



Université KASDI MERBAH-OUARGLA

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Biologique**



Mémoire En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER ACADEMIQUE

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté par : GASMI Khaoula

SAHRAOUI Hadjer

Thème

***Antibiorésistance des souches bactériennes
impliquées dans les infections du pied
diabétique***

Soutenu publiquement

Le : 27/06/2018

Devant les membres de jury :

Ben AISSA A.	MCA	Président	UKM Ouargla
BOUDERHAM A.	MCB	Examinatrice	UKM Ouargla
OULD EL HADJ-KHELIL A.	Professeur	Encadreur	UKM Ouargla
KHALDI Z.	Doctorante	Co-encadreur	UKM Ouargla

Année Universitaire : 2017/2018

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions le Dieu, notre créateur de nos avoir donné les forces, la volonté et le courage afin d'accomplir ce travail modeste.

*Nous adressons le grand remerciement à notre encadreur **Mme OULD EL HADJ KHELIL AMINA**, professeur à l'université Kasdi Merbah-Ouargla, qui a proposé le thème de ce travail.*

Nous lui exprimons notre gratitude pour l'intérêt qu'elle a porté à ce travail en acceptant de diriger cette étude.

*Nos vifs remerciements et notre profonde gratitude s'adressent à notre Co-encadreur **M^{elle} KHALDI Zohra**, pour les efforts qu'elle a fournis durant notre cursus afin de nous amener jusqu'au bout de la mémoire.*

*Grand remerciement pour notre chère présidente de jury, **Mme Ben AISSA Atika**, et notre examinatrice **M^{elle} BOUDERHAM Amel**, tous les enseignants de département des sciences de la nature et de la vie.*

A tout le personnel du laboratoire de Bactériologie, l'équipe de travail de la maison de diabète, et tous les techniciens du laboratoire de la faculté pour leur professionnalisme et leur aide précieuse, ce travail n'aurait pu aboutir sans leur soutien.

Finalement, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à nos familles qui nous ont toujours soutenues et à tous nos proches et amies qui nous ont toujours soutenues et encouragées au cours de la réalisation de ce rapport.

Merci à toutes et à tous.

LISTE DES ABREVIATION

ADN: Acide désoxyribonucléique

AM: Amoxicilline

AMC: Amoxicilline/acide clavulanique

AMP: Ampicilline

ARN: Acide ribonucléique

ATB: Antibiotiques

ATM: Aztreonam

BEA: Bile Azide Escultine

BGN: Bactéries Gram négatif

BMR: Bactéries multirésistantes

CASFM: Comité Française de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

CMI : concentration minimale inhibitrice

CAZ: Ceftazidime

CFX: Cefalexine

CHP: Chapman

CHU : Centre Hospitalière Universitaire

CIP: Ciprofloxacine

CL: Colistine

CN: Gentamycine

DA: Clindamycine

DO: Densité optique

E: Erythromycine

EBLSE: Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi

EPC: Entérobactéries productrices de la carbapénèmase

EPH: Etablissements Publics Hospitaliers

EPSDQ: Équipe de professionnels de la santé de Diabète Québec

ERV : Entérocoque résistant à la vancomycine

F: Nitrofurantoin

FD: Acide fusidique

FEP: Céfépime

FID: Fédération internationale du diabète

FOX: Céfoxitine

GS: Gélose au sang

I: Intermédiaire

IMP: Imipenème

IPD: Infection du pied diabétique

K: Kanamycine

MAC: Mac conkey

MH: Muller Hinton

MLS: Macrolides, Lincosamides, Streptogramines

MNT: maladies non transmissibles

MY: Lincomycine

NA: Acide nalidixique

OMS: Organisation mondiale de la santé

ONP : Orthonitrophénol

ONPG: l'ortho-nitro-phényl-galactoside

ORL: Oto-rhino-laryngologie

OX: Oxacilline

P: Pénicilline

pH : potentiel d'Hydrogène

R: Résistante

RD: Rifampicine

RM: Rouge de méthyle

S: Sensible

SARM : Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline

SCN: staphylocoques coagulase négatif

SFM : Société Française de Microbiologie

SXT: Triméthoprime-sulfaméthoxazole

TDA : Tryptophane-désaminase

TEC: Teicoplanine

TSI : Triple Sugar Iron

VA : Vancomycine

VP : Vosges-Proskauer

β-gal : β-galactosidase

LISTE DES FIGURES

N°	Titre	Page
01	Diabète insulino-dépendant	03
02	Diabète non insulino-dépendant	04
03	les principales complications du diabète	08
04	Mécanismes de résistance aux antibiotiques	24
05	Développement de la résistance aux antibiotiques	25
06	Répartition des prélèvements selon le type de diabète	40
07	répartition des prélèvements selon le sexe	41
08	Répartitions des prélèvements selon le sexe et la tranche d'âge	41
09	Caractère culturel des prélèvements des patients (A) et des surfaces (B)	42
10	Répartition des cultures bactériennes selon le Gram	49
11	Répartition de la flore Gram positif	50
12	Répartition de la flore Gram négatif	51
13	Fréquence des isolats mono et poly microbiens.	51
14	Fréquence d'isolement et type d'association	52
15	Taux de résistance des staphylocoques isolées des patients aux ATB	53
16	Taux de résistance des SCN aux ATB	54
17	Taux de résistance des Streptocoques aux ATB.	55
18	Taux de résistance des Entérocoque aux ATB (IPD)	56
19	Taux de résistance des <i>Entérocoque</i> au ATB –Environnement	56
20	Taux de résistance des Entérobactéries aux ATB - IPD	57
21	Taux de résistance des Entérobactéries aux ATB – environnement	58
22	Taux de résistance des <i>Acinetobacter spp</i> aux ATB (IPD)	59

LISTE DES PHOTOS

N°	Titre	Page
01	Aspect des colonies de <i>S.aureus</i> (A) et de <i>S.epidermidis</i> (B) sur milieu Chapman enrichi de mannitol.	43
02	Cocci Gram positif (Staphylocoques)	44
03	Test de catalase positive	44
04	Aspect des colonies des Entérocoques sur milieu BEA	45
05	Aspect des colonies de streptocoques sur la gélose au sang	46
06	Test de la catalase négatif	46
07	Aspects des Colonies (lac+) (A) et (lac-) (B)	47
08	Bacille Gram négatif	47
09	Testes biochimiques classiques	48
10	Résulta sur milieu King A et King B	48
11	Antibiogramme sur milieu MH (A) et sur milieu MH additionné de sang (B)	53

LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Titre	Page
I	Antibiotiques utilisés pour l'étude de l'antibiorésistance des souches isolées	30
II	Différents service de EPH Mohammed Boudiaf.	31
III	Résultats de la lecture du test de coagulase	43
IV	Profil de résistances de <i>Staphylococcus spp</i> isolées à partir des surfaces aux ATB	56
V	Taux de résistance de <i>Pseudomonas spp</i> aux ATB	60

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ABREVIATION

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES PHOTOS

Introduction.....01

PARTIE 1 : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : le diabète

I.1. Définition du diabète.....	03
I.2. Classification du diabète.....	03
I.2.1 Diabète type1.....	03
I.2.2 Diabète type 2.....	04
I.2.3 Diabète de la grossesse.....	04
I.3. Complications du diabète.....	05
I.3.1 Macroangiopathie.....	05
I.3.2 Microangiopathie.....	05
I.3.2.1 Néphropathie.....	05
I.3.2.3 Rétinopathie.....	06
I.3.2.3 Neuropathie.....	06
I.3.3 Complication de la grossesse.....	06
I.3.4 Complication buccodentaire.....	07
I.3.5 Pied diabétique.....	07

I.4. Prévalence de diabète.....	09
---------------------------------	----

Chapitre II : infection du pied diabétique

II.1. Définition du l'infection.....	10
II.2. Facture de risque du diabète.....	10
II.2.1 Neuropathie.....	10
II.2.2 Ischémie.....	11
II.2.3 Infection.....	11
II.3. Classification de la plaie.....	11
II.4. Agents causaux de l'infection pied diabétique.....	12
II.4.1. Staphylocoques.....	12
II.4.2. Streptocoques.....	12
II.4.3. Entérobactéries.....	13
II.4.4. Pseudomonas.....	13
II.4.5. Enterocoques.....	13
II.5. Antibiothérapie.....	14

Chapitre III : Antibiotiques et antibiorésistance

III.1. Définition des antibiotiques.....	15
III.2. Critère de classification des antibiotiques.....	15
III.2.1. Origine.....	15
III.2.2. Mode d'action.....	15
a- sur la paroi bactérienne.....	15
b- sur la membrane cellulaire.....	15
c- sur l'ADN.....	16
d- sur le ribosome.....	16

III.2.3 Spectre d'action	16
III.2.3.1 Antibiotique a spectre large.....	16
III.2.3.2 Antibiotique a spectre étroit.....	16
III.2.4.Nature chimique.....	16
III.3. Principales familles des antibiotiques	17
III.3.1. Bétalactamines.....	17
III.3.2. Glycopeptides.....	17
III.3.3. Aminosides.....	17
III.3.4. Quinolones.....	18
III.3.5. Macrolides.....	18
III.3.6. Rifamycines.....	18
III.3.7. Polymixines.....	18
III.3.8. Produits nitriques.....	19
III.4. Définition de la résistance	19
III.4.1. Types de résistance.....	19
III.4.1.1. Résistance naturelle.....	19
III.4.1.2. Résistance acquise.....	20
III.5. Support génétique de la résistance.....	20
III.5.1. Résistance chromosomique (mutation).....	20
III.5.2. Résistance extra-chromosomique.....	21
III.5.2.1.Plasmides.....	21
III.5.2.2.Transposons.....	21
III.6. Mécanismes de résistance	21
III.6.1 Inhibition enzymatique.....	21
III.6.2 Diminution de la perméabilité de la membrane	22

