test, visibles à l'œil nu sous un éclairage normal, en moins de 30 secondes.

Dans le cas d'une réaction négative, la suspension ne présentera pas d'agrégats.

D. Test de TSI

- Bacilles non fermentaires (*Pseudomonas /Acinetobacter*) pas de fermentation des sucres (glucose, lactose, saccharose)
- Entérobactéries : fermentation des sucres (glucose, lactose et/ou saccharose) avec production de gaz et de l'H₂S chez certaines espèces (Figure13).

Tableau 5 : Identification présomptive des entérobactéries basée sur la fermentation des sucres

Bactéries testées	Culot	Pente	Dégagement de gaz		Production de H ₂ S
<i>E. coli</i>	Jaune	Jaune	+		-
<i>Providencia spp</i>	Jaune		Rouge	-	-
<i>Proteus spp</i>	Jaune		Rouge	+	+
<i>Serratia</i>	Jaune		Jaune	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Jaune		Jaune	-	+
<i>Citrobacter freundii</i>	Jaune		Jaune	+	+

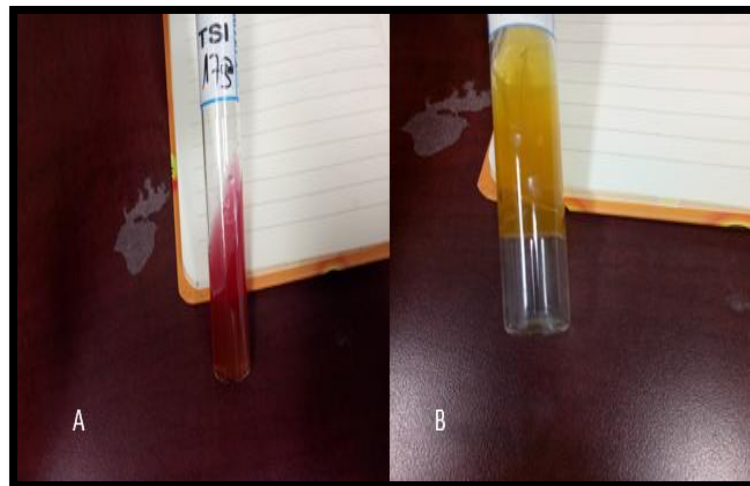


Figure 13 : Test TSI

A : Test TSI négatif, B : Test TSI positif

F. Test de l'esculine

Les entérocoques peuvent hydrolyser l'esculine en esculétine et glucose dans le milieu pour former un complexe brun-noir correspondant à une réaction positive (Figure14).



Figure 14: Test de l'esculine positif

I.2.4. Résultat de la galerie API20^E

La galerie API20^E nous a permis une identification rapide et précise des bactéries isolées à partir des échantillons.

Après incubation, la détermination de la positivité et la négativité de chaque test de la galerie Api20^E est observée par réaction colorimétrique (Figure15). Certains résultats sont lus directement et d'autres sont lus après l'ajout de réactifs spécifiques (Tableau 6).

Tableau 6: Caractères biochimiques des entérobactéries

	mobilité	lactose	ONPG	ADH	LDC	ODC	Citrate (Simmons)	H ₂ S	uréase	PDA ou TDA	Indole	VP	Gélatinase	mannitol	saccharose	RM	DNans
<i>E.coli</i>	+	+	+	-	+	V	-	-	-	-	+	-	-	+	v	+	-
<i>Citrobacter freundii</i>	+	V	+	V	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	v	+	-
<i>Klebsiella pneumoniae</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>Morganella morganii</i>	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-

ONP G : Orthonitrophényl-β-galactoside, ADH : Arginine dihydrolase LDC : Lysine décarboxylase, ODC : Ornithine décarboxylase, H₂S : Thiosulfate de sodium, PDA /TDA : Tryptophane désaminase, VP : Pyruvate de sodium, RM : L-rhamnose.

En se basant sur nos différents résultats et en les comparants avec les résultats de l'équipe de laboratoire, nous avons pu isoler les espèces bactériennes suivantes:

Tableau 7 : Les espèces bactériennes isolées à partir des plaies infectées du pied chez les diabétiques

Bactéries	Caractéristiques des colonies	Observation microscopique
<i>Staphylococcus aureus</i>	<p>Sur le milieu Chapman les colonies apparaissent arrondies, à bords réguliers, bombées, luisantes, opaques, à contours nets. La majorité entre elles sont pigmentées avec une coloration ocre-jaune parfois elles apparaissent avec une teinte blanche porcelaine.</p> <p>Sur gélose au sang cuit les colonies ont une couleur blanche ou jaune pigmentée d'un diamètre variant entre 1 à 3 mm.</p>	Cocci à Gram positif, isolées ou groupées en diplocoque ou en amas ayant la forme de grappes de raisins, de 0,8 à 1 µm de diamètre.
<i>E.coli</i>	<p>Sur le milieu Hektoen les colonies apparaissent arrondies, lisses, à bords réguliers, de couleur crème de 2 à 3 mm de diamètre.</p>	Bacille à Gram négatif droit à bout arrondi, mesurant 0,3 à 1 µm de diamètre sur 1 à 6 µm de long, non sporulé, parfois capsulé, il possède une ciliature péritriche pour les espèces mobiles.

<p><i>Proteus mirabilis et Proteus vulgaris</i></p>	<p>Des colonies grosses envahissent la gélose Hektoen en formant des vagues concentriques (swarming), cette propriété est liée à la mobilité de ces bactéries, qui ne se produit pas sur les milieux dépourvus de NaCl et sur les milieux sélectifs dépourvus de sels biliaries.</p>	<p>Bacille à Gram négatif, généralement très mobile, polymorphe, mesurant de 0,4 à 0,8 µm de diamètre sur 1 à 80 µm de longueur, très flagellé.</p>
<p><i>Pseudomonas aeruginosa</i></p>	<p>Les colonies sont facilement distinctives grâce à la production de la pyocyanine, un pigment bleu-vert diffusible dans le milieu extracellulaire, elle est caractérisée par une odeur florale</p>	<p>Bacille a gram négatif, non sporulant de forme droite ou légèrement courbée. Il mesure de 1 à 5 µm de long et de 0,5 à 1 µm de large, mobile grâce à la présence d'un flagelle monotriche polaire.</p>
<p><i>Klebsiella pneumoniae</i></p>	<p>Donnent de grosses colonies bombées, brillantes, muqueuses, lisses parfois filantes à l'anse de platine ayant un aspect gras et coulant, d'un diamètre de 3 à 4 mm sur un milieu solide</p>	<p>Bacille à Gram négatif, de 0,3 à 1 µm de diamètre sur 0,6 à 6 µm de longueur, immobile, capsulé, non sporulé, se présentant de manière isolés ou groupés en deux ou en courte chaîne.</p>

<i>Streptococcus. spp</i>	Sur gélose au sang il donne de petites colonies grisâtres, translucides, en grain de semoule, entourées d'une zone hémolyse totale (hémolyse bêta) pour les streptocoques du groupe A, tandis que les autres streptocoques donnent une hémolyse partielle (hémolyse alpha) ou pas d'hémolyse du tout.	Cocci à Gram positif de taille et de forme irrégulière, avec un diamètre varier entre 0,5 et 1 µm, groupé en chaînette ou en diplocoque plus au moins longue et flexueuse, immobile, non sporulé et rarement capsulé.
---------------------------	---	---

Selon la littérature clinique, les infections du pied chez le diabétique sont colonisées généralement par les bacilles Gram positif, Gram négatif et les anaérobies (Maroselli, 2016). Même s'il est difficile de faire la distinction entre les germes pathogènes et non pathogènes, on peut noter que *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus A* et *B*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* et *Clostridium* sont les plus fréquemment observés. (Levanic, 2008).

Nos résultats sont similaires de ceux de Bounekdjia et Zarzi en 2019 sur les caractérisations des bactéries associées à l'infection du pied diabétique au niveau de l'HMRUC, qui ont isolés les bactéries suivantes *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*, *Streptococcus spp*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Enterococcus spp* et *Klebsiella pneumoniae*.

(Badri et tahri, 2016) ont isolés les espèces suivantes : *Providencia stuartii*, *Enterobacter gergoviae*, *Klebsiella ornithinlytica*, *Enterobacter sakazakii*, *Kluyvera spp*, *Chryseomonas luteola*, *Flavimonas horyzigabita*. Ces résultats sont contradictoires aux nôtres.

I.2.5. Les résultats de l'antibiogramme

Chaque souche identifiée a été soumise à un antibiogramme afin de déterminer la sensibilité aux différents antibiotiques testés. Après incubation à 37°C pendant 18 à 24 heures, les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés avec précision (Figure 16), ensuite ils sont comparés aux valeurs critiques (Annexe 8).

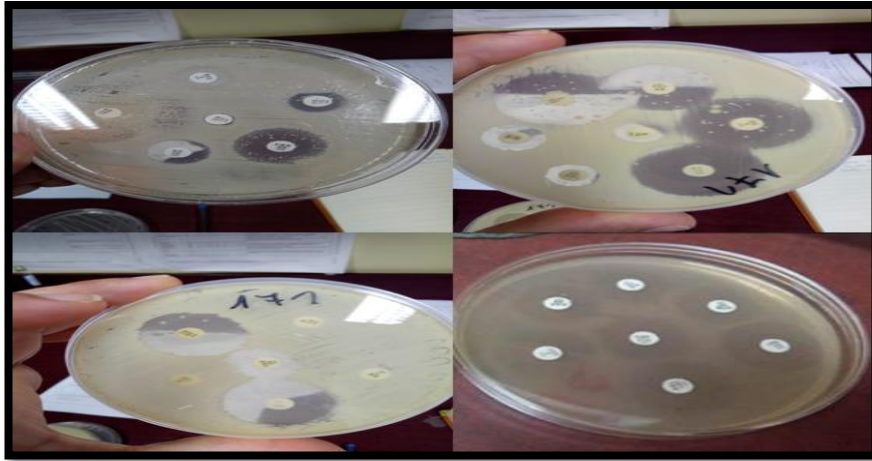


Figure16 : Profil de résistance ou de sensibilité des bactéries isolées aux antibiotiques

Selon la littérature, les entérobactéries sont fréquemment impliquées dans des infections communautaires et nosocomiales. Elles sont généralement traitées par les β -lactamines (pénicillines, céphalosporines à large spectre et carbapénèmes) ou encore par les fluoroquinolones. Depuis environ 20 ans, on observe une augmentation des résistances des entérobactéries à ces antibiotiques. Elles peuvent être naturellement résistantes (les Klebsielles sont naturellement résistantes à l'ampicilline) ou acquérir cette résistance par mutation chromosomique ou par acquisition de matériel génétique sous forme de plasmide, ce qui est le cas le plus fréquent (**Pierrot, 2015**).

Les entérocoques sont naturellement résistants aux céphalosporines et la majorité des souches d'*Enterococcus faecalis* sont sensibles à l'ampicilline. Les premières souches d'*E. faecium* présentant un haut niveau de résistance aux glycopeptides (vancomycine et teicoplanine) ont été rapportées en France en 1987 (**Pierrot, 2015**).

Depuis 10 ans on note une augmentation de la fréquence de multi-résistance (définie pour *Pseudomonas aeruginosa* comme une diminution de sensibilité à au moins 3 classes d'antibiotiques). Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* multi-résistante (PAMR) cumulent le plus souvent plusieurs mécanismes de résistance et provoquent des infections parfois graves. Certaines souches sont devenues toto-résistantes, c'est-à-dire résistantes à tous les antibiotiques disponibles. Ce dernier cas est encore rare mais le phénomène est en augmentation (**Pierrot, 2015**).

II. Analyse statistique

II.1. Répartition des patients selon les tranches d'âge

Notre étude portée sur 307 patients hospitalisés au niveau du service de médecine interne à l'HMRUC, montre que les patients âgés entre 60 et 70 ans sont les plus exposés aux infections du pied diabétique avec un pourcentage de (5,54%) (Figure 17).

D'après la méta-analyse de Zhang, publiée en 2017, les diabétiques âgés font des ulcérations plus que les patients non diabétiques du même âge (**Zhang et al., 2017**).

La majorité des patients hospitalisés étaient âgés de plus de 52 ans, ce qui concorde avec le travail réalisé par **Labani** en 2016 au Maroc, qui a montré une dominance de la tranche d'âge (60-70) (45%).

L'âge moyen des patients est 68 ans (extrême de l'âge : 52 et 89 ans). Notre résultat est proche de celui obtenu à l'hôpital militaire de Rabat en 2015, dont l'âge moyen était de 64,4 ans (**Zemmouri et al., 2015**).

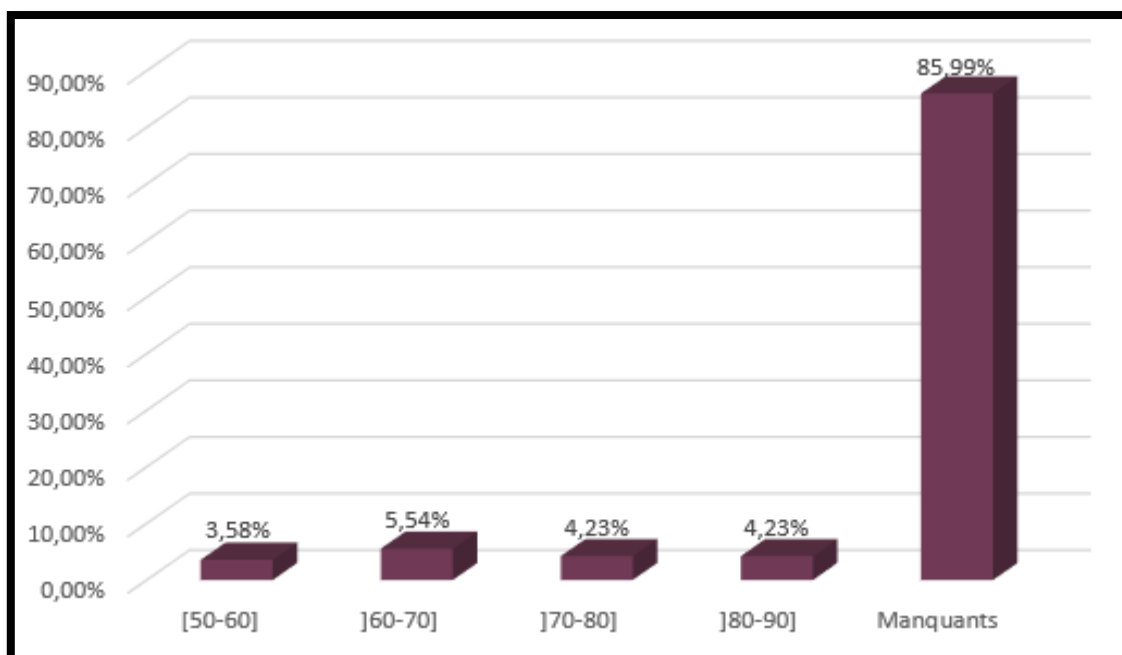


Figure 17: Répartition des patients selon les tranches d'âge (n=307)

II.2. Répartition des patients selon le sexe

Dans notre étude, on a trouvé un pourcentage de (86%) (264 cas) qui appartiennent au sexe masculin, alors que le sexe féminin représente uniquement (14 %) (43 cas) (Figure 18).

Ce résultat révèle que les infections du pied diabétique sont majoritaires chez les hommes avec un sex-ratio (H/F) de 6,13. Cette prédominance pourrait s'expliquer par le fait que la structure est militaire, et que le recrutement est presque exclusivement masculin. Par ailleurs

dans la vie quotidienne, l'exposition des hommes aux traumatismes est plus élevée par rapport aux femmes. Néanmoins, les femmes sont plus assidues et minutieuses dans les soins.

Les résultats d'une étude menée par (**Awalou et al., 2015**) sur l'aspect épidémiologique, diagnostic, thérapeutique du pied diabétique au Togo sont semblables à nos résultats (58,10%).

Ce résultat est également confirmé par l'étude réalisée par (**Aliou et al., 2014**) avec des pourcentages de (58,70%) et (41,30 %) respectivement.

Le sexe ratio est de 6,13, ceci s'explique par le fait que le centre hospitalier est militaire. Ce résultat est plus élevé par rapport à l'étude réalisée par (**Awalou et al., 2015**) qui a montré que le sexe ratio est de 1,38.

Au Mali (**Diarra, 2007**) a enregistré des résultats contradictoires aux nôtres dont le sexe féminin été le plus élevé avec (65%) et un sex-ratio égal à 0,54.

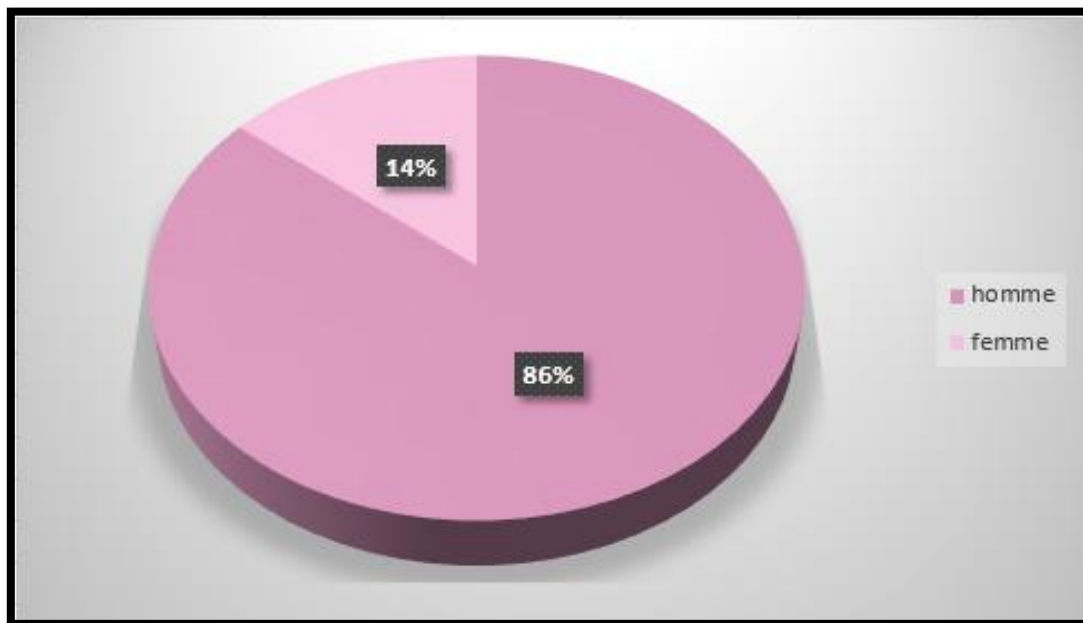


Figure 18 : Répartition des patients selon le sexe (n=307)

II.3. Répartition des échantillons selon le résultat de la culture

Parmi les 307 prélèvements de pus analysés, 280 donnent une culture positive (91 %) et 19 négatives (6%) (Figure 19).

Selon (**Ha Van, 2002**) les prélèvements, bactériologiques des plaies du pied diabétique sont dans la plupart des cas positifs. Dans le cas négatif, il peut s'agir d'un germe exigeant qui nécessite des milieux de cultures spéciaux et une atmosphère spéciale (**Denis et al., 2007**).

D'après (**Grimaldi, 2005**) si l'antibiothérapie est installée en urgence avant le prélèvement, elle sera susceptible de couvrir les germes en cause.

Une étude réalisée à l'HMRUC en 2018 par **Mezhoud et Khalfallah**, a montré que le nombre de cultures positives reste toujours prédominant avec (70,86 %) ce qui concorde avec nos résultats.

De même, au Maroc (**Aich, 2017**) a enregistré cette prédominance avec (70%) et (30%) respectivement.

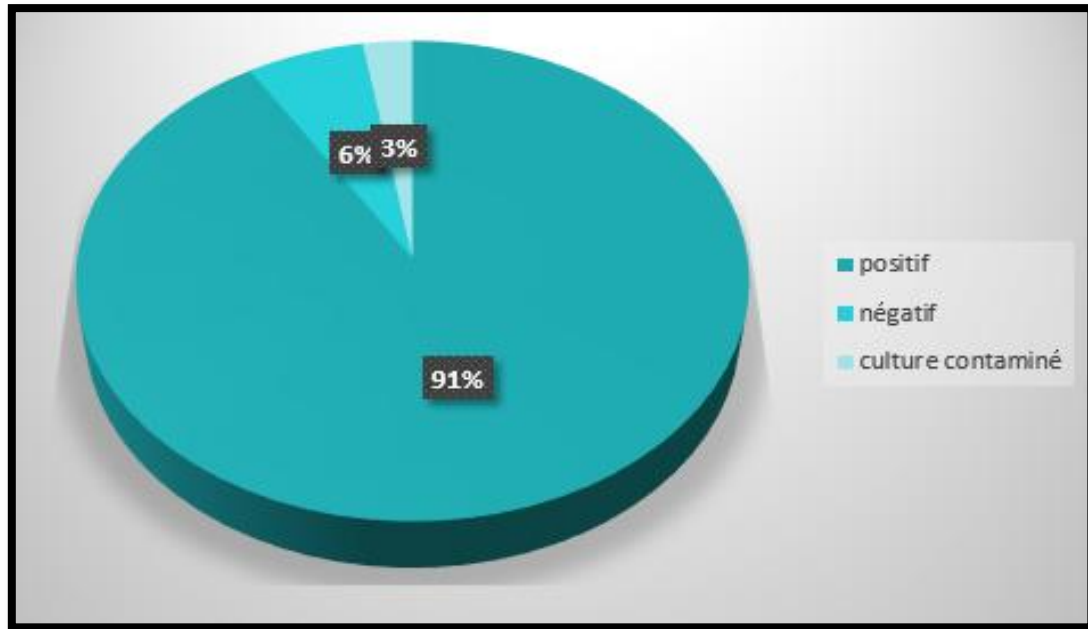


Figure 19 : Répartition des échantillons selon le résultat de la culture (n=307)

II.4. Répartition des cultures positives selon le caractère mono et poly-microbien

Parmi les 280 cultures positives, 68 (24%) sont poly-microbiennes et 212 (76%) sont mono-microbiennes (**Figure 20**). Ce pourcentage dépend du type et de la sévérité de l'infection, ainsi que la zone géographique et le climat.

Nos résultats sont confirmés par (**Tiwari et al., 2012**) en Inde qui ont montré que les cultures sont souvent mono- microbiennes avec un pourcentage de (43,5%).

Contrairement à nos résultats, (**Amarir, 2014**) a trouvé que les cultures poly-microbiennes étaient dominantes avec un pourcentage de (52,94%).

De même, (**Diane et al., 2007**) ont trouvé un pourcentage égal à (83,8%) des cultures poly-microbiennes.

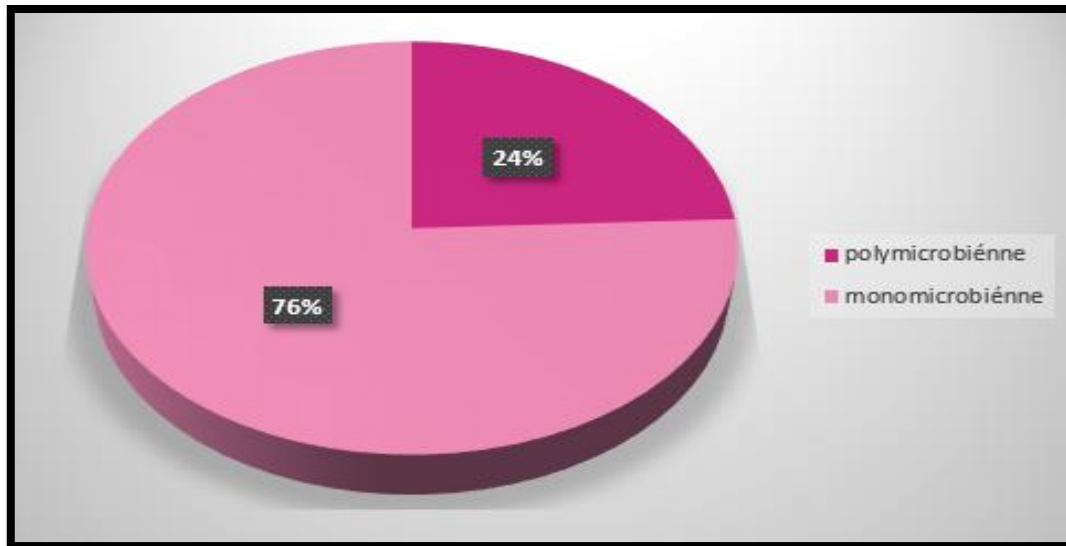


Figure 20: Répartition des cultures positives selon le caractère mono et poly-microbien (n=280)

II.5. Répartition des données selon la bactérie la plus fréquente

Dans notre étude, 341 bactéries responsables des infections du pied diabétique sont isolées. La prédominance de l'espèce *Staphylococcus aureus* est notée parmi les isolats avec un pourcentage de 19,94% suivi par *Proteus mirabilis* (12,90%), *E. coli* (12,02%), *Klebsiella pneumoniae* (10,56%), *Enterococcus spp* (9,68%), *Pseudomonas aeruginosa* (9,09%), *Proteus spp* (6,74%), *Proteus vulgaris* et staphylocoque à coagulase négative (4,69%), *Morganella morganii* (3,81%), *Enterococcus cloacae* (2,64%), *Streptococcus spp* (2,35%), *Providencia spp* (2,05%), *Citrobacter spp* et *Citrobacter freundii* (1,74%), *Enterobacter spp* (1,17%), *Enterococcus faecalis* qui est la bactérie la moins isolée avec un pourcentage de (0,59%) (Figure 21).

La prédominance de *S. aureus* pourrait s'expliquer par le fait que cette dernière est une bactérie colonisatrice de la peau.

Ces résultats sont confirmés par l'étude de (Taghi Akhi *et al.*, 2015) en Iran, qui indique que la bactérie la plus fréquente est *S.aureus* avec un pourcentage de 23% suivi par la famille des *Enterobacteriaceae*(24%).

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

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

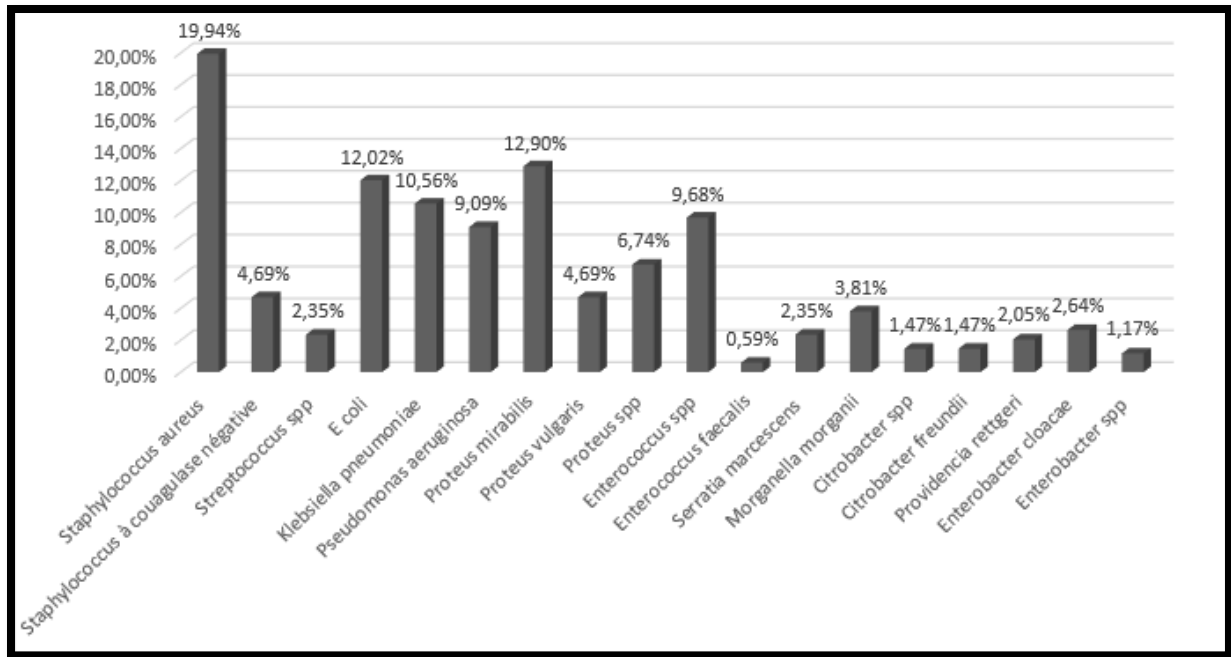


Figure 21 : Répartition des données selon la bactérie la plus fréquente (n=280)

II.6. Répartition des bactéries isolées selon le Gram

Parmi les 341 bactéries isolées, on a noté une prédominance des bactéries Gram négatif avec un pourcentage de (66%) contre (34%) des bactéries Gram positif (figure 22).

Ce résultat est probablement interprété par le fait que les bactéries Gram négatif sont les plus pathogènes par rapport au Gram positif, à la prise préalable des antibiotiques ou aux pratiques d'hygiène personnelle ou de chaussage.

Selon l'étude de (**Tiwari et al., 2012**) en Inde du nord et **Al Benwan** au Koweït en 2011, les bactéries à Gram négatif étaient les plus répondues dans l'infection du pied diabétique, ce qui est en concordance avec nos résultats. Cependant, l'étude de (**Sharma. et al., 2006**), en Inde indique que les bactéries Gram positif occupent le plus grand pourcentage (38,4%). (**Karakkattu et al., 2014**) ont noté également que les bactéries à Gram positif occupent la première place.

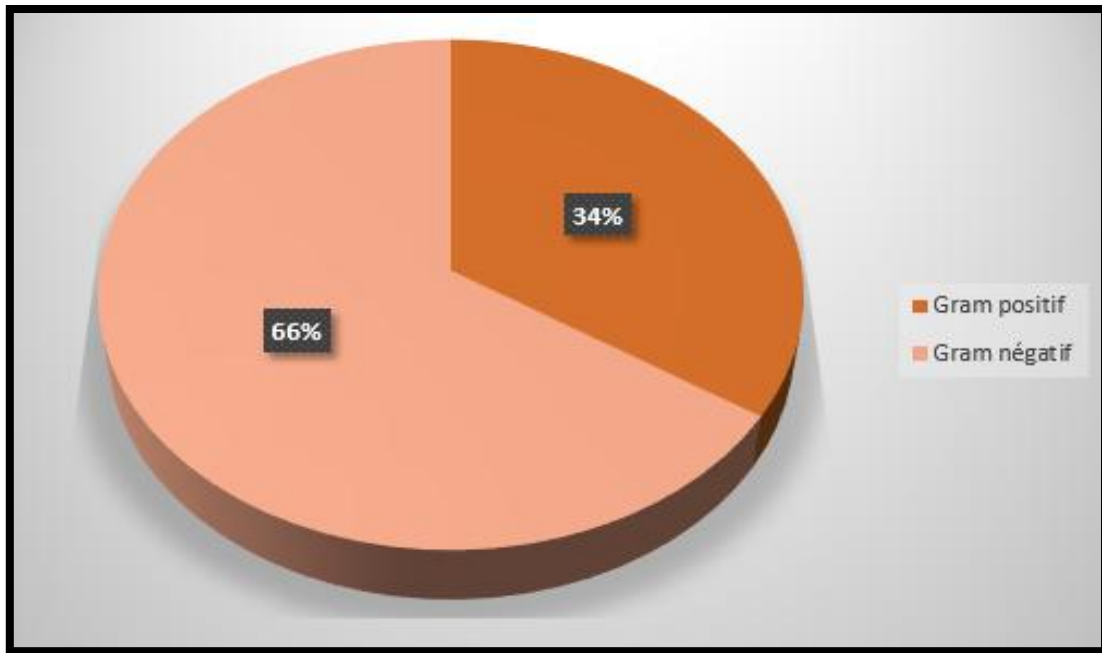


Figure 22 : Répartition des bactéries isolées selon le Gram (n=341)

II.7. Répartition des bactéries isolées en fonction de la famille

Le nombre de bactéries isolées est réparti en 5 familles différentes. Le taux des bactéries appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* était le plus réponde dans cette étude avec un pourcentage de (56%), suivi des *Staphylococcaceae* (23%), *Enterococcaceae* (9%) et *Pseudomonadaceae* (8 %), *Moraxellaceae* et *Streptococcaceae* (2%) (Figure 23).