III.6.3 Modification de la cible.....	22
III.6.4 Efflux actif.....	22
III.7. Evolution de la résistance des bactéries aux antibiotiques.....	23
III.8. Bactéries multirésistantes.....	24
III.8.1. Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (EBLSE).....	24
III.8.2 <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méthicilline (SARM).....	24
III.8.3 Entérocoque résistant à la vancomycine (ERV).....	25
III.8.4. Entérobactéries productrices de la carbapénèmase (EPC).....	25
IV.1. Définition de l'environnement hospitalier.....	26
IV.2. contamination de l'environnement hospitalier par les bactéries.....	26
IV.3. Rôle de l'environnement dans la survenue des infections.....	27
IV.4. Résistance aux antibiotiques des bactéries de l'environnement hospitalier.....	27

PARTIE 2 : TRAVAIL EXPERIMENTALE

Chapitre I : Matériel et méthodes

I. Matériel.....	28
I.1. Matériel biologique.....	28
I.2. Milieux de culture.....	28
I.2.1 Milieux de culture solide.....	28
I.2.2. Milieux de culture liquides.....	28
I.3. Tests biochimiques.....	28
I.4. Réactifs.....	29
I.5. Antibiotique en disques.....	29
II. Méthodes.....	30

II.1. Présentation de site d'étude.....	30
II.1.2. EPH Mohammed Boudiaf.....	30
II.1.3. Maison de diabète.....	31
II.2. Données recueillies.....	31
II.3. Méthodes de prélèvement.....	31
II.3.1. A partir des pieds infectés.....	31
II.3.2. A partir de l'environnement hospitalier (surfaces).....	31
II.4. Isolement et purification.....	32
II.5. Méthode de pré-identification.....	32
II.5.1. Identification macroscopique	32
II.5.2 Coloration de Gram.....	32
II.5.3 Recherche de la catalase	33
II.5.4. Recherche d'oxydase.....	33
II.6. Recherches des bactéries Gram positifs.....	34
II.6.1. Recherches des staphylocoques.....	34
a. Fermentation de mannitol.....	34
b- Recherche de la coagulase.....	34
II.6.2. Recherches des streptocoques hémolytiques.....	34
II.6.3. Recherche des Enterocoques.....	35
II.6.4. Recherches des bactéries à Gram négatif	35
a. Milieu TSI.....	35
b. Utilisation de citrate.....	35
c. Recherche de l'uréase.....	36
e. Mannitol-mobilité.....	36
f. Production de la B-galactosidase (Disques ONPG).....	37

j. Détermination de la voie de fermentation de glucose (test RM et VP).....	37
h. Production des pigments.....	38
II.7. Conservation des souches.....	38
II.8. Test de la sensibilité aux antibiotiques (ATB gramme standard).....	38

Chapitre II Résultats et discussions

II.1. Résultats des prélèvements.....	40
II.1.1 Répartitions des prélèvements selon le type de diabète.....	40
II.1.2 Répartition des prélèvements selon le sexe.....	40
II.1.3. Répartitions des prélèvements selon le sexe et la tranche d'âge.....	41
II.1.4. Répartition de l'examen bactériologique des échantillons prélevés.....	42
II.2. Résultats des analyses bactériologiques.....	42
II.2.1. Isolement et identifications des staphylocoques.....	43
II.2.1.1. Caractéristiques phénotypiques des souches.....	43
a. Aspect des colonies.....	43
b. Coloration de Gram.....	43
c. Test de la catalase.....	44
d. Test de la coagulase libre.....	44
II.2.2. Isolement et identification des streptocoques et des entérocoques.....	45
a- Aspect des colonies.....	45
b- Coloration de Gram.....	46
c- Test de la catalase.....	46
II.2.3. isolement et identification des bacilles à Gram négatif.....	47
a. Aspect des colonies.....	47

b. Coloration de Gram.....	47
c. Identification biochimique par la galerie classique.....	45
II.2.4. Répartition de la flore bactérienne selon le Gram.....	49
II.2.5. Répartition de la flore de Gram positif.....	49
II.2.6. Répartition de la flore Gram négatif.....	50
II.2.7 Fréquences des isolats poly microbiens.....	51
II.2.8. Fréquence d'isolement et type d'association.....	49
II.3. Résultats de l'antibiogramme.....	52
II.3.1 Taux de résistance des staphylocoques aux antibiotiques.....	52
II.3.2 Taux de résistance des Streptocoques aux ATB.....	55
II.3.3 Taux de résistances des Entérocoques aux antibiotiques.....	56
II.3.4. Taux de résistance des Bactéries de Gram négatif aux ATB.....	57
II.3.4.1. Taux de résistance des Entérobactéries aux antibiotiques.....	57
II.3.4.2. Taux de résistance des <i>Acinetobacter</i> aux ATB.....	58
II.3.4.3. Taux de résistance de <i>Pseudomonas</i> aux ATB.....	59

Conclusion

Références bibliographiques

ANNEXES

Introduction

Introduction

Le diabète est un problème majeur de santé publique à l'échelle mondiale. Il est considéré comme une des quatre maladies non-transmissibles (MNT) prioritaire identifiées par l'OMS reconnue comme épidémie mondiale (OMS, 2013).

L'évolution de cette maladie est silencieuse et insidieuse jusqu'à l'apparition des complications lourdes (Mansour, 2012), comme les maladies cardiovasculaires, l'insuffisance rénale et les problèmes oculaires, mais les complications au niveau des pieds sont parmi les plus fréquentes et redoutées (Eszter *et al.*, 2010).

Le pied diabétique est défini comme un pied qui présente des lésions allant des simples phlyctènes, petites plaies aux ulcérations qui peuvent s'infecter, et aussi des lésions détruisant les tissus profonds. Les cas les plus graves peuvent aboutir aux amputations. Toutes ces lésions sont associées à un désordre neurologique ainsi qu'à une maladie vasculaire du membre inférieur et/ou des complications métaboliques du diabète (Chand *et al.*, 2012).

L'infection qui intervient comme élément aggravant et augmentant le risque d'amputation (Amarir, 2014), est due à la présence d'une flore poly-microbienne retrouvée au niveau de plaie du pied telle que les Cocci Gram positifs (Staphylocoque doré, Staphylocoque coagulase négatif, Streptocoque, Entérocoque), Bacille Gram négatif (Proteus, Escherichia coli, Klebsielle, Enterobacter, Pseudomonas) (Zemmouri *et al.*, 2015).

L'antibiothérapie ne sera débutée qu'en cas de signe clinique ce qui nécessite l'identification de l'agent causale provenant des flores endogènes ou de l'environnement. Dans tous les cas, les bactéries ubiquitaires de l'environnement hospitalier qui doivent être considérées la plupart du temps comme non pathogènes peuvent être incriminées dans l'infection et colonisent facilement les plaies des patients hospitalisés, et peut être à l'origine d'infections graves sur des terrains fragilisés (Hartemann *et al.*, 2000).

L'infection du pied diabétique est une cause non négligeable d'antibiothérapie non justifiée et participe à ce titre, à l'aggravation de la résistance bactérienne et à son extension au travers des soins. Il est donc primordial de connaître l'écologie bactérienne des infections du pied diabétique dans les institutions de santé pour permettre une prise en charge adéquate et un usage optimal des antibiotiques, avec l'espoir de réduire le risque d'amputation et d'émergence de bactéries multi résistantes (Aich, 2017).

Les objectifs de ce travail étaient :

- isoler et identifier les principales souches bactériennes responsables des infections du pied diabétique des patients admis à l'EPH Mohamed Boudiaf ou en consultation à la maison du diabète ;
- isoler et identifier les principales souches bactériennes de l'environnement hospitalier qui peuvent être impliqués dans ces infections ;
- étudier le profil de l'antibiorésistance des souches isolées.

*Partie I : Synthèse
bibliographique*

Chapitre I :
Généralités sur le
diabète

I.1. Définition du diabète

Le diabète est une maladie métabolique chronique caractérisée par des taux élevés de glucose dans le sang (Pedgrift, 2011), ou hyperglycémie (glycémie à jeun supérieur à 1,26g /l ou 7mmol/l au moins à deux reprises) (American Diabetes Association ,2013) qui perturbe le métabolisme des glucides, et par conséquent des lipides et des protéines (Wens *et al.*,2007).

I.2. Classification du diabète

I.2.1. Diabète de type 1

Le diabète de type 1 est une maladie métabolique chronique auto-immune, survient généralement chez les sujets jeunes, qui consiste en la destruction progressive des cellules bêta (indispensables à la sécrétion d'insuline) des îlots de Langerhans du pancréas (Elodie, 2015). Ainsi les personnes atteintes du diabète de type 1 sont insulino-dépendantes (dépendant des injections d'insuline) (Perez, 2014) . (figure 01)

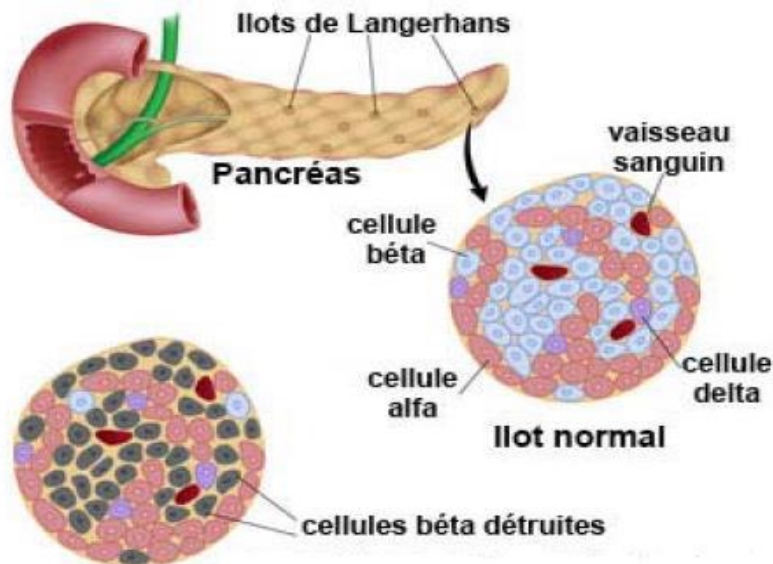


Figure 01 : Diabète insulino-dépendant (Sylvie, 2009).

I.2.2. Diabète de type 2

Le diabète de type 2 (Nommé autrefois non insulino-dépendant) (OMS ,2016) caractérisé par une résistance à l'insuline c'est-à-dire l'incapacité de l'organisme à réagir correctement à l'action de l'insuline produite par le pancréas, et une carence relative de la sécrétion d'insuline (Louis, 2010). (figure 02)

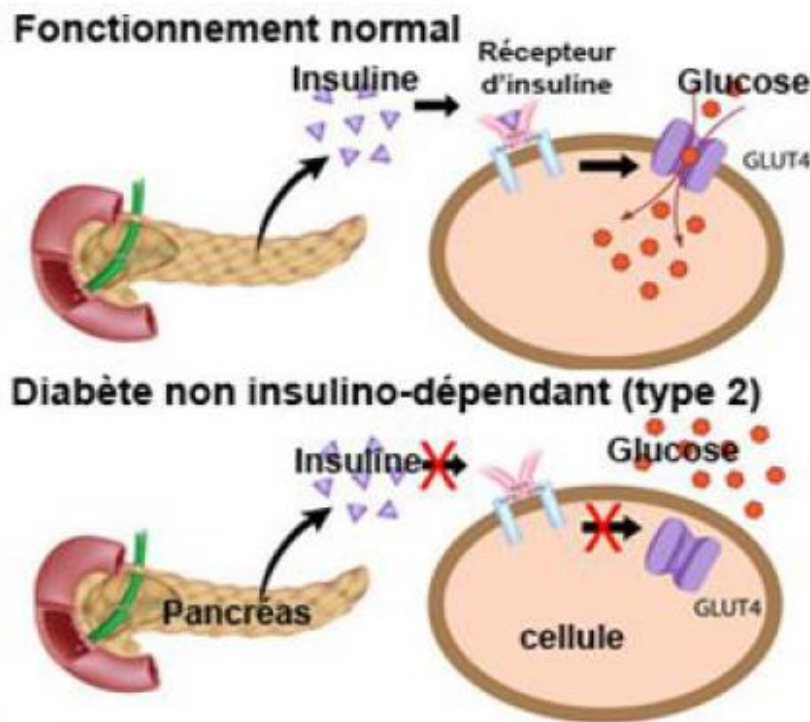


Figure 02 : Diabète non insulino-dépendant (Sylvie, 2011).

I.2.3. Diabète de la grossesse

Le diabète de la grossesse (Aussi appelé diabète gestationnel), défini par l'OMS comme un trouble de la tolérance glucidique conduisant à une hyperglycémie de sévérité variable. Il se manifeste par une augmentation de la glycémie vers la fin du deuxième et au troisième trimestre de la grossesse. Il résulte d'une résistance des cellules à l'action de l'insuline, causée naturellement durant la grossesse par les hormones du placenta (EPSDQ, 2014).

I.3. Complications du diabète

Le diabète sucré peut être responsable de multiples complications chroniques qui touchent de nombreux organes (**Valensi et Cosson, 2006**) (**Figure 03**). Parmi ces complications chroniques, on distingue :

I.3.1. Macroangiopathie

Le diabète est un facteur de risque de la macroangiopathie (**Raccach, 2004**). Un des exemples de cette macroangiopathie est l'athérosclérose qui est une des complications sévères du diabète. Il s'agit de complications macrovasculaires (atteinte des artères de calibre supérieur à 200µm) (**Guillet, 2010**). La macroangiopathie concerne le cœur (infarctus du myocarde), le cerveau et les membres inférieurs avec l'artérite (**Chevenne, 2004**).

I.3.2. Microangiopathie

La microangiopathie touche les petits vaisseaux (artérioles, veinules et capillaires de diamètre inférieur à 30 µm). 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 microvaisseaux rénaux (néphropathie) et rétiniens (Rétinopathie) (**Raccach, 2004**).

I.3.2.1. Néphropathie diabétique

Elle apparaît suite à une hypertrophie rénale et une augmentation de la filtration glomérulaire, le problème des lésions peut être résolu avec un meilleur équilibre glycémiques. (**Simon et Jean, 2000**).

I.3.2.2. Rétinopathie diabétique

Les premières lésions histologiques de la rétinopathie diabétique sont l'épaississement de la membrane basale, la perte des péricytes puis la perte des cellules endothéliales des capillaires rétiniens aboutissant à leur obstruction (**Raccach, 2004**). Elle peut, en l'absence de traitement, provoquer une diminution très importante de la vision (malvoyance), voire même une perte complète de la vue (cécité) (**Maurice, 2004**).

I.3.2.3 Neuropathie diabétique

Lorsque la glycémie et la tension artérielle sont très élevées, le diabète peut provoquer des lésions nerveuses dans l'ensemble de l'organisme (neuropathie). Elle prédomine aux niveaux des membres inférieurs en raison de la plus grande fragilité des fibres longues sensibles peu myélinisés (**Gourdi et al., 2008**). Les dommages causés aux nerfs dans ces régions sont appelés neuropathie périphérique et peuvent provoquer des douleurs, des fourmillements ou une perte de sensations. Comme la personne n'a plus de sensations, les blessures passent inaperçues et peuvent donner lieu à des infections graves et à une ulcération, un pied diabétique et une amputation (**FID, 2013**).

I.3.3. Complications de la grossesse

Une glycémie élevée pendant la grossesse peut entraîner, chez le fœtus, des modifications qui induisent une taille et un poids excessifs ainsi qu'une surproduction d'insuline. Il peut en résulter des problèmes lors de l'accouchement, des blessures pour l'enfant et la mère et une baisse soudaine de la glycémie (hypoglycémie) chez l'enfant après l'accouchement. Les enfants exposés à une hyperglycémie de longue durée dans l'utérus sont davantage susceptibles de développer un diabète de type 2 plus tard dans la vie (**FID, 2013**).

I.3.4. Complication buccodentaire

La parodontite est une pathologie inflammatoire qui induit une destruction des tissus de soutien de la dent, en particulier de l'os alvéolaire. La prévalence et la sévérité de la parodontite sont plus importantes chez les patients diabétiques. Il est établi que le diabète constitue un facteur de risque pour les parodontopathies (**Soell, 2007**).

I.3.5. Pied diabétique

Le pied diabétique est un « pied à risque » car il présente des plaies fréquentes et chroniques chez des patients atteints d'une pathologie chronique, multi-traités et hospitalisés et donc à risque de contamination, colonisation et infections (**Lachgard, 2016**).

Le terme pied diabétique désigne les lésions du pied observées chez le patient diabétique, qu'il soit traité par antidiabétique oraux ou par insuline (**Ragalon et Vanwujick, 2005**). Le pied diabétique se manifeste à la suite d'une hyperglycémie chronique qui peut affecté non seulement le système nerveux périphérique, mais également les systèmes vasculaires et locomoteurs. Le retard dans la cicatrisation des plaies expose le pied diabétique à l'infection, augmentant ainsi les risques d'amputation (**Denise, 2002**).