Selon la littérature, le *Staphylococcus aureus* est le pathogène le plus fréquemment isolé dans les infections du pied diabétique. Cependant, le taux de *Staphylococcus aureus* dans notre étude reste relativement faible par rapport à celui noté par (Richard *et al.*, 2011). Cette différence serait liée à la proportion importante des *Enterobacteriaceae* dans notre étude.

Nos résultats sont proches de ceux rapportés par (Labani, 2016) au Maroc, qui a trouvé que la répartition des bactéries par familles a révélé la prédominance des entérobactéries suivies par les staphylocoques.

Ce résultat est très proche à celui de (Naouli, 2018) avec un pourcentage de (40%) des *Enterobacteriaceae* et (23%) de la famille des *Staphylococcaceae*.

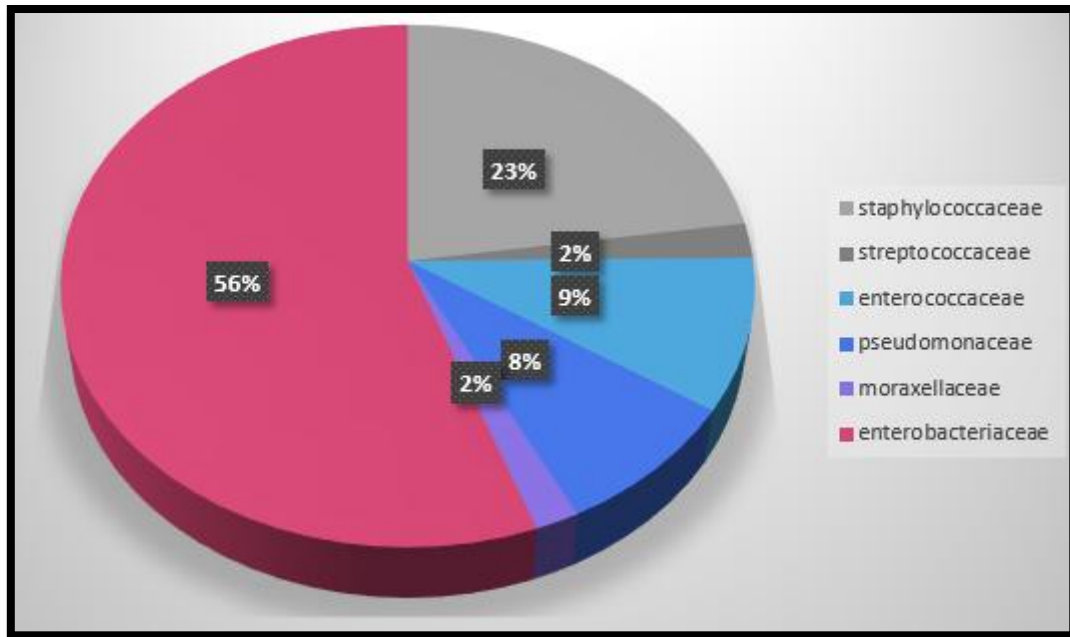


Figure 23 : Répartition des bactéries isolées en fonction de la famille.

II.8. Répartition des entérobactéries responsables des infections du pied diabétique

Parmi les entérobactéries responsables de l'infection du pied diabétique, la bactérie la plus dominante était *Proteus mirabilis* avec un pourcentage de (21,36 %), suivi d'*E. coli* (19,90%), *Klebsiella pneumoniae* (17,48 %), *Proteus spp* (11,17%), *Proteus vulgaris*. (7,77 %), *Morganella morganii* (6,31%), *Enterobacter cloacae* (4,37%), *Serratia marcescens* (3,88%), *Citrobacter spp* et *Citrobacter freundii* (2,43%), ainsi que d'autres bactéries avec un pourcentage inférieur à (2%) (Figure 24).

Nos résultats sont différents de ceux indiqués par (Labani, 2016), qui a trouvé que la souche d'*E. coli* est la plus prédominante, constituant (42,1 %) des entérobactéries, suivie de *Klebsiella pneumoniae* (13,15%), *Enterobacter cloacae* et *Proteus mirabilis* avec (10,52 %) pour chacune, ainsi que d'autres bactéries avec un faible pourcentage.

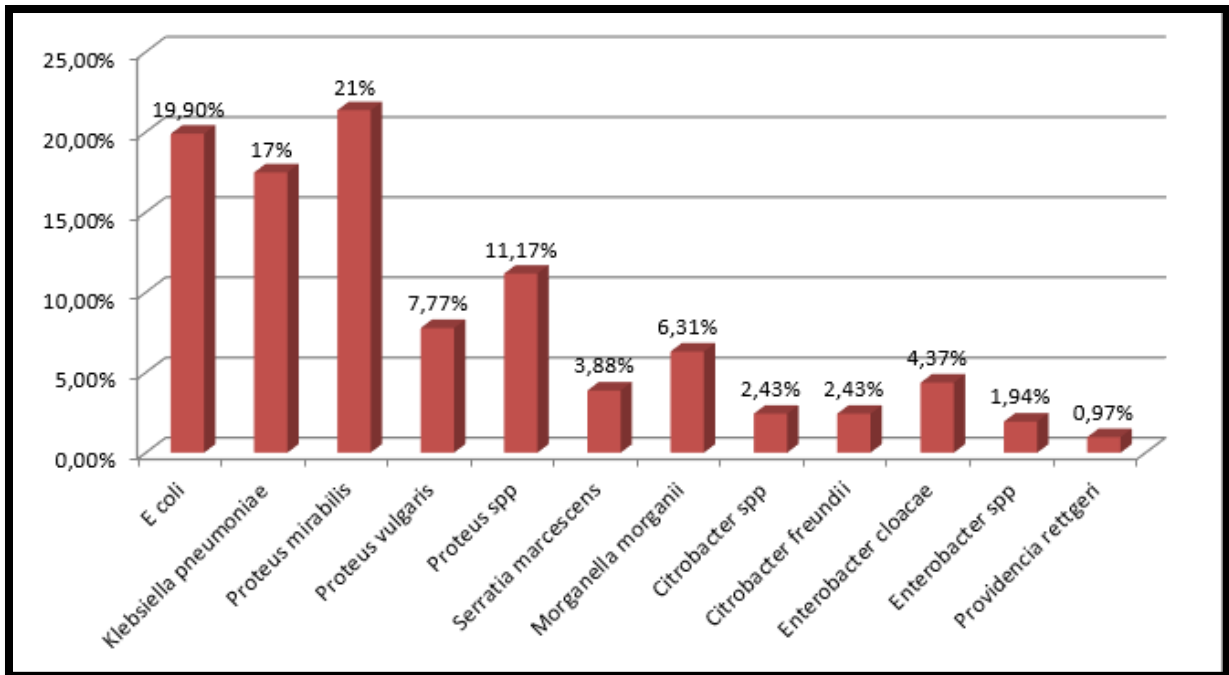


Figure 24 : Répartition des entérobactéries responsables des infections du pied diabétique

II.9. Profil de résistance des bactéries aux antibiotiques

II.9.1. La résistance aux antibiotiques en fonction de la famille

Les résultats portés par la figure 25 montrent que la famille des *Enterobacteriaceae* présente un taux de résistance aux antibiotiques élevé (44%), suivi par la famille des *Enterococcaceae* (43%) puis les *Staphylococcaceae* (31%) et en fin les *Pseudomonadaceae* (11%).

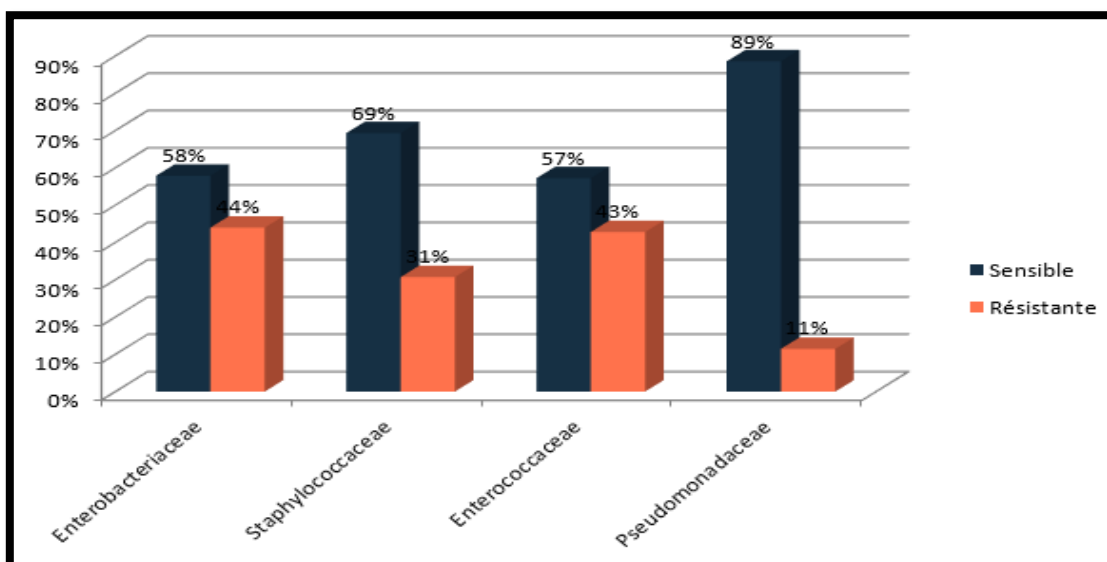


Figure 25 : Profil de résistance des bactéries aux antibiotiques selon les familles

II.9.2 Profil de résistance de *Staphylococcus aureus*

Les résultats portés sur la figure 26 montrent que *Staphylococcus aureus* présente des taux de résistance élevés vis-à-vis des β -lactamines: Pénicilline G (Péni G) (100%), Oxacilline (OX) (77%) et Céfoxitine (FOX) (72%). Un taux de résistance à Pristinamycine (PT) (83%), Ofloxacine (FOX) (68%) et Acide fusidique (67%). Elle semble moins résistante à l'action des Aminosides : Amikacine (AN) (47%) et Gentamicine (GEN) (44%). Les antibiotiques les plus actifs sur nos isolats sont : les glycopeptides (Vancomycine (VA) et Teicoplanine (TEC), Fosfomycine (FOS) et Linézolide (LZD) avec une sensibilité totale.

Nos résultats sont proches de ceux de (Lbani, 2016) qui a trouvé un taux de résistance très élevé aux bêtalactamines. Ceci peut être expliqué par les antécédents peu fréquents d'hospitalisation pour les lésions des pieds diabétiques qui augmente le risque de transmission des bactéries multirésistantes (Guira *et al.*, 2014).

Ce résultat reste confirmé par (Citron *et al.*, 2007) qui ont trouvé que les Vancomycines et les Linozolidés sont les antibiotiques les plus actifs sur *S.aureus*.

Les résultats obtenus par (Gasmi et Sahraoui, 2018) dans leur étude sur l'antibiorésistance des souches bactériennes impliquées dans les infections du pied diabétique, sont contradictoires aux nôtres. Ces auteurs ont souligné la résistance des *S. aureus* à la vancomycine (68%).

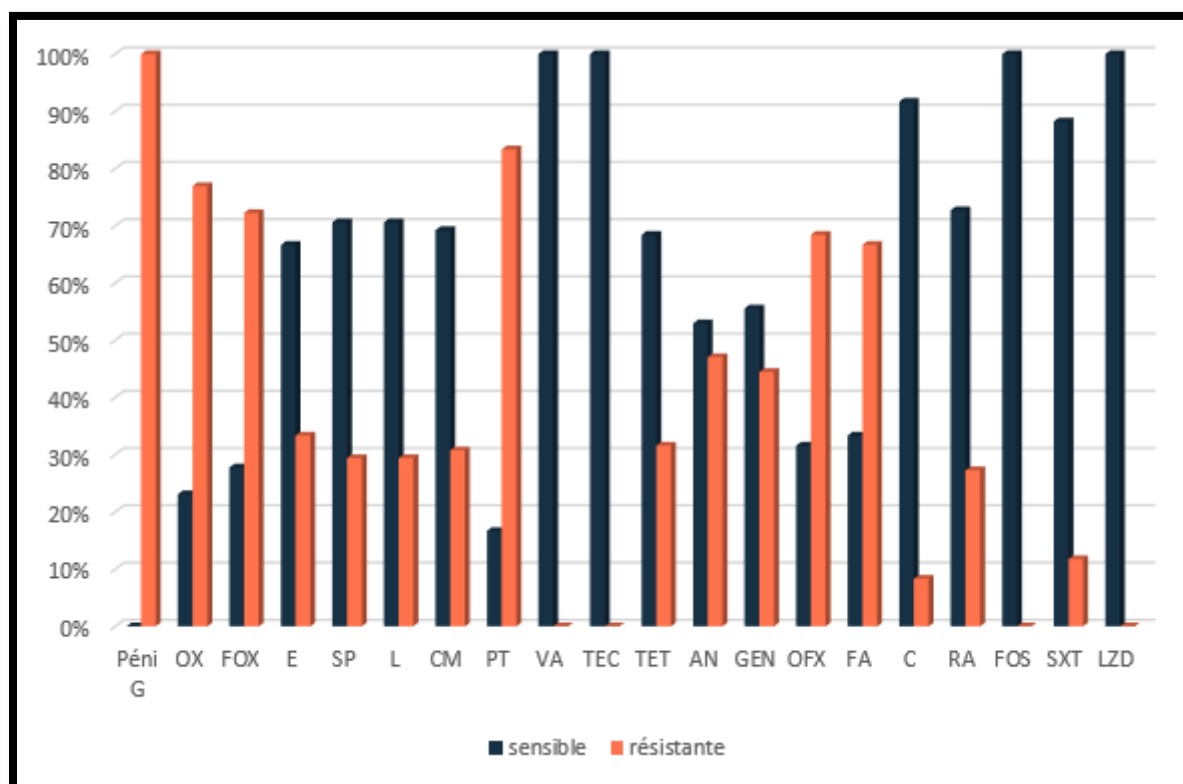


Figure 26 : Profil de résistance de *Staphylococcus aureus* (n=16)

Péni G : Pénicilline G, OX : Oxacilline, FOX : Céfoxitine, E : Erythromycine, SP : Spirampicyne, L : Lincomycine, CM : Clindamycine, PT : Pristinamycine, VA : Vancomycine, TEC : Teicoplanine, TET : Tétracycline, AN : Amikacine, GEN : Gentamicine, OFX : Ofloxacine, FA : Acide fusidique, C : Chloramphénicol, RA: Rifampicine, FOS : Fosfomycine, SXT : Triméthopriime/ Sulfaméthoxazole, LZD : Linézolide.

II.9.3. Profil de résistance de staphylocoque à coagulase négative

La figure 27 montre que les souches de Staphylocoques à coagulase négative (SCN) isolées affichent une résistance totale à l’Oxacilline (OX), également une résistance importante vis-à-vis de la Céfoxitine (FOX) et l’Erythromycine (E) à (67%). Par contre elles présentent une sensibilité totale vers les autres antibiotiques.

Une très bonne corrélation avec nos résultats a été observée dans l’étude de (Desroches *et al.*, 2013) en France, sur la résistance aux antibiotiques des *S. aureus* résistants à la méticilline et staphylocoques à coagulase négative isolés d’infections ostéo-articulaires, qui ont trouvé que SCN sont sensibles à la majorité des ATB sauf l’Oxacilline.

Contrairement à notre étude, (Lbani, 2016) a trouvé que les SCN présentent une résistance vis-à-vis la majorité des antibiotiques testés, sauf la Vancomycine et l’acide fusidique.

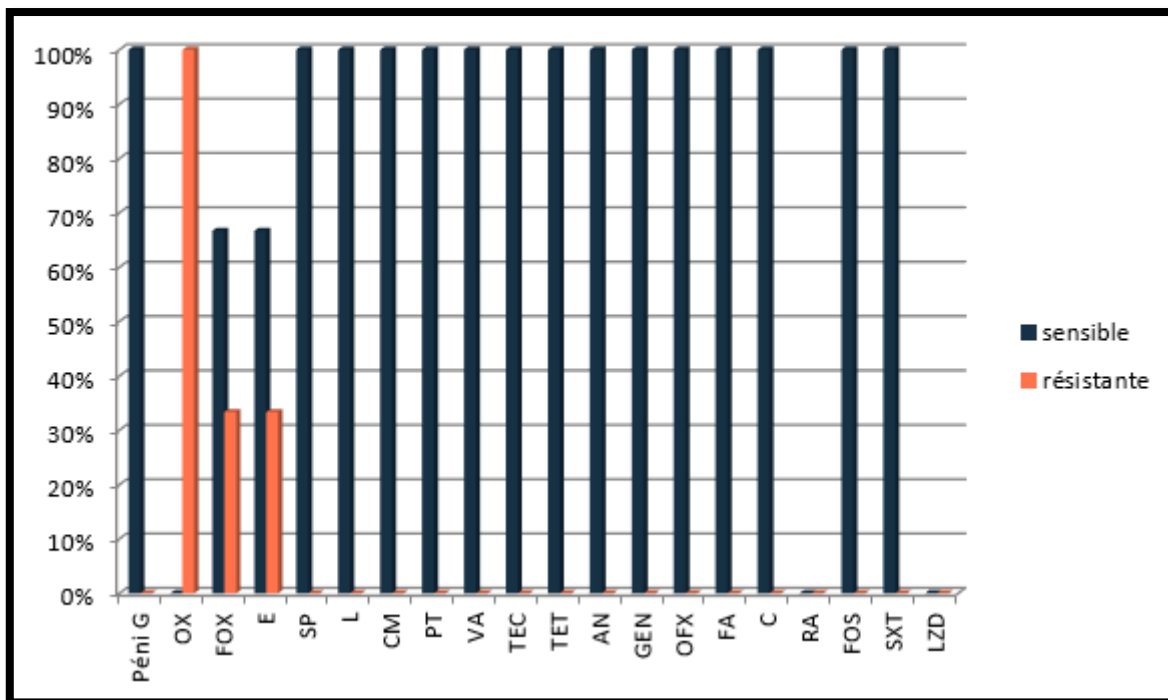


Figure 27 : Profil de résistance des staphylocoques à coagulase négative (n=3)

Péni G : Pénicilline G, OX : Oxacilline, FOX : Céfoxitine, E : Erythromycine, SP : Spirampicyne, L : Lincomycine, CM : Clindamycine, PT : Pristinamycine, VA : Vancomycine, TEC : Teicoplanine, TET : Tétracycline, AN : Amikacine, GEN : Gentamicine, OFX : Ofloxacine, FA : Acide fusidique, C : Chloramphénicol, RA: Rifampicine, FOS : Fosfomycine, SXT : Triméthopriime/ Sulfaméthoxazole, LZD : Linézolide.

II.9.4. Profil de résistance d'*E. coli*

La figure 28 indique que *E. coli* présente une résistance très importante à la majorité des Pénicillines : Ampicilline (AMP) (67%), Amoxicilline (AMX) (67%), Amoxicilline + acide clavulanique (AMC) (57%) avec une résistance totale à la Ticarcilline (TIC). Un taux de sensibilité élevé est noté pour la plupart des molécules testées, varie entre (50%) et (83%) et une sensibilité totale pour les Aminosides La Gentamicine (GEN) et Amikacine (AN), l'Imipenème (IMP) et la Colistine (CS).

E. coli a une sensibilité naturelle à de nombreux antibiotiques notamment les bêta-lactamines, les Aminosides et les Quinolones, malheureusement, certaines souches apparaissent résistantes (Jerom, 2007), cette résistance est due à la production d'une enzyme (Béta-lactamases).

Les résultats obtenus sont relativement concordants avec ceux de (Zemmouri *et al.*, 2015) qui ont mentionné qu'*E. coli* présente une sensibilité aux Carbapénèmes et aux Amikacine et elle résiste à l'Amoxicilline+ l'acide clavulanique.

D'après (Eyquem *et al.*, 2000). Les souches d'*E. coli* présentent une sensibilité à : la Gentamicine, l'Imipenème et l'Ofloxacine.

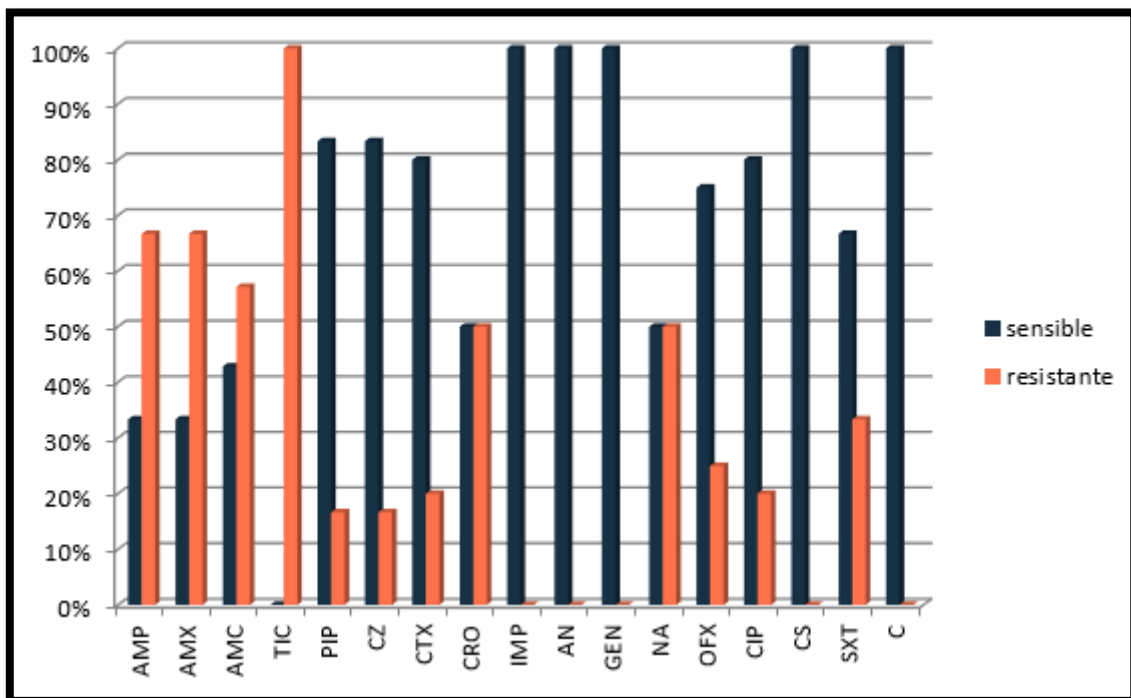


Figure 28 : Profil de résistance d'*E. coli* (n=7)

AMP: Ampicilline, AMX: Amoxicilline, AMC: Amoxicilline+ Acide clavulanique, TIC : Ticarcilline, PIP : Pipéracilline, CZ : Céfazoline, CTX : Céfotaxime, CRO : Céftriaxone, IMP : Imipenème, AN : Amikacine, GEN : Gentamicine, NA : Acide nalidixique, OFX : Ofloxacine CIP : Ciprofloxacine, CS : Colistine, SXT : Triméthoprime/ Sulfaméthoxazole, C : Chloramphénicol.

II.9.5 Profil de résistance de *Klebsiella pneumoniae*

La figure 29 montre que *Klebsiella pneumoniae* est totalement résistante aux pénicillines : l’Ampicilline (AMP) l’Amoxicilline (AMX) et la Ticarcilline(TIC), un taux de résistance élevé pour les Céphalosporines : Céfazoline (CZ) Céftriaxone (CRO) et Céfotaxime (CTX) avec un pourcentage de (80 %), (63%) et (67%) respectivement. Une sensibilité importante est signalée pour l’Amoxicilline + acide clavulanique (78%), (AMC) la Gentamicine (70%) (GEN) et Chloramphénicol (C) (86%), et une résistance nulle pour l’Amikacine (AN), l’Imipenème (IMP) et la Colistine(CS).

Ces résultats sont similaires à ceux de **Mezhoud et Khalfallah** qui ont trouvé que les *K. pneumoniae* sont sensibles aux Colistines, Chloramphénicols et Imipenèmes, mais elles résistent à l’Ampicilline et Ticarcilline (résistance naturelle).

Au Koweït, (**Al Benwan et al., 2012**) ont obtenu des résultats semblables aux nôtres pour la sensibilité des *K. pneumoniae* à l’Amikacine, la Gentamicine et Imipenème et la résistance vis-à-vis de la Pipéracilline.

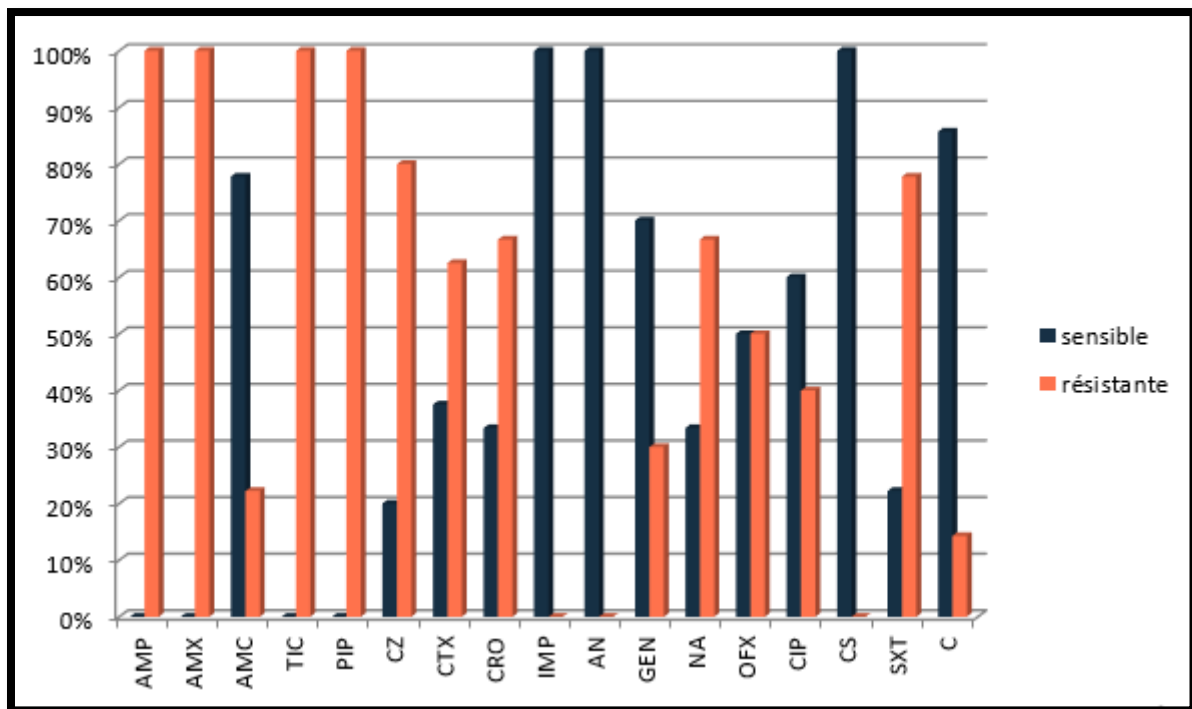


Figure 29 : Profil de résistance de *Klebsiella pneumoniae* (n=9)

AMP: Ampicilline, AMX: Amoxicilline, AMC: Amoxicilline+ Acide clavulanique, TIC : Ticarcilline, PIP : Pipéracilline, CZ : Céfazoline, CTX : Céfotaxime, CRO : Céftriaxone, IMP : Imipenème, AN : Amikacine, GEN : Gentamicine, NA : Acide nalidixique, OFX : Ofloxacin CIP : Ciprofloxacine, CS : Colistine, C : Chloramphénicol.

II.9.6 Profil de résistance de *Proteus mirabilis*

La figure 30 indique que les souches de *Proteus mirabilis* résistent à l'acide nalidixique (NA) (83%) et Triméthoprim / Sulfaméthoxazole(SXT) (78%). Egalement, elles expriment une résistance intermédiaire pour les Pénicillines (AMP, AMX, TIC et PIP) et une sensibilité importante pour l'Amoxicilline + acide clavulanique (75%), les Céphalosporines (CZ) (78%), CTX (89%) et CRO (89%), la Gentamicine(GEN) (67%), Ofloxacine (OFX) (63%), Ciprofloxacine (CIP) (67%) et la Colistine (CS) (86%), mais elles sont totalement sensibles aux Imipenème (IMP) et l'Amikacine (AN).

Une étude réalisée par (**Kabresiba, 2001**) sur les lésions des pieds et des mains chez le diabétique, au centre hospitalier national Yalgado Ouedrago en Burkina Faso, a montré que *Proteus mirabilis* résiste à tous les antibiotiques sauf les Ciprofloxacine, contrairement à notre étude, où on a trouvé que les *P. mirabilis* sont sensibles à la Chloramphénicol, Céftriaxone, Céfotaxime, Imipenème, Colistine et l'Amikacine.