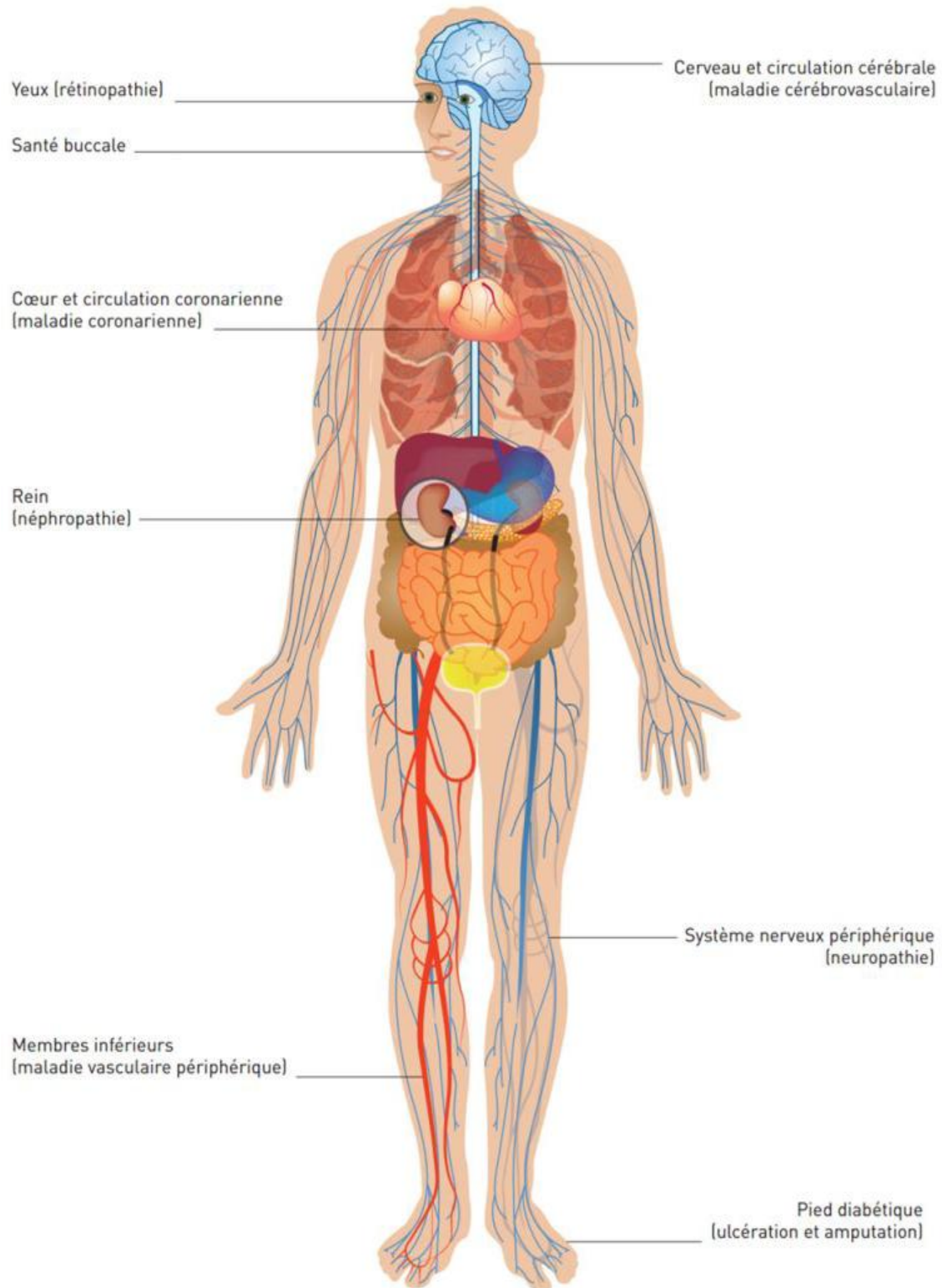


Figure 03 : les principales complications du diabète (FID, 2013)

I.4. Prévalence du diabète

L'OMS a estimé qu'en 1994 le nombre de diabétiques dans le monde est de 110,4 millions. Ce chiffre passera en l'an 2010 à 239,3 millions, et 382 millions en 2013 selon FID. Le diabète de type 2 représente la majorité des cas de diabète avec un pourcentage de 85-95% par contre le type 1 représente 5-10% des cas. En 2012, il été estimé que 1,5 million de décès étaient directement dus au diabète et que 2,2 millions de décès supplémentaires devaient être attribués à l'hyperglycémie **(OMS, 2013)**.

En Afrique, 19,5 millions d'adultes sont actuellement atteints de diabète, avec une prévalence de 4,9%. Malgré que cette région compte le moins de personnes atteintes de diabète, ce chiffre devrait doubler d'ici à 2035**(FID, 2013)**.

En Algérie, environ 1,8 million de personnes sont atteintes de diabète avec une prévalence nationale du diabète établie à 6,9%, selon les données du nouveau rapport de FID en 2017.

Les spécialistes divergent sur la quantification du diabète, quatrième cause de mortalité dans le pays. L'étude nationale des indications multiples menée par le ministère de la santé, de la Population et de la Réforme hospitalière, en collaboration avec l'Office national des statistiques et des représentations des Nations unies à Alger, classe quant à elle, la pathologie du diabète en deuxième position, derrière l'hypertension artérielle. Selon ces données, le nombre de personnes atteintes de diabète est en progression. Elle est passée à 0,3% chez les sujets âgés de moins de 35 ans, à 4,1% chez les 35-59 ans et à 12,5% chez les plus de 60 ans **(Chakib, 2011)**.

Chapitre II :
Infection du pied
diabétique

II.1 Définition de l'infection du pied diabétique

L'infection est définie par une invasion tissulaire avec multiplication de microorganismes entraînant des dégâts tissulaires avec ou sans réponse inflammatoire de l'organisme (**Bernard, 2006**). L'infection du pied diabétique pouvant être superficielle mais avec un risque d'atteinte profonde pouvant menacer les tissus, les gaines et tendons, et surtout les structures osseuses (**Pedgrift, 2011**).

II.2. Facteurs de risque du pied diabétique

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. Trois mécanismes diversement associés peuvent être impliqués (Facteurs pathogéniques) dans l'apparition du pied diabétique (**Pedgrift, 2011**).

II.2.1 Neuropathie

La neuropathie est plus fréquente après nombreuses années d'évolution de la maladie ou en cas de mauvais contrôle glycémique (**Gurnell, 2009**), elle est également favorisée par la grande taille, le sexe masculin et l'alcoolisme. Le mal perforant plantaire est le trouble trophique caractéristique de la neuropathie diabétique (**Grimaldi, 2005**).

L'accumulation de sucre dans les cellules nerveuses (puisque ils sont non insulino-dépendants) va les altérer et gêner leur fonction. La neuropathie autonome entraîne quant à elle une diminution de la sécrétion sudorale conduisant à une sécheresse cutanée avec apparition de crevasses et de fissures au niveau des pieds (**Vandeleene et Leemrijse, 2015**). L'atteinte des microvaisseaux va encore accélérer ce processus, conduisant à une baisse de la sensibilité, ce phénomène est très grave en particulier aux niveaux des extrémités et des plaies vont apparaître aux pieds sans qu'il s'en aperçoive (**Ménat, 2005**).

II.2.2. Ischémie

L'artériopathie des membres inférieurs est plus fréquente et de localisation plus diffuse et plus distale chez le patient diabétique. Son évolution est plus grave, souvent indolore, sans claudication intermittente du fait de la neuropathie fréquemment associée (**SFDA, 2015**). Son incidence augmente avec l'âge et l'ancienneté du diabète. Si l'artériopathie est rarement directement à l'origine d'une ulcération du pied, en revanche elle est un facteur d'aggravation très important. Elle est à l'origine de retard de cicatrisation et d'évolution vers la nécrose ou la gangrène en causant une réduction de l'afflux sanguin au site de la plaie en diminuant ainsi l'apport des facteurs endogènes et les antibiotiques impliqués dans la lutte contre l'infection (**Malgrange, 2008**).

II.2.3. Infection

L'infection est souvent poly-microbienne chez le diabétique et de diffusion rapide. Elle est favorisée par le déséquilibre glycémique qu'elle aggrave et l'artériopathie qui empêche l'apport des facteurs anti-infectieux circulant dans le sang des patients (cellules, médiateurs chimiques, antibiotiques, etc...) (**Pedgrift, 2011**). Les symptômes de l'infection et les signes inflammatoires locaux peuvent être réduits (en particulier la douleur) du fait de la neuropathie et/ou de l'artériopathie associé (**Senneville, 2008**).

Il existe d'autres facteurs déclenchant qui peuvent aussi être en cause tel que la morphologie du pied (pied creux, hallux valgus, griffes d'orteil...), Hyperkératose plantaire, Diminution des amplitudes articulaires, Déformations sévères du pied (pied de Charcot), Chaussage inadapté (trop étroit, coutures proéminentes), Corps étranger (caillou, clou...), Marche à pied nus, Non-surveillance quotidienne des pieds, Impossibilité d'auto-soins, Manque d'hygiène (hyperkératose non-traitée), Soins inadaptés des ongles, Amputations mal réalisées, Résection d'une ou plusieurs têtes métatarsiennes (**Amarir, 2014**).

II.3. Classifications de la plaie

L'objectif d'une classification des plaies du pied diabétique est de documenter et grader la sévérité de la plaie et évaluer le pronostic (délai de cicatrisation, risque d'amputation, etc.) pour permettre une prise en charge standardisée et adaptée à chaque type de plaie (**Pedgrift, 2011**). (**Annexe 03**)

II.4. Agents causaux de l'infection pied diabétique

La microbiologie des lésions du pied chez le diabétique est caractérisée par la présence de plusieurs agents pathogènes. Plusieurs études montre que le profil bactériologique des patients est plus souvent poly-microbien et que les cocci à Gram positive sont plus prévalent que les bacilles a Gram négative (**Akwah et al., 2015**). Parmi les agents causaux de l'infection des pieds, on distingue :

II.4.1. Staphylocoques

Le staphylocoque est l'un des pathogènes bactériens les plus importants dans la pratique clinique (**Bagnoli et al., 2017**). Ce sont des cocci à Gram positif classiquement disposés en amas. L'espèce *S. aureus* se distingue généralement des autres staphylocoques appelés staphylocoques à coagulas négative (SCN) par la présence d'une coagulas. *S. aureus* a un potentiel de pathogénicité très important et est responsable aussi bien d'infections communautaires que nosocomiales par opposition, les SCN sont en règle générale des bactéries opportunistes essentiellement responsables d'infections nosocomiales. Leur transmission intra ou interhumaine s'opère généralement par contact direct (manuportage). Plus rarement, elle peut être indirecte à partir d'une source environnementale (vêtements, draps, matériels médicaux) (**Verdier et al., 2015**).

II.4.2. Streptocoques

Bactéries appartenant au genre *Streptococcus* (du grec streptos: collier, kokkos: graine) sont des cocci à Gram positif très répandues disposant typiquement en chaînette en plus ou moins longues, non sporulant, aéro-anaérof facultative catalase négative (**Pebret, 2003**).