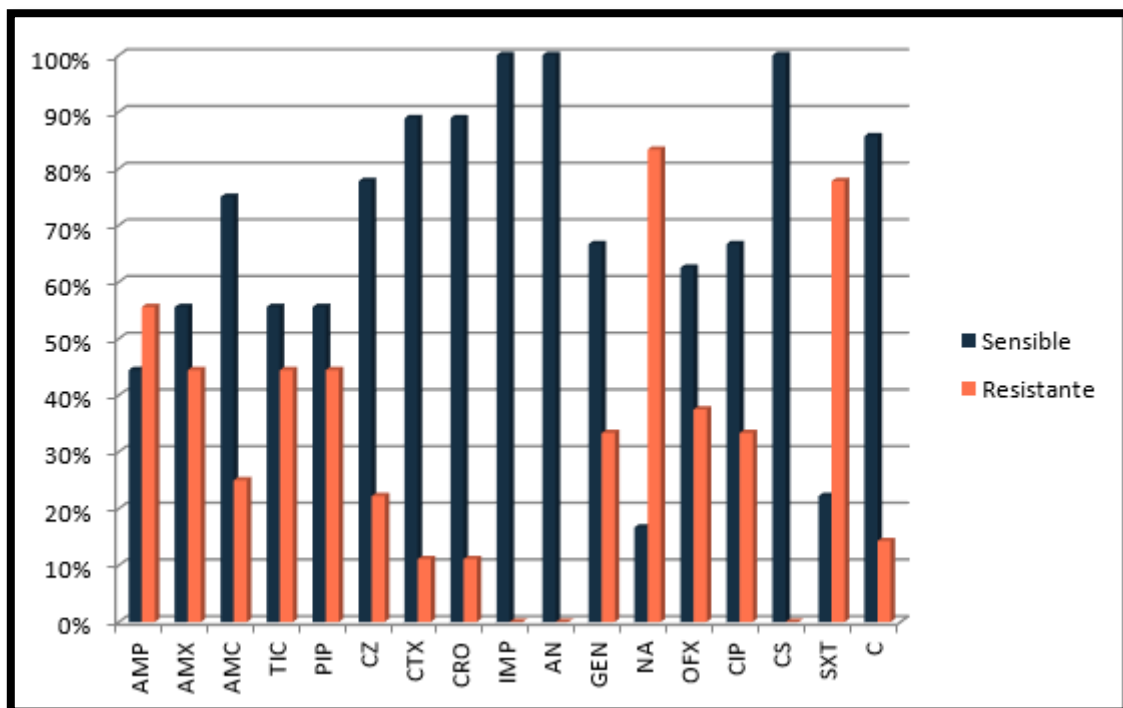


Figure 30 : Profil de résistance de *Proteus mirabilis* (n=9)

AMP: Ampicilline, AMX: Amoxicilline, AMC: Amoxicilline+ Acide clavulanique, TIC : Ticarcilline, PIP : Pipéracilline, CZ : Céfazoline, CTX : Céfotaxime, CRO : Céftriaxone, IMP : Imipenème, AN : Amikacine, GEN : Gentamicine, NA : Acide nalidixique, OFX : Ofloxacine CIP : Ciprofloxacine, CS : Colistine, SXT : Triméthoprim/ Sulfaméthoxazole C : Chloramphénicol.

II.9.7. Profil de résistance de *Proteus vulgaris*

Au vu de la figure 31, toutes les souches de *Proteus vulgaris* isolées à partir des prélèvements sont totalement résistantes à l'AMX, AMP et la CS. Elles présentent des taux de résistance élevé pour AMC (57%), CRO (61%), NA (67%) et SXT (60%), des taux de sensibilité importants pour TIC, PIP et CTX (76%), GEN OFX et CIP (86%). Les antibiotiques les plus actifs sur ces souches sont : IMP, AN et C avec un taux de sensibilité total.

Dans l'étude de (Mezhoud et khalfalhah, 2018), on a obtenu des résultats proches des nôtres, où *P. vulgaris* était résistant.

Nos résultats sont plus ou moins différents de ceux de Zemmouri. Ces derniers décrivent les *Proteus vulgaris* comme étant sensibles, à la fois à l'Amoxicilline + l'acide clavulanique et les Carbapénèmes (Zemmouri et al., 2015).

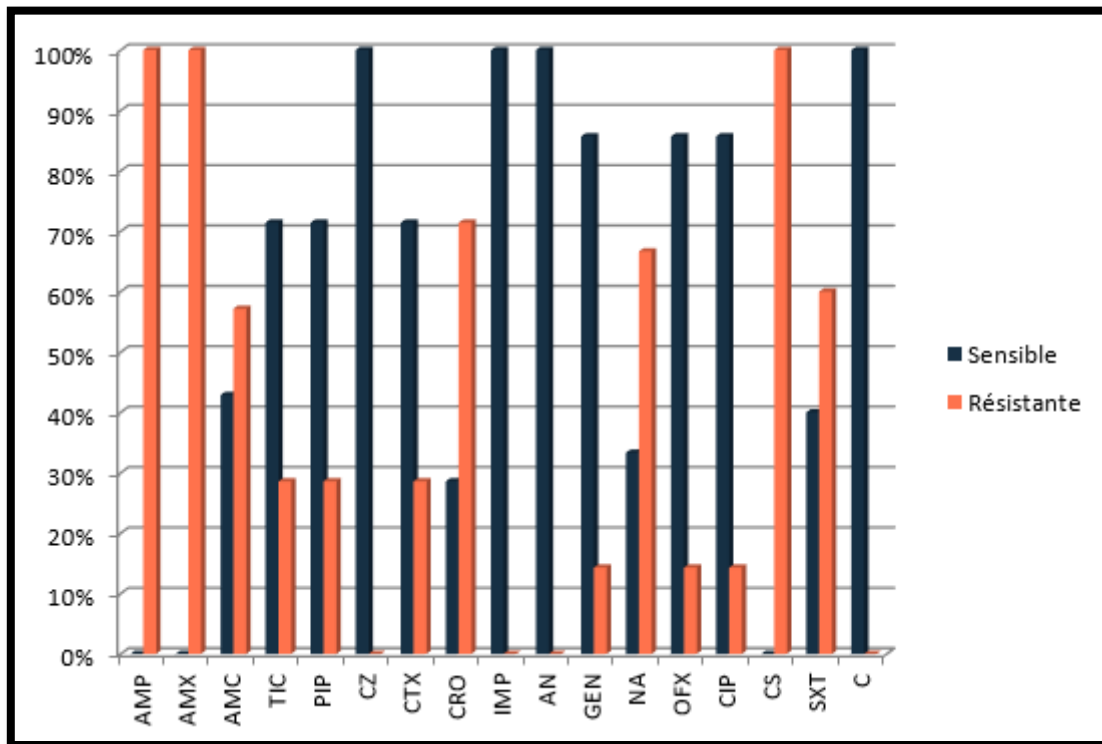


Figure 31: Profil de résistance de *Proteus vulgaris* (n=7)

AMP: Ampicilline, AMX: Amoxicilline, AMC: Amoxicilline+ Acide clavulanique, TIC : Ticarcilline, PIP : Pipéracilline, CZ : Céfazoline, CTX : Céfotaxime, CRO : Céftriaxone, IMP : Imipénème, AN : Amikacine, GEN : Gentamicine, NA : Acide nalidixique, OFX : Ofloxacin CIP : Ciprofloxacine, CS : Colistine, SXT : Triméthoprime/ Sulfaméthoxazole C : Chloramphénicol.

II.9.8. Profil de résistance d'*Enterococcus spp*

Les souches *Enterococcus spp* responsables de l'infection du pied diabétique, présentent une résistance totale à, CTX, E, L, PT et un taux élevé a été observé à la TET. Une sensibilité

totale a été observée pour AMP, VA, TEC, RA et LZD et un taux de sensibilité important pour Péni G , CIP, LVX, C et STX avec un pourcentage de (71%) ,(86%), (86%), (93%) et (90%) respectivement (Figure32).

Les entérocoques sont Considérées comme des germes commensaux, mais parfois chez les sujets diabétiques, ils peuvent réagir comme pathogène opportuniste (Citron *et al.*, 2007).

Les souches sauvages présentent une multi-résistance naturelle aux antibiotiques dont les aminosides, les céphalosporines à haut niveau et les fluoroquinolones. A côté de la résistance naturelle, l'apparition de la résistance acquise aux trois grandes classes d'antibiotiques (utilisés en association avec les pénicillines et les glycopeptides) pose de réels problèmes en thérapeutique. La sensibilité aux β -lactamines des entérocoques est liée à la capacité qu'ont les PLP à fixer ces antibiotiques (Courvalin, 2006).

Contrairement à nos résultats, (Mamtora *et al.*, 2017) ont trouvé que la résistance des *Enterococcus spp* est de (93,3 %)à TEI, (92%) à VAN et (95.9 %) à LZD.

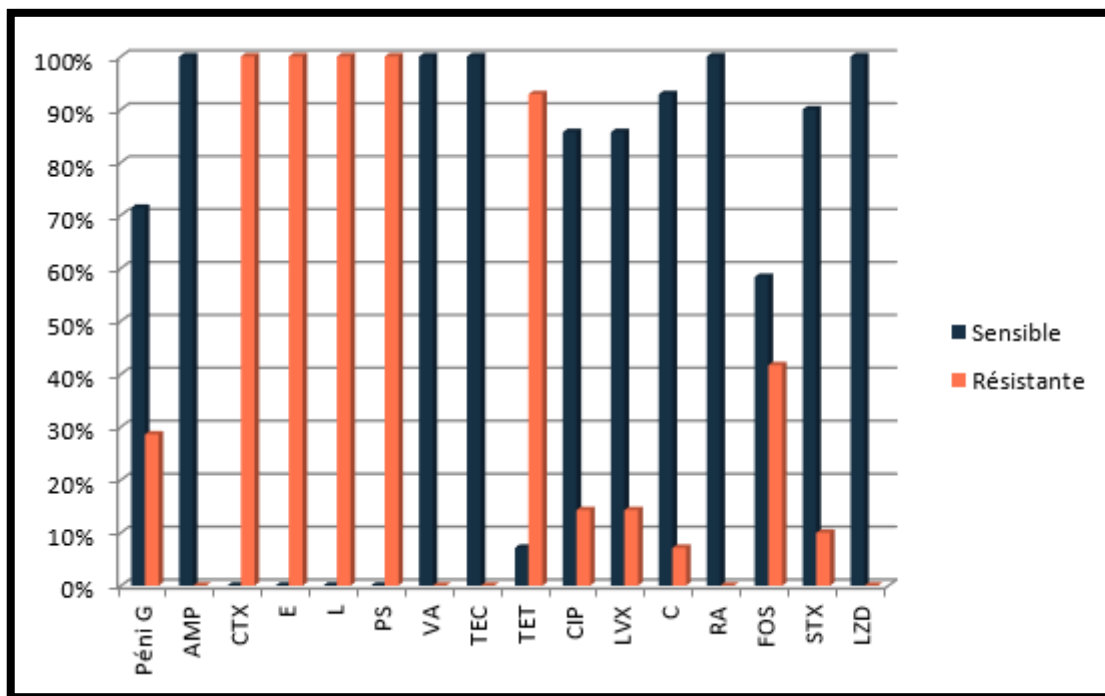


Figure 32 : Profil de résistance d'*Enterococcus spp* (n=15)

Péni G/ Pénicilline G, CTX : Céfoxatime, E : Erythromycine, L : Lincomycine, PS : Pristinamycine VA : Vancomycine, TEC : Teicoplanine, TET : Tétracycline, CIP : Ciprofloxacine, LVX : lévofloxacine, C : Chloramphénicol, RA : Rifampicine, FOS : Fosfomycine, STX : Triméthoprime / Sulfaméthoxazole, LZD : Linézolide.

II.9.9. Profil de résistance de *Pseudomonas aeruginosa*

La figure 33 montre que *Pseudomonas aeruginosa* est totalement résistante à la RA et STX, mais elle présente une sensibilité totale vis-à-vis de 11 antibiotiques (TIC, TCC, PIP+acide clavulanique, CTZ, ATM, AN, GEN, NET, CIP, LVX, C et FOS).

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

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

Dans (92%) des cas, les *P. aeruginosa* sont multi-sensibles, donc il s'agit de souche sauvage et non pas de souches hospitalières (Zemmouri *et al.*, 2015).

Ce résultat est confirmé par l'étude réalisée en 2019 par Bounekdja et Zarzi au niveau de l'HMRUC sur le profil de résistance des bactéries associées à l'infection du pied diabétique, qui ont trouvé que *P. aeruginosa* présente une sensibilité totale vis-à-vis des (TIC, TCC, PIP+acide clavulanique, CTZ, ATM, AN, GEN, NET, CIP, LVX, C et FOS).

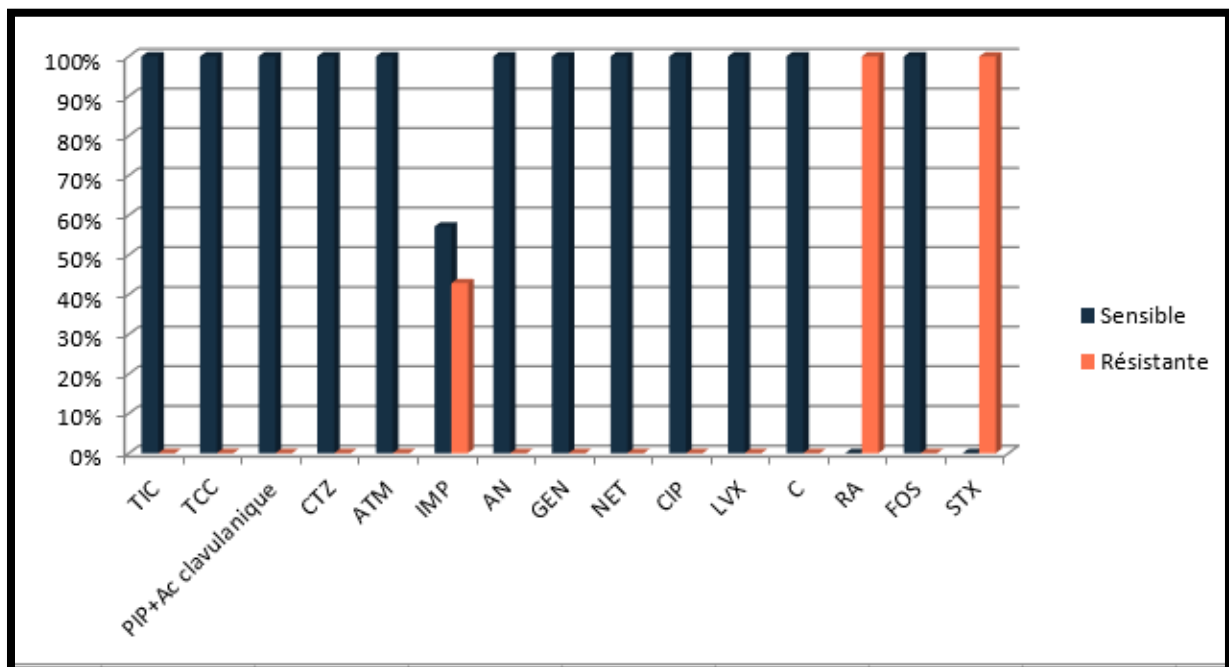


Figure 32 : Profil de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* (n=7)

TIC : Ticarcilline, TCC : Ticarcilline+ Acide clavulanique PIP : Pipéracilline, CTZ : Céfotazidime, ATM : Aztréoname, IMP : Imipénème, AN : Amikacine, GEN : Gentamicine, NET : Netilmicine, CIP : Ciprofloxacine, LVX : Lévofloxacine, C : Chloramphénicol, FA : Rifampicine, FOS : Fosfomycine, STX : Triméthoprime / Sulfaméthoxazole.



Conclusion



L'infection du pied figure parmi les infections bactériennes les plus fréquentes chez les diabétiques. Elle revête une importance particulière, car si le diagnostic n'est pas posé, elle pourra mettre en jeu le pronostic vital des patients. Pour cette raison, le sujet des infections du pied chez les diabétiques, nous a paru non négligeable.

L'antibiothérapie optimale est l'un des éléments clés de la prise en charge qui nécessite une surveillance de l'épidémiologie bactérienne et une documentation précise de l'infection à l'aide de prélèvements bactériologiques de qualité, avec l'espoir de réduire le risque d'amputation et d'émergence de bactéries multi-résistantes.

Dans le cadre de ce projet de recherche, un stage d'un mois a été effectué, au sein du laboratoire de bactériologie de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine (HMRUC). L'étude a concerné les infections des pieds diagnostiquées au niveau du service de médecine interne. La recherche s'est également consacrée à une étude rétrospective d'une période allant du 1 janvier 2017 au 31 décembre 2019 portant sur ces pathologies.

D'après cette étude effectuée sur un nombre de 307 patients présentant la symptomatologie d'une infection du pied diabétique, nous avons enregistré une dominance masculine avec un taux égale à (86%) et un âge moyen de 68 ans. Dans la majorité des cas, l'infection est mono-microbienne (76 %).

L'isolement des souches a permis de mettre en évidence la prédominance des bactéries à Gram négatif (66%).

Parmi les espèces les plus fréquemment isolée étaient : *Staphylococcus aureus* avec un pourcentage de (19,94%), suivi par *Proteus mirabilis* (12,90 %). En ce qui concerne la famille la plus isolée était *Enterobacteriaceae* (56%).

A l'issu des résultats de la résistance aux antibiotiques des souches isolées, il ressort que : les *S.aureus* présentent un taux de résistance élevé vis-à-vis les β -lactamines, les M.L.S et les aminosides, les entérocoques résistent aux M.L.S et les cyclines.

Les glycopeptides restent les antibiotiques les plus actifs sur les Cocci à Gram positif, et les imipénèmes, restent l'antibiotique le plus régulièrement actif sur les entérobactéries.

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

La surveillance de la résistance des souches aux antibiotiques doit être continue systématique afin de définir les stratégies thérapeutiques adaptées aux données de l'épidémiologie locale.



Références bibliographiques



- 1- **Abdelkbir Kh.** (2014). Les marqueurs biologiques des complications du diabète sucré. Mémoire de magister en physiologie cellulaire et moléculaire. Département de biologie animale université Constantine, Algérie. P.24-28.
- 2- **Abtroun Fadila, Aouiche Samir et al.,** (2015). Guide de bonne pratique en diabétologie à l'usage des praticiens, comité d'expert en diabétologie. Algérie.p.12.
- 3- **Agence de la santé publique du Canada.** (2011). [en ligne].
- 4- **Aich F.** (2017). Infection du pied diabétique : aspects bactériologiques et résistance aux antibiotiques. Mémoire pour l'obtention du diplôme médical de spécialité: Biologie médical. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah. Fès. P. 61.
- 5- **Ait Lhaj Ou Said Z.** (2014). Prise en charge en milieu d'urgence du pied diabétique [En ligne]. Thèse de doctorat en médecine. Université de Médecine et de Pharmacie Marrakech. P.2-38.
- 6- **Al Benwan K, Al Mulla A, Rotimi VO.** (2012). Une étude de la microbiologie des infections du pied diabétique dans un hôpital d'enseignement au Koweït. J Infect Public Health [Pub Med].
- 7- **Aliou Amadou Dia, Désiré Alain Affangla, Jean-Michel Dione, Géraud Akpo, Marie Mbengue, Mamadou Mourtalla Ka et Bernard Marcel Diop.** (2014). Apport de l'écho-doppler artériel des membres inférieurs dans la prise en charge du pied diabétique à l'hôpital Saint-Jean de Dieu de Thiès. Sénégal. The Pan African Medical Journal [Pub Med].
- 8- **Allen S.D.** (2018). Clostridium. Manual of clinical microbiology. 8 ed. P. 835-856.
- 9- **Amhal Fatima Zahra.** (2017). Profil épidémiologique actuel des bactéries multi-résistantes Expérience de l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech. Thèse de doctorat en médecine. Faculté de médecine et pharmacie université de Marrakech. N° 77. P.47.
- 10- **Andrew S, Powlson and Anthony P.Coll.** (2010).The treatment of diabetic foot infections. J Antimicrob Chemother 2010; 65(3).
- 11- **Annick M., Gilles L., Daniel J-M.** (2012). Evaluation de la prise en charge du diabète. Inspection générale des affaires sociales RM 2012-033P.IGAS, rapport N°RM 2012-033. P.13.
- 12- **Awalou Mohamn Djibril, Edem Komi Mossi, Agbeko Kodjo Djagadou, Abago Balaka, Toyi Tchamdja et Razak Moukaila.** (2015). Pied diabétique : aspect épidémiologique, diagnostic, thérapeutique et évolutif à la clinique médico-

- chirurgicale du CHU Sylvanus Olympio de Lomé. Togo. The Pan African Medical Journal [Pub Med].
- 13- Azebaze Alain Patrick.** (2004). Les artériopathies diabétiques des membres inférieurs dans le service de médecine interne de l'hôpital du Point-G. Thèse pour l'obtention du grade de Docteur en Médecine. Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie. P.26. Université de Bamako.
- 14- Badri et Tahri.** (2016). Aspect bactériologique des infections du pied diabétique. Département de Biologie Appliquée. Université de Larbi Tébessi. Tébessa. P.26.
- 15- Benaibouche D, Zahi N, Sifour, Meziene Eh et Bouchouika O.** (11 juin 2018). Protocole de la prise en charge des plaies du pied diabétique. Service de chirurgie générale, CHU Bâb El Oued. La presse médicale [en ligne].
- 16- Boudjamaa Djahida.** Etude multicentrique de la résistance aux antibiotiques chez *Enterobacter cloacae* thèse de doctorat. Université de Tlemcen, Algérie. P.24-25.
- 17- Bounekdja et Zarzi.** (2019). Caractérisation des bactéries associées à l'infection du pied diabétique au niveau de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine (HMRUC). Département de Microbiologie. Université Mentouri Constantine 1. Algérie.
- 18- Bousekraoui mouhammed, Zouhir Said, Soraa Nabila, Benaouda Amina, Zarouali Khalid et Mahmoud Mustapha.** (2017).Le guide pratique des bactéries pathogènes. P.17.
- 19- Bouvet A** (2011). Cours bactériologie médicale streptocoques-entérocoque, [en ligne].
- 20- Camille D.** (2014). Pratique en microbiologie de laboratoire recherche de bactéries et de levures-moisissures. ISBN : 978-2-7430-1565-7.Lavoisier, paris.
- 21- CASFM.** (2018). Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie, V.2.0 Septembre. P. 12.
- 22- CEEDMM.** (2011): Diabète sucré de type 1 et 2 de l'enfant et de l'adulte et Complications. Collège des Enseignants d'Endocrinologie, Diabète et Maladies Métaboliques, item 233. P. 3-4-5-28-29-44.
- 23- Chapitre 2, diabétologie, faculté de médecine Toulouse,** cours diabète type 1 et 2 : épidémiologie, physiopathologie, diagnostic et dépistage. P. 2.
- 24- Clave Danielle.** (2016). Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique, Fiche technique - Bactériologie N° 163. P. 1.

- 25- Costés Tristan.** (2016). Lois d'avenir agricole réglementation du médicament vétérinaire et lutte contre l'antibiorésistante thèses de doctorat vétérinaire. P. 15.
- 26- Courvalin P.** (2006). AntibioGramme Tom 2. Paris: Editons ESKA .P .396-397.
- 27- Denis F, Phocyl M, Martin C, Bingen E, Quentin R.** (2007). Bactériologie médicale technique usuelles. Edition : Masson.
- 28- Desroches Marine, Jehl François, Gérard Lina, François Vandensch, Roland Leclerc, Jean-Winoc Decousseri, Florence Doucet-Populaire, et le groupe MICROBS.** (2013). Résistance aux antibiotiques des *S. aureus* résistants à la méticilline et staphylocoques à coagulase négative isolés d'infections ostéo-articulaires: étude prospective multicentrique française. Service de Bactériologie/Hygiène, CHU Antoine Béchère. P.1.
- 29- Diakite Youssouf Djigui.** (2007). Complications métaboliques aiguës du diabète en milieu de réanimation au point «G». Thèse doctorat d'état en Médecine université de Bamako, Mali. P. 32.
- 30- Diane M Citron, Ellie J C Goldstein, C Vreni Merriam, Benjamin A Lipsky, et Murray A Abramson.** (2007). Bacteriology of Moderate-to-Severe Diabetic Foot Infections and In Vitro Activity of Antimicrobial Agents. Journal of Clinical Microbiology. Vol. 45, No. 9. P. 2819–2828.
- 31- Diane st –cyr et Luce Martineau.** (2017). L'ulcère du pied diabétique, partie I, épidémiologie et évolution. Ordre des infirmiers et infirmières du Québec. P.35.
- 32- Diarra Youssouf.** (2007). Etude des amputations consécutives aux complications du diabète à l'hôpital Nianankoro Fomba de Ségou. Thèse de doctorat en médecine. Université de Bamako. Mali.
- 33- Drouin. P, et al.,** (1999). Rapport des experts de l'ALFEDIAM, diagnostic et classification du diabète sucré des nouveaux cas, diabète et métabolisme (Paris), 1999. P. 25-72-83.
- 34- El Abdani Saïd.** (2016). Evolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques et conseils en antibiothérapie. Thèse de doctorat en pharmacie. Faculté de médecine et pharmacie Rabat.P.2-3.
- 35- Elmeskini Kamal.** (2011). Etude épidémiologique des infections à *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse de doctorat en médecine. Université de Médecine et de Pharmacie Rabat.P.4.

- 36- Eyquem A, Montagner L et Alouf J.** (2000). Traiter de microbiologie clinique. Deuxième mise à jours et complément Piccine Nouva Libraria S.P.A. Padoue, Italie. P. 77.
- 37- Fosseprez Pauline.** (2013). Antibiorésistance en pratique de ville : contrat et réflexion sur le rôle du pharmacien d'officine dans la lutte contre l'Antibiorésistance, thèse de doctorat en pharmacie. Université de Lorraine.P.15-17-18.
- 38- Gasmi Khaoula et Sahraoui Hadjar.** (2018). Antibiorésistance des souches bactériennes impliquées dans les infections du pied diabétique. Mémoire de master. Département de microbiologie appliquée. Université Kasdi Merbah. Ourgla.
- 39- Geoffroy.** (2005). Rôle des sphingolipides dans la modification de la prolifération des cellules mésangiales rénales en réponse au produit avancé de glycation (AGE) : implication dans le développement de la néphropathie diabétique. Thèse Doctorat en biochimie, Université Paris VII. Denis Diderot. P. 31-97.
- 40- Girard Francis mars.** (2005). Étude de la pathogénèse des infections à Escherichia coli de type attachant et effaçant chez le porc, thèse de doctorat, Université de Montréal. Département de pathologie et microbiologie, Faculté de médecine vétérinaire. P. 6.
- 41- GOT I** Physiologie du pied diabétique et problèmes diagnostiques. Service de diabétologie, maladies métaboliques et de la nutrition, CHU Nancy hôpital Jeanne d'arc-toul. Revue de l'ACOMEN (1999). Vol 5 N° 4.P.383.
- 42- Grimaldi A.** (2005). Traité de diabétologie. Tome 3 Edition médecine science, Flammarion.
- 43- Guillet.** (2010). Implication des produits terminaux de glycation dans les complications liées au diabète, Nutrition clinique et métabolisme. P. 24 - 109–114.
- 44- Guillou Joly.** (2005). Clinical impact and pathogenicity of Acinetobacter. Microbiology Department, CHU Angers, Angers University, France. , CMI, 11, 868–873.
- 45- Guira O, Tiéno H, Traoré S, Diallo I, Ouangré E, Sagna Y, Zabsonré J, Yanogo D, Traoré S S et Drabo YJ.** (2014). Ecologie bactérienne et facteurs déterminants le profil bactériologique du pied diabétique infecté à Ouagadougou. Burkina Faso. Bulletin de la société de pathologie exotique. P.307-311 du vol. 108 N°5.
- 46- Hart Tony et Shears Paul .**(1997). Atlas de poche en microbiologie. P. 93-95.

- 47- Hébert Laurent.** (2008). Etude de la résistance au lysozyme chez *Enterococcus faecalis*. Thèse de doctorat en Biochimie. Département de biologie Moléculaire. Université de Caen. P.14-16.
- 48- Hocquet D, Llanes C, Patry I, Garch F, Plésiat P.** (2004). Two efflux systems expressed simultaneously in clinical *Pseudomonas aeruginosa*. *Pathol. Biol.* P. 52-465-461.
- 49- Jerome P.** (2007). Pénicillinase, service des maladies infectieuses et tropicales, hôpital Saint-Antoine, CHU. Paris.
- 50- Kabre Siba Marc.** (2001). Les lésions des pieds et des mains chez le diabétique au centre hospitalier national Yalgado Ouedrago. Université d'Ouagadougou UFR des sciences de la santé section médecine. Burkina-Faso. P.49.
- 51- Karakkattu Vijayan Kavitha, Shalbha Tiwari, Vedavati Bharat Purandare, Sudam Khedkar, Shilpa Sameer Bnanhosale et Ambika Gopalakrishnan Unnikrish.** (2014). Choice of wound care in diabetic foot ulcer : A practical approach. *World Journal of Diabetes.* P.546-556 [Pub Med].
- 52- Khayar Yassine.** (2011). Comportement des entérobactéries isolées des urines vis-à-vis l'amoxicilline acide clavulanique l'imipénème et l'ertapénème. Thèse de doctorat en médecine. Université de Médecine et de Pharmacie Rabat.P.13-14-15-16.
- 53- Khelif H.** (2012). La prévention et l'éducation des complications du diabète sucré. Mémoire professionnel en infirmier de santé publique. Ecole paramédicale de M'Silla. Algérie. P.22-23.
- 54- Khiev. B, Veber. B.** (2010). Patient BMR: risques de contamination et prévention en pré-hospitalier et aux urgences ,52^{ème} congrès national d'anesthésie et de réanimation. Infirmiers. Infirmier(e)s d'urgence. P. 1.
- 55- Kouatchet K, Eveillard M.** (2012). *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline en réanimation Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the intensive care unit p : 493-494.
- 56- Kourichi S, Moussaoui A.** (Juillet 2018). Le pied diabétique : étude rétrospective de 21 cas au niveau du CHU de Bejaia. Mémoire en vue d'obtention de grade docteur en médecine. Département de médecine. Université de Bejaia. Algérie.P.27.
- 57- Labani Y.** (2016). Profil bactériologique et fréquence de résistance aux antibiotiques de l'infection du pied diabétique. Thèse de doctorat en médecine. Université Cadi Ayyad Marrakache.P.78.