On distingue ainsi les streptocoques β -hémolytiques qui lysent les hématies avec destruction complète du stroma globulaire autour des colonies, les streptocoques α -hémolytiques qui ne provoquent qu'une lyse incomplète avec souvent un reflet verdâtre au milieu de la culture (*Streptococcus viridans*) et enfin les streptocoques non hémolytiques. (**Académie Nationale de pharmacie, 2017**).

II.4.3. Entérobactéries

Les entérobactéries sont une famille très hétérogène pour ce qui est de leur pathogénie et de leur écologie. Les espèces qui composent cette famille sont en effet soit parasites (*Shigella*, *Yersinia pestis*), soit commensales (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella sp*), soit encore saprophytes (*Serratia sp*, *Enterobacter sp*) (CHU-PS, 2003).

Les entérobactéries sont des bacilles Gram négatif droits, mobiles par flagelles péritriches, ou immobiles, non sporulés, aérobies facultatifs, produisant de l'acide à partir du glucose, catalase positive, oxydase négative, réduisent habituellement les nitrates en nitrite (Cristian, 2008 ; Madigan et Martinko, 2007).

II.4.4. Pseudomonas

Pseudomonas sp est une bactérie ubiquiste, pathogène opportuniste. C'est un bacille a Gram négatif à extrémité effilée ou arrondie, régulière, fins très mobile par ciliature polaire, c'est une bactérie aérobie stricte, non exigent (Somipev, 2017).

Pseudomonas aeruginosa est un pathogène opportuniste responsable d'infections nosocomiales graves, d'infections potentiellement mortelles chez les personnes immunodéprimées. (Ben Haj , 2011).

II.4.5. Enterocoques

Les *Enterococcus* sont des coccoïdes Gram positives, se présentent sous forme de cellules isolées, par paire ou encore sous forme de chaînette oxydase positifs, généralement catalase négatifs. Certaines espèces présentent une activité pseudo-catalase. Ils sont généralement des anaérobies facultatifs et non mobiles. (Schleifer *et al.*, 1984).

II.5. Antibiothérapie

L'antibiothérapie est le moyen thérapeutique, pour venir à bout d'une infection en utilisant un ou plusieurs médicaments anti-infectieux, appartenant à la classe des antibiotiques et dont l'activité s'exerce contre les bactéries à l'origine de cette infection (**Hordé, 2014**).

Lorsqu'une IPD est diagnostiquée, l'antibiothérapie doit souvent être prescrite sans délai en raison du risque d'une évolution rapidement défavorable à tout moment, il s'agit donc dans la plupart des cas d'une antibiothérapie le plus souvent de type probabiliste (**Senneville, 2008**).

Devant une plaie superficielle, un intertrigo, le germe le plus souvent responsable est le staphylocoque doré. Après avoir fait des prélèvements bactériologiques, on utilise un antibiotique à spectre étroit, anti-staphylococcique (oxacilline, pristinamycine). Devant une plaie profonde ou un pied très inflammatoire avec signes de cellulite, il faut avoir recours à une bi ou une trithérapie, utilisant les quinolones, les aminosides (attention à la fonction rénale), l'amoxicilline associée à l'acide clavulanique ou enfin la rifamycine. Cependant les associations doivent être adaptées à l'antibiogramme et prudents pour éviter de sélectionner des germes nosocomiaux (**Bouysset, 2004**).

Le choix des antibiotiques doit tenir compte essentiellement de deux paramètres, l'efficacité vis-à-vis du ou des germes pathogènes et la capacité à éviter la sélection de bactéries multi résistantes (**Hartmann et al ., 2000**). Certains éléments de la plaie peuvent orienter le choix antibiotiques (**Annexe 1**) .

Le risque de sélectionner ou de se trouver confronté à des bactéries multirésistantes (BMR) est élevé dans le cadre de la prise en charge du pied diabétique infecté. Ce risque est dû au fait que les plaies sont polymicrobiennes, souvent prises en charge en milieu hospitalier ou chez un patient ambulatoire fréquentant l'hôpital, et donc contaminées par des microorganismes déjà résistants à un ou plusieurs antibiotiques (**Diamantopoulos et al ., 1998**).

Chapitre III :
Antibiotiques et
antibiorésistance

III.1. Définition des antibiotiques

Les antibiotiques sont des substances chimiques, élaborées par des micro-organismes ou par synthèse chimique, capables d'inhiber la multiplication ou de détruire des bactéries (**Caruba et Jaccoulet,2015**). Le rôle des antibiotiques est d'abord d'abaisser la quantité de bactéries présentes au site infectieux (réduction de l'inoculum bactérien) pour permettre aux défenses immunitaire d'assurer leur rôle (**Moutonet al., 2000**).

III.2. Critères de classification

Les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères.

III.2.1. Origine

Les antibiotiques peuvent être naturels, c'est à dire produite par des microorganismes (champignons microscopiques et bactéries) par exemple, la Pénicilline est produite par un champignon *Penicillium notatum*, hémi synthétiques, résultent de la transformation chimique des composés naturels, ou artificiels, obtenus par une synthèse chimique (**Yala, 2001**).

III.2.2. Mode d'action

Les antibiotiques agissent en général de façon très spécifique sur certaines structures de la cellule bactérienne, cette grande spécificité d'action explique pourquoi les antibiotiques sont actifs à très faible concentration. Cette action s'exerce selon les molécules sur des sites variés (**Meviuset al., 1999 ;Oxoby, 2002**).

a. Sur la paroi bactérienne

En inhibent la dernière étape de la biosynthèse du peptidoglycane (muréine composant essentiel de la paroi bactérienne, qui confère à la bactérie sa forme et sa rigidité, ce qui lui permet de résister à la forte pression osmotique intra cytoplasmique) au cours de la multiplication cellulaire. La nouvelle bactérie n'est plus protégée entraînant ainsi une lyse bactérienne (**Zeba, 2005**).

b. Sur la membrane cellulaire

En désorganisant sa structure et son fonctionnement, ce qui produit des graves troubles d'échanges électrolytiques avec le milieu extérieur (**Buxeraud,2014**).

c. Sur l'ADN

En empêchant la réplication d'ADN (bloquant la progression de l'ADN polymérase) et provoquent une inhibition de la synthèse des bases nucléiques (**Flandroiset al ., 1997**).

d. Sur les ribosomes

Ce qui entraîne l'arrêt de la biosynthèse des protéines ou la formation de protéines anormale (**Hermann, 2005**).

III.2.3. Spectre d'action

Un spectre d'action d'un antibiotique désigne l'ensemble des espèces bactérienne sensibles à l'antibiotique par effet bactéricide ou bactériostatique (**Talbertet al., 2009**).

On distingue :

III.2.3.1. Antibiotique a spectre large

Il s'agit d'un antibiotique efficace sur un grand nombre de types de germes. Ainsi, l'antibiotique sera actif sur une grande partie de tous les cocci et de tous les bacilles. Les antibiotiques à spectre large seront utilisés lorsque le germe n'est pas identifié et que la pathologie peut être due à différents type de germes (**Stora, 2013**).

III.2.3.2. Antibiotique a spectre étroit

Les antibiotiques a spectre étroit, ayant une action limitée (antibiotique des bactéries à Gram positif par exemple) ou très limitée (antibiotiques anti staphylococciques par exemple) sur les bactéries (**Delarras, 2014**).

III.2.4. Nature chimique

La classification selon la nature chimique basée souvent sur une structure de base par exemple la famille des bétalactamines dont la structure de base est le cycle béta-lactame sur laquelle il y a ensuite hémi synthèse. Elle permet de classer les antibiotiques en familles (bétalactamines, aminosides, tétracyclines.....etc.) (**Benabbou, 2012**).

III.3.Principales familles des antibiotiques**III.3.1. Bétalactamines**

La structure chimique de base de ses molécules, un cycle à 4 atomes dont un azote, le noyau beta-lactame donne le nom à cette famille complexe divisé en 4 sous familles, les pénicillines ou pénames, les céphalosporines (céphèmes), les carbapénames, les bétalactamines monocycliques (mono-bactames) (**Gazenge et Orecchioni, 2013**).

Les bétalactamines agissent au niveau de la paroi bactérienne en inhibant la dernière étape de la synthèse du peptidoglycane entraînant une lyse bactérienne (**Yala et al., 2001**).

III.3.2. Glycopeptides

Les Glycopeptides (vancomycine, teicoplanine), inhibent la synthèse de peptidoglycanes membranaires (effet bactéricides) (**Pebert, 2003**). Ils ne sont actives que contre les bactéries a Gram positif car ces molécules volumineuse hydrophile ne peuvent traverser la membrane externe des bactéries a Gram négatif au niveau des porines (**Gazenge et Orecchioni, 2013**).donc les bactéries Gram négatif sont naturellement résistantes par imperméabilité (**Mouton et Deboscker, 2000**).

III.3.3. Aminosides

Les aminosides sont des antibiotiques très largement utilisés pour combattre les infections sévères également appelés aminoglycosides, oligosaccharides ou amino-cyclidols sont constitués de sucres aminés dérivés du noyau 2 doxystreptamine et élaborés par des actinomycètes (Amykacine, Tobramycine) ou des micromonospora (gentamicine) (**Ezaitouniet al., 1999**).

Ils perturbent la synthèse des protéines au niveau de la fraction 30S du ribosome entraînant la destruction bactérienne. Ils sont bactéricides. Le spectre d'action des aminosides est Théoriquement très large, agissant sur les germes à Gram négatif aérobie (entérobactéries (*Escherichiaspp*, *Citrobacterspp*, *Klebsiellaspp*, *Proteusspp*, *Shigellaspp*, *Salmonellaspp*) et les bacilles a Gram positif (*Listeriaspp*) (**Yala et al ., 2001**). Leurs action est inconstante sur les Cocci en général. Ils sont actifs sur les *staphylococcus aureus* sécréteurs de pénicillinase, sur les Cocci à Gram négatif, *Neisseriameningitidis*et *Neisseriagonorrhoeae*(**Faucher et Sourisse, 2010**).

III.3.4. Quinolones

Les quinolones constituent un groupe relativement nouveau d'agent antimicrobien. Ils sont dérivés de l'acide nalidixique, et possèdent toute fois un spectre plus large vis-à-vis des germes à Gram négatifs, notamment les entérobactéries (**selecta ,1996**) mais aussi ils sont actif sur les coques à Gram positif, les mycoplasmes et les chlamydiae. Leurs mécanismes d'action est bactéricide du fait qu'elles empêchent la réplication de l'ADN bactérienne toutefois il arrive que la bactérie survive mais devient incapable de se multiplier, c'est ce que l'on appelle l'effet bactériostatique post antibiotique qui persiste après l'arrêt du traitement (**Bayot et Faron, 2014**).

III.3.5. Macrolides

Les macrolides sont caractérisés par leur structure de base, comprenant un cycle lactonique portant des chaînes osidique. Ces antibiotiques inhibent la synthèse protéique des germes cible par fixation de leur sous unité 50S ce qui empêche éventuellement l'élongation de la chaîne protéique. Ils sont bactériostatiques (**Nicolas et Thivolet, 2002**).

Le spectre d'activité des macrolides couvre principalement les germes à Gram positif, mais ils présentent aussi une excellente efficacité contre un nombre limité de germes à gram négatif (*Moraxellacatrrhalis* et *Legionellaspp*) (**Yernault et Demedts, 1997**).

III.3.6. Rifamycines

Les rifamycines constituent un groupe d'antibiotiques macrocycliques isolés de *Streptomycesmediterranei*. Ces molécules se lie à l'ARN polymérase et bloque la formation de la chaîne de l'acide ribonucléique (**Le Coz, 2010**).

Elles ont une action bactéricide sur les germes Gram positif (en particulier les staphylocoques) et Gram négatif (*Neisseriameningitidis* et *gonorrhoeaspp*) et très bonne activité sur les mycobactéries (**Kirkiacharian, 2010**).

III.3.7. Polymixines

Ce sont des substances basiques possédant une structure cyclique et un acide gras à chaîne ramifiée. Ces antibiotiques polypeptidiques sont bactéricides et actifs uniquement contre des germes Gram négatif (Entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa*) (**Bustany et Riffaud, 1993**). Les polymixines enrobent la membrane cellulaire bactérienne et détruisent sa fonction osmotique de barrière de perméabilité sélective (**Jawetz et al ., 1973**).

III.3.8. Produits Nitrés

Les produit nitrés sont des prodrogues dont certaines bactéries peuvent réduire le radical (NO₂) ce qui fait apparaître un dérivé toxique pour l'ADN par substitutions de bases ou cassures (**Guergouri, 2014**).

III.4. Définition de la résistance

Une souche microbienne est dite résistante lorsqu'elle se cultive en présence de concentration plus élevée en antibiotique comparativement à d'autres souches qui lui sont phylogénétique-ment liées (**Guardabassi et Courvalin, 2006**), c'est-à-dire, elle supporte une concentration d'antibiotique plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce.

La concentration minimale inhibitrice (CMI) d'un antibiotique correspond à la plus faible concentration capable d'inhiber toute croissance visible des bactéries d'un inoculum (**Andrews, 2001**).

Pour une souche microbienne résistante la CMI de la bactérie est très au-dessus de la concentration de l'antibiotique au niveau de site infectieux (**Yvon Michel, 2006**).

En fait une souche est dit résistant quand la concentration d'antibiotique qu'il est capable de supporter est plus élevée que la concentration qu'il est possible d'atteindre in vivo (**Chabbert, 1982**).

III.4.1 Types de résistance bactérienne

Les bactéries sont résistantes aux antibiotiques soit naturellement soit par un mécanisme acquis (**Delaere, 2001**). Les moyens d'acquisition reconnus sont d'origine naturelle (les souches productrices d'antibiotiques produisent des facteurs de résistance) ou bien des mutations et adaptation et échanges génétiques entre bactéries (**Favet, 2013**).

III.4.1.1. Résistance naturelle

Certaines bactéries sont naturellement résistantes à certaines molécules, on parle alors de résistance naturelle, innée ou intrinsèque (**Delaere, 2001 ;Messai, 2006**). Elles possèdent un génotype qui les rend insensibles à ces agents (**Yala et al., 2001**).

La résistance naturelle existe naturellement chez tous les membres d'une espèce bactérienne (**Courvalinet al., 2001**). Elle est permanente et d'origine chromosomique donc, elle fait partie du patrimoine génétique de la bactérie (**Mehdi, 2008**).

La résistance innée est stable, transmise à la descendance lors de la division cellulaire (transmission verticale) mais pas ou peu transmissible d'une bactérie à une autre (transmission horizontale) (**Lozniewskiet al., 2010 ; Messai, 2006**).

III.4.1.2. Résistance acquise

La résistance acquise à un antibiotique est un caractère qui ne concerne que quelques souches d'une espèce donnée (**Courvalin, 2007**). C'est un phénomène qui apparaît au niveau des souches normalement sensible à cet antibiotique (**Yala et al., 2001 ; Lavigne, 2007**).

La résistance acquise est moins stable, mais elle se propage souvent de façon importante dans le monde bactérienne (**Lozniewskiet al., 2010**), par l'acquisition des nouveaux gènes capables de rendre la bactérie insensible à un antibiotique ou à un groupe d'antibiotique (**Mandell et al., 2009 ; Lewis 2009 ; Yamashita et al., 2000**). Ce nouveau gène peut être obtenu par deux grands mécanismes génétiques, l'un par une mutation spontanée au niveau du chromosome et définit une résistance chromosomique, l'autre par transfert d'ADN de plasmide ou les éléments transposables (transposons) et ils définissent une résistance extra-chromosomique (**Paul, 1997 ; Mehdi, 2008**).

III.5.Support génétique de la résistance

III.5.1. Résistance chromosomique (Mutation)

La résistance chromosomique est un phénomène rare, résulte d'une mutation (**Courvalin et Philippon, 1989 ; Pallasch, 2003**). Il n'est pas provoqué par la présence de l'antibiotique mais l'antibiotique révèle la mutation de résistance en sélectionnant les bactéries mutantes résistante ou plus exactement, en détruisant les autres bactéries de l'espèce, celles restées sensibles à l'action de l'antibiotique (**Lozniewskiet al., 2010**).

La mutation de résistance est un phénomène indépendant, c'est-à-dire l'apparition d'une mutation ne favorise pas l'apparition d'autres mutations de résistance à d'autres antibiotiques donc la probabilité de deux mutations simultanées est très faible. Cette indépen-

dance des mutations constitue un des meilleurs arguments pour justifier l'association des antibiotiques (Mandell *et al.*, 2009 ; Lewis 2009 ; Yamashita *et al.*, 2000). Elle est transmissible, permanente et a donc un caractère héréditaire (transmission sur un mode vertical de bactérie-mère à bactéries-filles) (Mehdi, 2008).

III.5.2. Résistance extra-chromosomique

La résistance extra-chromosomique correspond à l'acquisition de gènes de résistances transférables d'une bactérie donneuse à une autre bactérie dite receveuse (transmission horizontale) (Oliver, 2014).

III.5.2.1. Plasmides

Les plasmides sont des éléments d'ADN bicaténaires, circulaires, extrachromosomiques capables de se répliquer de façon autonome (Sylvie, 2009). L'information génétique est portée par des plasmides, transférables à d'autres bactéries par conjugaison, transduction ou transformation (Yala *et al.*, 2001).

III.5.2.2. Transposons

Ce sont des fragments d'ADN, capable de changer leur localisation dans le génome sans jamais apparaître à l'état libre. Ils codent pour les déterminants de la transposition et ceux d'autres fonctions telles que la résistance aux antibiotiques en s'intégrant soit dans le chromosome soit dans le plasmide, en allant de l'un à l'autre (Mehdi, 2008).

III.6. Mécanismes de résistance

Les bactéries ont développé différents mécanismes (Figure 04) afin de neutraliser l'action des agents antibactériens quatre mécanismes principaux sont responsables de la résistance aux antibiotiques.

III.6.1. Inhibition enzymatique

Le micro-organisme produit une enzyme qui détruit ou inactive l'antibiotique. La production enzymatique peut être induite par un facteur externe (un antibiotique) ou constante (non affectée par des stimuli externes). On appelle inductible une résistance qui se produit à la

suite d'une exposition à un agent d'une classe pharmacologique donnée et constitutive lorsque les gènes à l'origine de la résistance s'expriment en permanence, même en l'absence de tout antibiotique (Mandell *et al.*, 2009 ; Lewis , 2009 ; Yamashita *et al.*, 2000).