- 58- Levanic Alexis.** (2008). Comment améliorer la prise en charge du pied diabétique : épidémiologie du recrutement du CHU de Grenoble, démographie sanitaire, formation des soignants: à propos de la réalisation d'une vidéo-formation. Sciences pharmaceutiques, thèse de doctorat en pharmacie. P. 28-29.
- 59- Lipsky BA, Berendt AR, Cornia PB, Pile JC, Peters EJ, Armstrong DG, Deery HG, Embil JM, Joseph WS, Karchmer AW, Pinzur MS, Senneville.** (2013). Société américaine des maladies infectieuses ligne directrice de pratique clinique pour le diagnostic et le traitement des infections du pied diabétique. J Am Podiatr Med Assoc.2013 Janvier-Février. [Pub Med], 103(1) : 2-7.
- 60- Loziewski A, et al .,** (2010). Résistance bactérienne aux antibiotiques. Infections associées aux soins. P. 1-2-10-11-12-13-14.
- 61- Mamtora Dhruv, Sanjith Saseedharan, Pallavi Bhalekar et Surekha Katakdhond.** (2017). Microbiological profile and antibiotic susceptibility pattern of Gram positive isolates at a tertiary care hospital. Mumbai. Inde [Pub Med].
- 62- Maroselli Cécile.** (2016). Le pied diabétique : physiopathologie, nouvelles thérapeutiques et place du pharmacien d'officine. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Joseph Fourier Faculté de Pharmacie de Grenoble. P. 29.
- 63- Martini Jacques, Eric Senneville.** (Janvier 2018). Collège des enseignants d'endocrinologie. Journées Nationales du DES d'Endocrinologie-Diabète et Maladies Métaboliques. Canada.p.96.
- 64- Mezhoud R, Khalfallah N.** (2018). Profil de résistance des bactéries associées à l'infection du pied diabétique au niveau de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine (HMRUC). Mémoire de Master : Microbiologie. Université Mentouri Constantine. P. 80.
- 65- Mezieni Meriem.** (2012). Contribution du diagnostic biochimique bactérien dans l'établissement des parentés phylogéniques : cas des entérobactéries et *Pseudomonas*, mémoire de magistère en biochimie, Université Mentouri Constantine 1. P.8.
- 66- Microbia Free.** <http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/kk/klebsiella.html> et document Bio-Rad.
- 67- Mihaela-Diana Popa et Axel Balogh de Manko –Bük.** (2019). Manuel de microbiologie. Université de médecine et de pharmacie Victoria Babeş Timișoara. ISBN vol. 1: 978-606-786-142-6. P.47-48-49-50.
- 68- Mohammad Tghi Akhi, Reza Ghotaslou, Mohammad Asgharzadeh, Mojtaba Vrshochi, Tahereh Pirzadeh, Mohammad Yousef Memar, Abed Zahedi Bialvaei,**

- Hasan Seifi Yarijan Sofla et Naser Alizadeh.** (2015). Bacterial etiology and antibiotic susceptibility pattern of diabetic foot infections in Tabriz, Iran. *GMS Hygiene and infection control* [Pub Med].
- 69-Mohammed A.** (2007). Les atteintes cutanées associées au diabète sucré. Thèse de doctorat en Médecine. Université de Fès. Maroc.p.7.
- 70-Moustardier G.** (1972). Bactériologie médicale ; 4^{ème} édition, librairie Maloine. S.A. éditeur, Paris.
- 71-Moutonet et al.,** (2000). Les antibiotiques anti-viraux anti-infectieux
- 72-Murray P V, Baron E J, Pfaller M A, Tenover F C et Tenover R H.** (1999). *Manual of clinical microbiologie*, 7th édition, Amer. Soc. Microbial; Washing, D.C.
- 73-Muylaert A, Mainil J G.** (2012). Résistances bactériennes aux antibiotiques : Les mécanismes et leur « contagiosité » Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Liège. P. 113-114.
- 74-Naouli Hamza.** (2018). Le profil bactériologique du pied diabétique. Thèse de doctorat en médecine. Faculté de médecine et pharmacie. Fès. P. 37-46.
- 75-OMS.** (2013). Diabète [En ligne].
- 76-OMS.** (2016). Diabète [En ligne].
- 77-OMS.** (2017).Diabète. [En ligne].
- 78-Orsted HL, G E Searles, H Trowell, L Shapera, P Miller et J Rahman.** (2006). « Recommandations des pratiques exemplaires pour la prévention, le diagnostic et le traitement des ulcères du pied diabétique: Mise à jour 2006 », *Wound Care Canada*, vol. 4, no1, 2006. P. 108-121. [En ligne]: <http://cawc.net/images/uploads/wcc/4-1-vol4no1-BPDFU-fr.pdf>].
- 79- Pacôme L.** (2014). Le pied et la cheville. [Image].In : Google.
- 80-Pierrick.** (2015). *Acinetobacter baumannii*. Réalisé en collaboration avec les professionnels de la santé et de la médecine. Santé médecine .net.
- 81-Pierrot Sandra.** (2015). Portage de bactéries multi-résistantes en structures d'accueil pour personnes âgées : évaluation d'une politique de dépistage ciblé en fonction des facteurs de risque, thèse de doctorat en pharmacie université de Laurianne. P. 8-19-20-21-22-23.
- 82-Raccah D.** (2004). Epidémiologie et physiopathologie des complications dégénératives du diabète sucré. *EMC-Endocrinologie*. Elsevier SAS.P. 29-42.

- 83- Rahal K.** (Institut Pasteur d'Algérie-Alger). (2014). Standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale (Médecine Humaine et vétérinaire) 7ème édition [En ligne].
- 84- Ramparany L.** (2016). Manuel de prélèvement des échantillons primaires version 4. Institut Pasteur de Madagascar.
- 85- Richard JL, Lavigne JP, Got I et al.,** (2011). Management of patients hospitalized for diabetic foot infection : results of the french OPIDIA study. Diabetes and metabolism. P. 208-215.
- 86- Richard L, Drak Wayne Vogel, Adam W.M Mitchell.** (2005). Gray's anatomie pour les étudiants. Paris : Elsevier.
- 87- Robert C.** (2007). Bactériémies à Clostridium spp. Signification clinique. Analyse rétrospective de 41 cas dont trois cas de bactériémies à Clostridium orbiscindens. Thèse de Médecine. Faculté de médecine. Université Henri Poincaré, Nancy 1.
- 88- Saseedharn Sanjith, Manisa Sahu, Roonam Chaddha, Edwin pathrose, Arun Bal, Pallavi Bhalekar, Priyadharshini Sekar et Padma Krishnan.** (2018). Epidémiologie des infections du pied diabétique dans un hôpital tertiaire de référence en Inde. Braz J Microbiol [Pub Med]. 49 (2) : P. 401-406.
- 89- Senneville E.** (2008). Infection et pied diabétique. La revue de médecine interne. 29 (2008) S243–S248.
- 90- Sharma Vk, Khadka PB, Joshi A et Sharma R.** (2006). Common pathogens isolated in diabetic foot infection in Bir Hospital. Inde. Kathmandu Universal Medical Journal. Vol.4, No.3, Issue 15,295-301.
- 91- Sorbonne université,** faculté de médecine, bactériologie, 2003, Chapitre 4 Les streptocoques, entérocoques et pneumocoques [en ligne].
- 92- Stahl PJ.** (2006). Recommandations pour la pratique clinique. Prise en charge du pied diabétique infecté. [En ligne]. Société de pathologie infectieuse de la langue française (SPILF) CHU de Grenoble.
- 93- Sylvie Carle.** (2009). La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important ! Pharmactuel Vol. 42, Supplément 2 Décembre 2009. P. 10-11-12-13-14.
- 94- Tiwari S, Pratyush D, Dwivedi A, Gupta S.K, Rai M, Singh S.K.** (2012). Caractéristiques microbiologiques et cliniques des infections du pied diabétique en Inde du nord. J infect devctries. [Pub Med]. 6 (4) : 329-32.
- 95- Université Pierre et Marie Curie Bactériologie, faculté de médecine.** (2003). Cour pour le niveau DCEM1 2002-2003. P. 29-37-38-69-73.

- 96- Valdiguie P et Thierry L.** (2000). Biochimie clinique, chapitre métabolisme du glucide.
- 97- Verdier Isabelle, Gérard Lina, Yves Gillet et François Vandenesch.** (2015). Cour les Cocci à Gram positif Staphylococcus aureus [en ligne].
- 98- Vincent J.** (2000). Bactéries multi-résistantes dans les hôpitaux français raiseau BMR-Raisin.P.3.
- 99- Wilson Kwong et al.,** (2015). Providencia rettgeri: an unexpected case of Gram-negative cellulitis Wounds International 2015 | Vol 6.P. 30.
- 100- Yach D et George A.** (2003). Screening for type 2 diabetes, report of a World Health Organisation and international diabetes federation meeting.P.1
- 101- Zanella Marie-Céline, Benjamin Kressmann, Lydia Wuarin, Benoit Coulin, Sophie maitre, Domizio Suv, Pr BEnjamin A. Lipsky et Dr Ilker UÇkay.** (2016). Microbiologie et traitement antibiotique du pied diabétique infecté. Revue médicale suisse 12 : 732-7. P.1.
- 102- Zemmouri A, Tarchouli M, Haimeur CH.** (2015). Profil bactériologique du pied diabétique et son impact sur le choix des antibiotiques. The Pan African Medical Journal [Pub Med].
- 103- Zhang P, Lu J, Jing Y, Tang S, Zhu D, Bi Y.** (2017). Global epidemiology of diabetic foot ulceration : à systematic review and meta-analysis. [Pub Med].
- 104- Ziai Sophie.** (2014). La résistance bactérienne aux antibiotiques : apparition et stratégies de lutte. Thèse de doctorat en médecine. Faculté de pharmacie université de Limoges.P.48.



Annexes



Annexe 1 : Classification des antibiotiques selon leurs cible**Tableau 1 : Antibiotiques agissant sur la paroi**

Famille	Groupe	Exemple d'antibiotique	Mode d'action
B-lactamine	Pénames	Ampicilline Amoxicilline Carbénicilline	Ils agissent sur la synthèse du peptidoglycane en inhibant les protéines liant la pénicilline (PLP). Les PLP ont une activité transpeptidasique, carboxypeptidasique et transglycolasique. L'inhibition des PLP aboutit à l'inhibition de la formation des ponts pentacycliques responsables de la structure réticulée de la paroi. On obtient ainsi des formes rondes ou filamenteuses qui aboutissent à la lyse bactérienne.
	Pénèmes	Imipénème Méropénème Ertapénème	
	Oxapénames ou clavams (acide clavulanique	Amoxicilline+Acide clavulanique Ticarcilline + Acide Clavulanique	
	Céphèmes	Céfazoline Céfoxitine Céftriaxone	
	Monobactame	Aztréonam	
Glycopeptides		Vancomycine Teicoplanine	Ils bloquent la polymérisation du peptidoglycane en se fixant sur la partie D- Ala- D-Ala terminale des peptides impliqués dans la phase de polymérisation du peptidoglycane.
Non classé		Fosfomycine	Elle se fixe sur une enzyme impliquée dans la formation de l'acide N-acétyl muramique qui est l'un des précurseurs du peptidoglycane.

PLP : protéines liant la pénicilline, **D- Ala- D-Ala** : D-alanine – D-alanine

Tableau 2 : Antibiotiques agissant sur la synthèse protéique

Famille	antibiotique	Mode d'action
Aminosides	Streptomycine Kanamycine Gentamicine	Ils se fixent sur la Sous unité 30S du ribosome ou ils s'interfèrent avec la synthèse des protéines (Singleton, 2005).
Macrolides-Lincosamides-Streptogramines(MLS)	Spiramycine Lincomycine Pristinamycine	Ils agissent au niveau de la Sous unité 50S du ribosome. Ils inhibent la croissance de la chaîne polypeptidique en formation (Yala et al. ,2001).
Tétracyclines	Oxytetracycline -Doxycycline -Glycylcyclines	Ils agissent au niveau de la sous unité 30S du ribosome en inhibant la phase d'élongation de la chaîne polypeptidique, en empêchant la fixation de l' aminoacyl-ARNt (Bryskier, 1999).
Phénicolés	Chloramphénicol Thiamphénicol	Inhibition de la peptidyl-transférase, en se fixant sur la sous-unité 50S du ribosome bactérien (Wareham et Wilson, 2002).
Oxazolidinones	Linézolide	Ils se fixent sur la sous unité ribosomale 50S et empêche sa liaison à la sous unité 30S (Nauciel et Vildé, 2005).

Tableau 3 : Les antibiotiques agissant sur la synthèse des acides nucléiques

Famille	antibiotiques	Mode d'action
Quinolones	Acide nalidixique, Acide pipémidique, Acide oxolinique Fluméquine	Ils agissent sur deux enzymes impliquées dans cette synthèse: ADN gyrase (cible principale des BGN) il forme un complexe ADN gyrase-Quinolones qui va bloquer la progression de l'ADN polymérase bactérienne au cours de la réplication ADN topo- isomérase IV L'interaction entre l'ADN, quinolone et topo-isomerase stimule la coupure de l'ADN et inhibe la relégation (Hooper, 2002).
Fluoroquinolones	Péfloxacin Ofloxacin Norfloxacin Ciprofloxacine	
Rifamycines	Rifamycine Rifamycine SV	Inhibition de la transcription de l'ADN en ARNm par inhibition de l'ARN polymérase (Nauciel et Vildé.2005).
Rifamycines	Nitrofurantoine Furazolidone Nifuroxazide	Elles agissent directement sur l'ADN provoquant diverses lésions (coupures et substitution de bases) (Nauciel et Vildé, 2005).

BGN : Bacille à Gram Négatif.

Tableau 4 : Antibiotiques agissant sur la membrane cytoplasmique

Famille	antibiotique	Mode d'action
Polymixines	Polymixine B Colistine	Elles se fixent sur les phospholipides, et perturbent ainsi les transferts transmembranaires de nutriments et inhibent les phosphorylations oxydatives du métabolisme énergétique (Fauchèr et Avril, 2002).

Tableau 5 : Antibiotiques agissant sur la synthèse de l'acide folique

Famille	antibiotique	Mode d'action
Sulfamides	Sulfaméthoxazole Sulfaméthizole Sulfaguanidine	Inhibent la synthèse des folates, agissent en compétition avec le PABA pour le site actif, la dihydroptéroate synthétase (DHPS) qui catalyse une réaction essentielle à la synthèse de l'acide tétrahydrofolique (DHF) nécessaire à la production des purines et pyrimidines pour la synthèse de l'acide nucléique (Lambert, 1995).
2-4 diaminoptéridine	Trimethoprime	Inhibent la synthèse des folates, en se fixant sur la dihydrofolate réductase (Veyssier, 1999).
Sulfamides+ Trimethoprime	Sulfaméthoxazole+ Trimethoprime (Cotrimoxazole)	Agit sur les deux enzymes précédentes (Veyssier, 1999).

PABA : acide para-aminobenzoïque, **DHPS** : la dihydroptéroate synthétase **DHF** : l'acide tétrahydrofolique

Annexe 2 : Les milieux de culture**Gélose Nutritive g/l**

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

pH = 6.8 +/- 0.2

Gélose Chapman g/l

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

pH = 7.5 +/-0.2 à 25C°

Bouillon Nutritive g/l

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

pH = 6.8 +/- 2 à 25C°

Gélose Hecktoen g/l

Protéase peptone.....	12g
Extrait de levure	3g
Lactose.....	12g
Sucrose	12g
Salicine	2g
Mélange de sel biliaire.....	9g
Chlorure de sodium	5g
Thiosulfate de sodium	5g
Citrate d'amminium ferrique.....	1.5g
Fuchsine acide	0.1g

Bleu de bromothymol	0.065g
Agar.....	15g

pH = 7.5+/-0.2 à 25 C°

Gélose Columbia g/l

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

pH = 7.3 +/- 0.2 à 25C°

Milieu Muller-Hinton g/l

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

pH = 7.4+/- 0.2

Milieu T.S.I

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

pH = 7.4

Gélose Bile Esculine g/l

Peptone de viande.....	5g
Extrait de viande.....	3g
Bile de bœuf.....	40g
Esculine.....	1g

Citrate de fer.....	0.5g
Agar.....	14.5g

pH final = 6.6

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

Annexe 3 : Technique de la coloration de Gram

- étaler le produit biologique sur une lame, à l'aide d'une anse bactériologique stérilisée ou d'une pipette pasteur en fonction du produit à étudier, et on le fixe à la flamme.
- Le frottis fixé est couvert d'une solution de cristal violet, pendant au moins une minute.
- rincer la lame et on recouvre avec du Lugol pendant au moins une minute (l'iode sert à fixer la coloration).
- rincer le Lugol et on décolore, pendant quelques secondes avec une solution d'alcool-acétone, ou deux minutes avec de l'alcool pur.
- laver avec de l'eau.
- couvre la lame avec une solution de fuchsine diluée.
- laver encore une fois à l'eau, on sèche et on examine au microscope avec l'objectif à immersion.

Annexe 4 : La galerie Api 20^E

Préparation de la galerie

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

Préparation de l'inoculum

- Ouvrir une ampoule d'API Na Cl 0,85% Medium (5 ml) ou une ampoule d'API Suspension Medium (5 ml) comme indiqué au paragraphe « Précautions » de la notice du produit, ou utiliser un tube contenant 5 ml d'eau physiologique stérile ou d'eau distillée stérile, sans additif.

- A l'aide d'une pipette, prélever une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé. Utiliser préférentiellement des cultures jeunes (18-24 heures).
- Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu. Cette suspension doit être utilisée extemporanément.