III.6.2. Diminution de la perméabilité de la membrane

Une diminution de la perméabilité résulte souvent d'une mutation affectant la structure des porines ou diminuant la synthèse des porines. C'est chez *Escherichia coli*, les *Enterobacter spp.*, les *Serratia spp.*, les *Klebsiella spp.*, et *Pseudomonas aeruginosa* que ce mécanisme a le plus d'importance, une ou plusieurs modifications des porines sont à l'origine d'une résistance acquise aux bêta-lactamines, aux quinolones, au chloramphénicol, aux sulfamides, au triméthoprime et aux tétracyclines. Dans le cas des aminosides, l'imperméabilité résulte d'un mécanisme différent. Elle est due à des mutations modifiant le système de transport actif de ces molécules et provoquant une diminution d'activité de tous les aminosides (Mehdi, 2008).

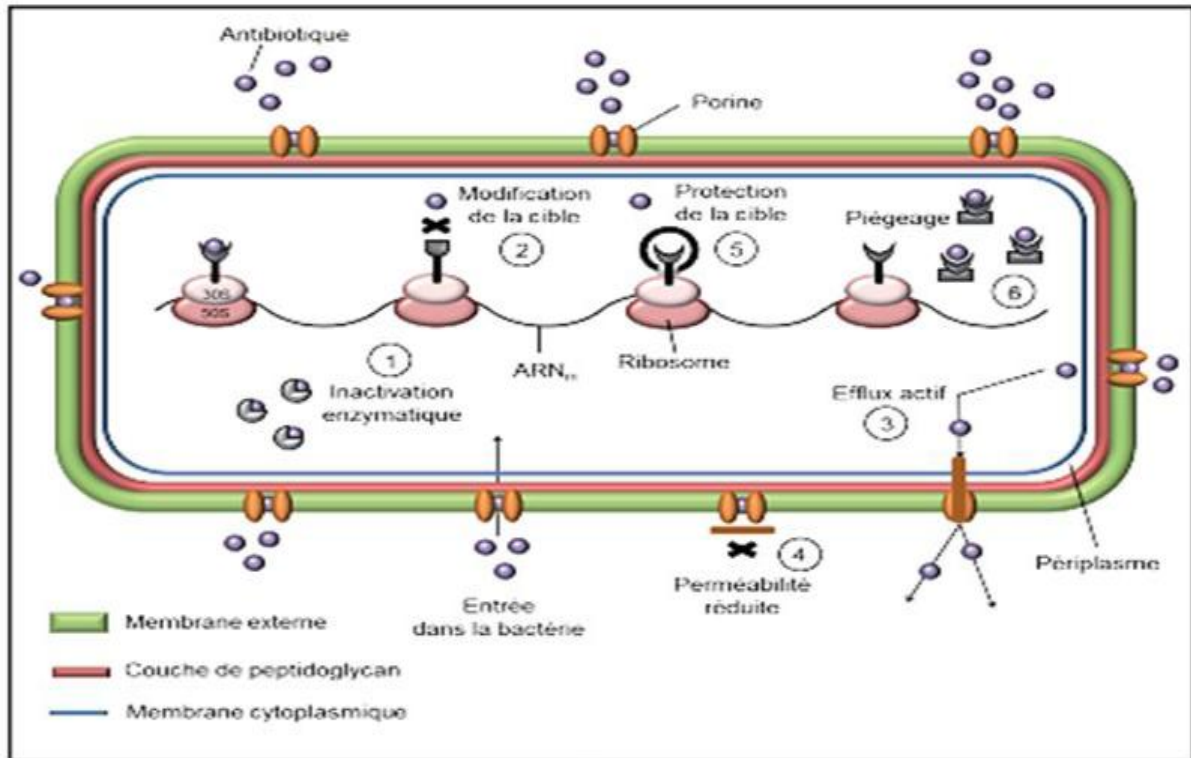
III.6.3. Modification de la cible

La cible de l'antibiotique peut être structurellement modifiée ou remplacée, de telle sorte que le composé antibactérien ne puisse plus se lier et exercer son activité au niveau de la bactérie. Ce mécanisme de résistance décrit pour presque tous les antibiotiques, est particulièrement pour les résistances aux pénicillines, aux glycopeptides, aux molécules du groupe MLS (macrolides, lincosamides, streptogramines) chez les bactéries Gram positives et pour les résistances aux quinolones chez les bactéries Gram positives et Gram négatives. Le remplacement de la cible de l'antibiotique est un mécanisme décrit pour les sulfamidés, les diaminopyrimidines (triméthoprime) et les bêta-lactames dont les *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline (SARM) (Guardabassi et Courvalin, 2006 ; Alekshun et Levy, 2007 ; Nikaido, 2009).

III.6.4. Efflux actif

L'élément bactérien responsable d'efflux actif est appelé « transporteur » ou « pompe » d'efflux. C'est un constituant de nature protéique enchâssé dans la membrane cytoplasmique et capable de limiter l'accumulation de certaines molécules substrats en les exportant activement en dehors de la cellule bactérienne (Julien, 2013).

La figure présente une illustration de ces différents mécanismes de résistance au sein des bactéries Gram négatives (Guardabassi et Courvalin, 2006) et le tableau (Annexe1) résume les mécanismes de résistance majeurs des principales classes d'antibiotique (Mandell *et al.*, 2009).



1 : inactivation enzymatique de l'antibiotique, 2 : modification de la cible de l'antibiotique, 3 : efflux actif de l'antibiotique, 4 : perméabilité réduite, 5 : protection de la cible de l'antibiotique, 6 : piégeage de l'antibiotique.

Figure 04 : Mécanismes de résistance aux antibiotiques (Guardabassi et Courvalin, 2006).

III.7. Evolution de la résistance des bactéries aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques résulte d'une évolution par sélection naturelle, les antibiotiques exerçant une pression sélective très forte, en éliminant les bactéries sensibles. On suppose que le cas le plus fréquent est une adaptation rapide des bactéries à un nouvel écosystème, qui naît de mutations génétiques aléatoires (Carattoli, 2001) leur permettant d'y survivre, et de continuer à se reproduire, en transmettant à leur descendance leurs gènes de résistance (transfert vertical) (Figure 08), ou qui se fait suite à des échanges de gènes de résistances entre des bactéries (transformation génétique, transduction ou conjugaison) qui habitent dans divers écosystèmes, y compris les humains, les animaux et l'environnement (Avor-net *et al.*, 2001) (Figure 05).

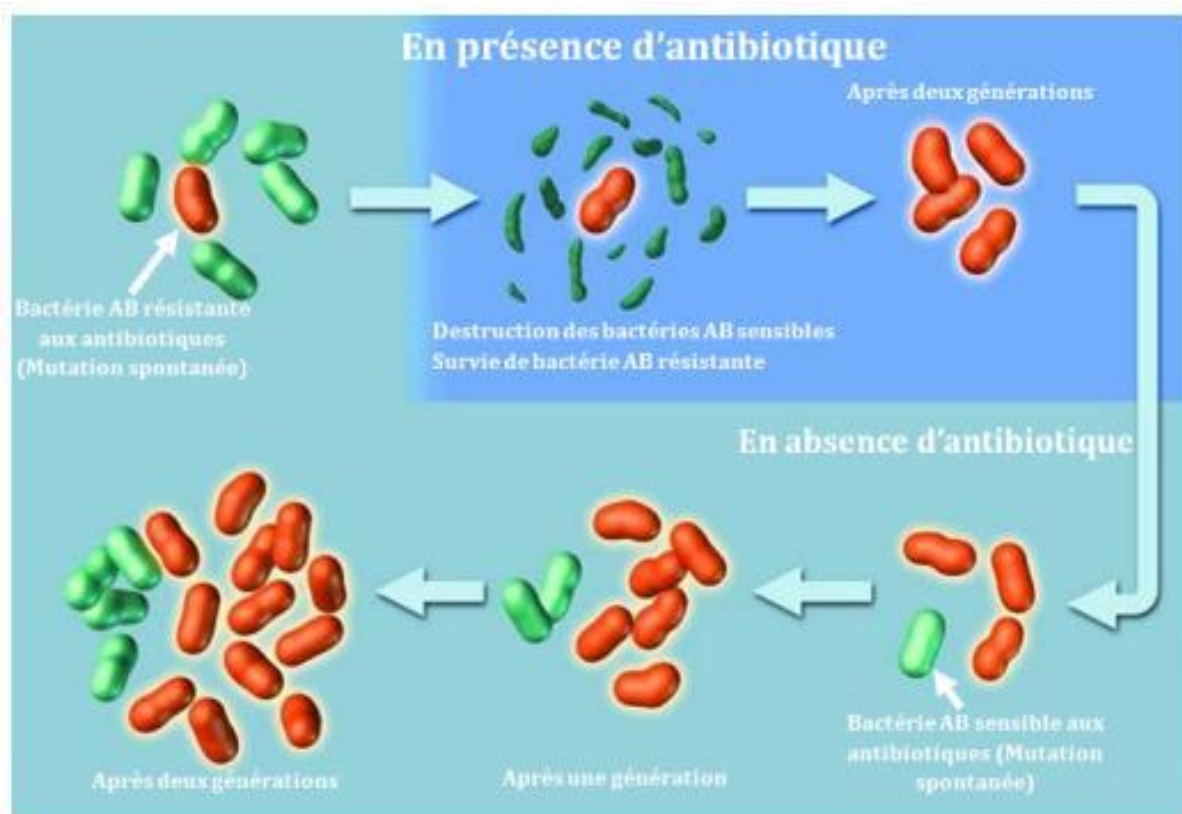


Figure 05 : Développement de la résistance aux antibiotiques (George *et al.*, 1998).