Incubation de la galerie

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

Annexe 5 : Tableau de la lecture standard de la galerie Api 20^E



Annexe 6 : tableau de la lecture biochimique de la galerie Api 20^E

TABLEAU DE LECTURE DE LA GALERIE MINIATURISEE API 20E					
Microtube	Substrat	Caractère recherché	Lecture directe ou indirecte (Test si nécessaire)	Résultat +	Résultat -
ONPG	Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	β -galactosidase	Lecture directe		
ADH LDC ODH	Arginine Lysine Ornithine	Arginine dihydrolase Lysine décarboxylase Ornithine décarboxylase	Lecture directe		
CIT	Citrate	Utilisation du citrate	Lecture directe		
H ₂ S	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S	Lecture directe		
URE	Urée	Uréase	Lecture directe		
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de Perchlorure de Fer		
IND	Tryptophane	Production d'indole	Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de réactif de Kovacs		
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	Lecture indirecte (Attendre 10 minutes) Test : ajouter 1 goutte de KOH et d' α -naphthol		
GEL	Gélatine emprisonnant des particules de charbon	Gélatinase	Lecture directe		
GLU à ARA	Substrat carboné	Utilisation de substrat carboné	Lecture directe		
NO ₂ / N ₂	Nitrates (NO ₃)	Nitrate réductase	Lecture indirecte dans la cupule GLU Test : ajouter 1 goutte de réactif de Griess Ajouter de la poudre zinc en cas de résultat négatif		

Annexe7 : Les fiches d'antibiogramme

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

MINISTRE DE LA DEFENSE NATIONALE
5^e REGION MILITAIRE
HOPITAL MILITAIRE REGIONAL UNIVERSITAIRE
BENBAATOUCHE ABDELALI DE CONSTANTINE
LABORATOIRE CENTRAL - UNITE DE MICROBIOLOGIE
Poste : 50-551

Nom : _____ **Prénom :** _____ **Age :** _____

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

EXAMEN DIRECT :
DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE :

ANTIBIOGRAMME POUR STAPHYLOCOQUE

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

S : Sensible, I : Intermédiaire, R : Résistant

Constantine le : _____

LE MEDECIN



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

MINISTRE DE LA DEFENSE NATIONALE
5^e REGION MILITAIRE
CHAHID ZIGHOUT YUCEF
HOPITAL MILITAIRE REGIONAL UNIVERSITAIRE
BENBAATOUCHE ABDELALI DE CONSTANTINE
LABORATOIRE CENTRAL - UNITE DE MICROBIOLOGIE



Poste : 50-551

N° : Prénom : Age :

Service : N° :

Service du Prélèvement :

Service de Diagnostic BACTERIOLOGIQUE :

Service de notation de résistance :

ANTIBIOGRAMME POUR BACILLES A GRAM NEGATIF NON FERMENTAIRES

PENICILLINES		AMINOSIDES	
Amoxicilline		Amikacine	
Amoxicilline-ac. clavulanique		Gentamicine	
Pénicilline		Tobramycine	
Pénicilline-ac. clavulanique		Nétilmicine	
CEPHALOSPORINES		QUINOLONES / FLUOROQUINOLONES	
Ceftriaxone		Ciprofloxacine	
Cefepime		Lévofloxacine	
Cefepime		DIVERS	
MONOBACTAME		Colistine	
Meropenem		Rifampicine	
CARBAPENEMES		Fosfomicine	
Meropenem		Doxycycline	
Meropenem		Triméthoprim- Sulfaméthoxazole	
Meropenem			

S : Sensible, I : Intermédiaire, R : Résistant

Constantine le :

LE MEDECIN



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

MINISTRE DE LA DEFENSE NATIONALE
5^e REGION MILITAIRE
HOPITAL MILITAIRE REGIONAL UNIVERSITAIRE
BENBAATOUCHE ABDELALI DE CONSTANTINE



LABORATOIRE CENTRAL - UNITE DE MICROBIOLOGIE

Poste : 50-551

Nom : Prénom : Age : /

Nature du Prélèvement : Service : N° :

DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE :

ANTIBIOGRAMME POUR ENTEROBACTERIES

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

S : Sensible, I : Intermédiaire, R : Résistant

Constantine le :

LE MEDECIN

Annexe 8 : Tableaux des valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition

Table de lecture 3* : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Acinetobacter spp.*

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ticarcliline	75 µg	14	15 - 19	20	128	32-64	16	Le disque de TCC doit être placé à côté du disque de CAZ. Une synergie entre les 2 disques indique la présence d'une BLSE. (voir recherches complémentaires).
Ticarcliline + ac.clavulanique	75/10µg	14	15 - 19	20	128/2	32/2-64/2	16/2	
Pipéracilline	100 µg	17	18 - 20	21	128	32-64	16	
Céftazidime	30 µg	14	15 - 17	18	32	16	8	
Imipénème	10 µg	13	14 - 15	16	16	8	4	
Amikacine	30 µg	14	15 - 16	17	64	32	16	
Gentamicine	10 µg	12	13 - 14	15	16	8	4	
Tobramycine	10 µg	12	13 - 14	15	16	8	4	
Netilmicine	CMI	-----	-----	-----	32	16	8	
Ciprofloxacine	5µg	15	16 - 20	21	4	2	1	
Ciprofloxacine	5µg	≤ 13	14 - 16	≥ 17	≥ 8	4	≤ 2	
Lévofloxacine	5µg	≤ 13	14 - 16	≥ 17	≥ 8	4	≤ 2	Si résistance à doxycycline, réponse valable pour tétracycline
Doxycycline	30µg	9	10 - 12	13	16	8	4	
Triméthoprime + sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	10	11 - 15	16	4/76	-----	2/38	
Colistine	-----	-----	-----	-----	> 2	-----	2	La colistine est testée pour usage thérapeutique. Il faut déterminer la CMI.
Rifampicine**	30µg	<14	14 - 18	≥19	> 16	16-8	< 4	Lecture valable pour <i>S.maltophilia</i> - Diluer l'inoculum 0,5 MF au 1/10 ^{ème} Tester avec un inoculum 0,5MF dilué au 1/10 ^{ème}

* Tableau extrait du Document M100 - S21, Vol. 31, n° 2011. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, twenty-first informational supplement.
 ** Extraits des recommandations 2011 du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

Table de lecture 1* : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Entérobactéries*

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), céfotaxime (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.
Céfazoline	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	≤ 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).
Céftriaxone	30µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1	
Impénème/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 : Impénème : 500 mg toutes les 6h ou 1 g toutes les 8h, Ertapénème : 1g toutes les 24h, Méropénème : 1g toutes les 8h.
Ertapénème	10µg	≤ 19	20 - 22	≥ 23	≥ 1	0.5	≤ 0,25	La détection phénotypique d'une carbapénémase par le test MHT est réservée aux études épidémiologiques (voir chapitre recherches complémentaires).
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.
Triméthoprim+ Sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	≤ 10	11 – 15	≥ 16	≥ 4/76	≤ 2/38	

* Tableau extrait du Document M100 – S21, Vol. 31, n°1, 2011. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-first informational supplement.
 ** Extrait des recommandations 2011 du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire) 6^{ème} édition 2011

SS



Résumés



Résumé :

Les infections du pied diabétique sont un véritable problème de santé public avec un impact socio-économique considérable, aussi bien à l'échelle mondiale qu'à l'échelle nationale, puisque plus d'un million d'amputation sont réalisées chaque année dans le monde chez les malades diabétiques.

Cette infection peut être aggravée par la présence de germes résistants aux antibiotiques. La multitude des facteurs qui influencent l'évolution d'une infection du pied diabétique justifie l'organisation de la prise en charge de ces patients sur un mode multidisciplinaire. L'antibiothérapie doit être guidée par une étude microbiologique valide.

Dans le cadre de ce projet de recherche, un stage d'un mois a été effectué, au sein du laboratoire de bactériologie de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine (HMRUC). L'étude concerne les infections du pied, chez les diabétiques hospitalisés au niveau du service de médecine interne. Des prélèvements ont été effectués à partir des plaies infectées. A partir des différents échantillons, un isolement, une identification des souches et une étude de profil d'antibio-résistance ont été effectués.

Une étude rétrospective de 3 ans allant du 1 janvier 2017 au 31 décembre 2019 a été effectuée sur les patients qui présentent les symptômes d'une infection du pied diabétique.

Notre étude a montré une prédominance du sexe masculin (86%), l'âge moyen de 68ans. Les infections sont souvent mono-microbiennes (76%) dues aux *Staphylococcus aureus* (19,94%) comme chef de file, suivie de *Proteus mirabilis* (12,90 %).

A l'issue des résultats de la résistance aux antibiotiques des souches isolées, il ressort que : Les *S.aureus* présentent un taux de résistance élevé vis-à-vis les β -lactamines, les M.L.S et les aminosides. Les entérocoques résistent aux M.L.S et les cyclines.

Les glycopeptides restent les antibiotiques les plus actifs sur les Cocci à Gram positif, et l'imipénème, reste l'antibiotique le plus régulièrement actif sur les entérobactéries.

Les mots clés : diabète, pied diabétique, infection du pied diabétique, antibiothérapie.

Abstract

Diabetic foot infections are a real public health issue with a considerable socio-economic impact, both nationally and globally. Indeed, each year, more than one million amputations are carried out worldwide among diabetic patients.

This infection can be made worse by the presence of germs resistant to antibiotics. The multitude of factors that influence the development of a diabetic foot infection justifies the organization of care of that patients receive in a multidisciplinary mode. Antibiotic therapy should be guided by a valid microbiological study.

As part of this research project, a one-month internship was carried out in the bacteriology laboratory of the Regional University Military Hospital of Constantine (HMRUC). The study concerns foot infections in diabetics hospitalized at the internal medicine service level. Samples were taken from the infected wounds. From the latter's, isolation, identification of strains and a study of the profile of antibiotic resistance were carried out.

A 3-year retrospective study, from January 1st, 2017 to December 31st, 2019 was performed on patients with symptoms of diabetic foot infection. Our study showed a predominance of male sex (86%), with an average age of 68 years. Infections are often mono-microbial (76%) due to *Staphylococcus aureus* (19.94%) as the leader, followed by *Proteus mirabilis* (12.90%). Following the results of the resistance to antibiotics of the isolated strains, it appears that: *S. aureus* exhibits a high rate of resistance to β -lactams, M.L.S and aminoglycosides. Enterococci are resistant to M.L.S and cyclins. Glycopeptides remain the most active antibiotics on Gram-positive Cocci, and imipenem remains the most regularly active antibiotic on Enterobacteriaceae.

Keywords: diabetes, diabetic foot, diabetic foot infection, antibiotic therapy.

الملخص :

تعد عدوى القدم السكرية مشكلة صحية عامة حقيقية لها تأثير اجتماعي واقتصادي كبير، على الصعيدين العالمي والوطني، حيث يتم إجراء أكثر من مليون بتر كل عام .

وجود الجراثيم المقاومة للمضادات الحيوية يمكن أن يؤدي إلى تفاقم هذه العدوى. تعدد العوامل التي تؤثر على تطور عدوى القدم السكرية يبرر تنظيم رعاية لهؤلاء المرضى ضمن وضع متعدد التخصصات. يجب أن يسترشد العلاج بالمضادات الحيوية بدراسة ميكروبية صحيحة.

كجزء من هذا المشروع البحثي، تم إجراء تربص لمدة شهر في مختبر علم الاحياء الدقيقة في المستشفى العسكري الجهوي الجامعي قسنطينة (م ع ج ق) تتعلق الدراسة بإصابات القدم لدى مرضى السكر في قسم الطب الداخلي .

أخذت العينات من عدة جروح مصابة بالعدوى، بحيث تم إجراء عزل، تحديد السلالات ودراسة خصائص مقاومة المضادات الحيوية.

انجزت دراسة مرجعية لمدة 3 سنوات من 1 جانفي 2017 إلى 31 ديسمبر 2019 على المرضى الذين يعانون من أعراض عدوى القدم السكرية .

أظهرت دراستنا هيمنة الذكور (86%) ومتوسط العمر هو 68 سنة. غالبًا ما تكون العدوى أحادية الميكروبات (76%) حيث ان السلالة التي تم عزلها بنسبة عالية هي *Staphylococcus aureus* (19.94%) و تليها *Proteus mirabilis*: (12,90 %).

بعد نتائج مقاومة السلالات المعزولة للمضادات الحيوية، يبدو أن *S.aureus*. تظهر نسبة عالية من المقاومة لـ β -lactamines و M.L.S و aminosides. أظهرت النتائج ان *les entérocoques* لديهم مقاومة لـ M.L.S و cyclines.

تظل Glycopeptides أكثر المضادات الحيوية نشاطًا على *Cocci* إيجابية الجرام، ويظل *imipenème* هو المضاد الحيوي الأكثر نشاطًا على *Les entérobactéries* .

الكلمات المفتاحية: السكري، القدم السكرية، عدوى القدم السكرية، العلاج بالمضادات الحيوية.

Université Des Frères Mentouri Constantine 1 -Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie	
Département de biologie appliquée	
Soutenu par: BELHEINE Inès BOUIOUR Djhed	Date de soutenance : 15/09/2020
Titre : Microbiologie et traitement antibiotique du pied diabétique infecté	
Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master Professionnel	
En Microbiologie et Hygiène Hospitalière	
<p>Les infections du pied diabétique sont un véritable problème de santé public avec un impact socio-économique considérable, aussi bien à l'échelle mondiale qu'à l'échelle nationale, puisque plus d'un million d'amputation son réalisées chaque année dans le monde chez les malades diabétiques.</p> <p>Cette infection peut être aggravée par la présence de germes résistants aux antibiotiques. La multitude des facteurs qui influencent l'évolution d'une infection du pied diabétique justifie l'organisation de la prise en charge de ces patients sur un mode multidisciplinaire. L'antibiothérapie doit être guidée par une étude microbiologique valide.</p> <p>Dans le cadre de ce projet de recherche, un stage d'un mois a été effectué, au sein du laboratoire de bactériologie de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine (HMRUC). L'étude concerne les infections du pied, chez les diabétiques hospitalisés au niveau du service de médecine interne. Des prélèvements ont été effectués à partir des plaies infectées. A partir des différents échantillons, un isolement, une identification des souches et une étude de profil d'antibio-résistance ont étaient effectués.</p> <p>Une étude rétrospective de 3 ans allant du 1 janvier 2017 au 31 décembre 2019 a été effectuée sur les patients qui présentent les symptômes d'une infection du pied diabétique.</p> <p>Notre étude a montré une prédominance du sexe masculin (86%), l'âge moyen de 68ans. Les infections sont souvent mono-microbiennes (76%) dues aux <i>Staphylococcus aureus</i> (19,94%) comme chef de file, suivie de <i>Proteus mirabilis</i> (12,90 %).</p> <p>A l'issu des résultats de la résistance aux antibiotiques des souches isolées, il ressort que : Les <i>S.aureus</i> présentent un taux de résistance élevé vis-à-vis les β-lactamines, les M.L.S et les aminosides. Les entérocoques résistent aux M.L.S et les cyclines.</p> <p>Les glycopeptides restent les antibiotiques les plus actifs sur les Cocci à Gram positif, et l'imipenème, reste l'antibiotique le plus régulièrement actif sur les entérobactéries.</p>	
Les mots clés : diabète, pied diabétique, infection du pied diabétique, antibiothérapie.	
Laboratoire de recherche Laboratoire central unité de microbiologie-parasitologie, l'hôpital militaire régional universitaire de Constantine (Commandant Abdelali Benbaatouche) (HMRUC).	
Jury d'évaluation :	
Président: Mme. YUCEF ALI Mounia, <i>Maitre de conférences B- UFM Constantine 1</i>	
Rapporteur : Mme. ZITOUNI Hind, <i>Maitre de conférences B - UFM Constantine 1</i>	
Maitre de stage : Mr. RAMDANI Hakim, <i>Maitre-assistant- HMRUC</i>	
Examineur : Mme. OUIBRAHIM Amira, <i>Maitre de conférences B - UFM Constantine 1</i>	