III.8. Bactéries multirésistantes

Les bactéries sont dites multirésistantes (BMR) aux antibiotiques lorsque, du fait de l'accumulation de résistances acquises à plusieurs familles d'antibiotiques, elles ne sont plus sensibles qu'à un petit nombre d'antibiotiques utilisables en thérapeutique (Leroy, 2007).

III.8.1. Entérobactéries productrices de bêtalactamases à spectre élargi (EBLSE)

Une entérobactérie BLSE ne reste sensible au sein de la famille des bêtalactamines qu'aux carbapénèmes et aux céphamycines (céfoxitine) (Phillippon, 2013).

III.8.2 *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM)

L'existence d'une pénicillinase entraîne une résistance à la pénicilline G et aux pénicillines A (ampicilline, amoxicilline...), aux carboxypénicillines (ticarcilline), et aux uréidopénicillines (pipéracilline). Ce mode de résistance est présent chez 90 % des isolats cliniques de *Staphylococcus aureus* (Leclercq, 2002). La résistance à la méthicilline, entraîne une résistance à toutes les bêtalactamines (Lozniewski, 2010).

III.8.3 Entérocoque résistant à la vancomycine (ERV)

Ces germes présentent une résistance naturelle à de nombreuses classes d'ATB, parmi lesquelles les bêtalactamines, ainsi une résistance naturelle de bas niveau aux aminosides. La résistance à la vancomycine est naturelle chez *Enterococcus casseliflavus-flavescens* et *Enterococcus gallinarium*, (Vincent, 2012) alors que la résistance acquise est observée principalement chez l'*Enterococcus faecium* et l'*Enterococcus faecalis* (Randani, 2011).

III.8.4. Entérobactéries productrices de la carbapénèmase (EPC)

Les entérobactéries productrices de la carbapénèmase (EPC) produisent des enzymes appelées carbapénémases capables de dégrader de nombreux types d'antibiotiques, rendant ainsi les bactéries très résistantes. La résistance aux carbapénèmes chez les entérobactéries résulte essentiellement de deux mécanismes impliquant tous deux des bêtalactamases. Le premier mécanisme associe la production d'une céphalosporinase chromosomique ou plasmidique ou une BLSE à une diminution quantitative ou qualitative de l'expression des protéines transmembranaires que sont les porines (Nordmann et Carrer, 2010).

Chapitre IV :

Environnement

hospitalier

IV.1. Définition de l'environnement hospitalier

L'environnement hospitalier est constitué de l'ensemble des éléments liquides, solides et gazeux qui sont susceptibles d'entrer en contact avec le patient, les visiteurs et le personnel d'une structure d'hospitalisation (**Barbut, 2017**).

IV.2. Contamination de l'environnement hospitalier par les bactéries

L'environnement hospitalier est largement contaminé par des micro-organismes d'origine humaine ou spécifiquement environnementaux (**Rutala et Weber, 1997**). Cette contamination varie qualitativement et quantitativement dans le temps, d'un établissement à un autre et, au sein d'un même établissement, en fonction des services, des patients, des soins et techniques pratiqués. Les microorganismes présents dans l'environnement hospitalier sont extrêmement variés (bactéries, levures, champignons filamenteux, virus et parasites) et peuvent appartenir aussi bien aux espèces opportunistes qui ne manifestent leur virulence que sur un organisme (patient) dont les défenses immunitaires sont affaiblies, qu'aux espèces habituellement pathogènes pour l'homme (**Cavallo et al., 2002**).

Les bactéries jouent un rôle potentiel dans les infections hospitalières (**Ctin, 2002**). Deux types de bactéries peuvent être retrouvés dans l'environnement des patients; les bactéries d'origine humaine (peau, muqueuses) parmi lesquelles des bactéries multirésistantes aux antibiotiques comme *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline, les *entérobactéries* productrices de bêta-lactamase à spectre élargi ou les *Enterococcus* résistants à la vancomycine (**Talon, 1999**), et les bactéries d'origine environnementale dont certaines ont de fréquentes résistances naturelles aux antibiotiques, notamment les bacilles à Gram négatif comme *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia*, *Legionella pneumophila* ou les *mycobactéries atypiques*. Lorsque les patients sont colonisés et surtout lorsqu'il existe une infection patente, leur environnement immédiat est en général fortement contaminé par ces microorganismes (**Weber et Rutala, 1997**).

IV.3. Rôle de l'environnement dans la survenue des infections

La capacité de créer une infection découle d'une combinaison de facteurs associant, le niveau d'expression des facteurs de virulence du microorganisme, sa quantité ou sa concentration, le mode de contamination (aérienne, hydrique...) et la réceptivité de l'hôte (**Cavallo et al., 2002**).

La survie et éventuellement la multiplication de ces bactéries conditionnent la nature, l'importance de la colonisation environnementale et la capacité de l'environnement à devenir un réservoir dans lequel le micro-organisme persiste et éventuellement une source à partir de laquelle le micro-organisme va pouvoir être transmis (**Talon, 1999**).

IV.4. Résistance aux antibiotiques des bactéries de l'environnement hospitalier

En raison de l'utilisation massive d'antibiotiques, l'environnement hospitalier sélectionne des souches de bactéries pathogènes particulièrement résistantes aux antibiotiques qui peuvent, dans certains cas, se répandre ensuite à l'extérieur de l'hôpital (**Guillo, 1988**).

Les bactéries d'hôpital responsables des infections dites nosocomiales associées aux soins, sont particulièrement résistantes aux antibiotiques. Certaines résistances sont importantes à prendre en compte, car elles concernent des espèces bactériennes qui sont à la fois commensales susceptibles de disséminer dans la population générale et à fort potentiel pathogène (**Khiev et Veber, 2010**).

Partie II :

Travail expérimentale

Matériel et méthodes

I. Matériel**I.1. Matériel biologique**

Le matériel biologique de notre étude consiste en des isolats prélevés à partir de 32 patients, ainsi de des différentes surfaces de l'environnement hospitalier (13 endroits) de l'hôpital de Mohammed Boudiaf et la maison de diabète Ouargla.

I.2. Milieux de culture**I.2.1. Milieux de culture solide**

- ❖ Gélose Chapman(Merck) ;
- ❖ Gélose Mac conkey(Merck) ;
- ❖ Gélose au sang ;
- ❖ Gélose nutritive(Fluka) ;
- ❖ Gélose Bile AzideEscultine (BEA) (Merck) ;
- ❖ Gélose Muller Hinton (Fluka) ;
- ❖ Gélose Mueller Hinton au sang ;

I.2.2. Milieux de culture liquides

- ❖ Bouillon cœur cervelle (Merck) ;

I.3. Tests biochimiques

- ❖ Milieu TSI (Triple Sugar Iron) ;
- ❖ Milieu Clark et Lubs ;
- ❖ Milieu Mannitol-mobilité ;
- ❖ Milieu king A ;
- ❖ Milieu king B ;
- ❖ Milieu Citrate de Simmons ;
- ❖ Milieu Urée-indole ;
- ❖ Disques d'oxydase ;
- ❖ Disques d'ONPG ;
- ❖ Eau oxygénée à 10 volumes ;

I.4. Réactifs

- ❖ Violet de Gentiane ;
- ❖ Lugol ;
- ❖ Alcool 90° ;
- ❖ Fuschine ;
- ❖ Réactif de Kovacs ;
- ❖ Rouge de méthyle ;
- ❖ VP1, VP2 ;
- ❖ TDA ;
- ❖ Perchlorure de fer ;
- ❖ Huile de vaseline ;

I.5. Antibiotique en disques

Tableau I: Antibiotiques utilisés pour l'étude de l'antibiorésistance des souches isolées(CA-SFM).

ATB testée pour les Gram positive	Charge du disque (µg)	ATB testée pour les Gram négative	Charge du disque (µg)
<i>Béta lactames</i> Pénicilline (P) Oxacilline (OX) Ampicilline (AMP) Céfoxitine (FOX)	6 5 10 30	<i>Béta lactames</i> Amoxicilline(AM) Amoxicilline/acide clavulanique (AMC) Cefalexine(CFX) Ceftazidime(CAZ) Céfoxitine(FOX)	25 30 30 30 30
<i>Macrolides</i> Lincomycine (MY) Clindamycine (DA) Erythromycine (E)	15 2 15	Aztreonam(ATM) Céfépime(FEP) Imipenème(IMP)	30 30 30
<i>Aminosides</i> Kanamycine(K) Gentamycin (CN)	30 15	<i>Aminosides</i> Kanamycine(K) Gentamycine (CN)	30 15
<i>Glycopeptides</i> Vancomycine(VA) Teicoplanine(TEC)	30 30	<i>Quinolones</i> Ciprofloxacine(CIP) Acide nalidixique(NA)	5

Quinolones Ciprofloxacine(CIP)	5	Sulfamides Triméthoprime-sulfaméthoxazole(SXT)	1.25/23.75
Sulfamides Triméthoprime-sulfaméthoxazole(SXT)	1.25/23.75	Autres ATB	
Autres ATB	300		300
Nitrofurantoin(F)	30	Nitrofurantoin(F)	30
Rifampicine(RD)	10	Rifampicine(RD)	50
Acide fusidique (FD)		Colistine(CL)	

II. Méthodes

II.1. Présentation de site d'étude

Notre stage à été réaliser au niveau de l'Hôpital Mohammed Boudiaf et la maison de diabète de Ouargla. Durant la période allant de 10 février jusqu'au 05 juin.

II.1.2.EPH Mohammed Boudiaf

L'hôpital d'Ouargla est situé au centre de la ville. Il s'étale sur une superficie globale de 18199 mètres carrés et sa capacité d'accueil peut atteindre les 625 lits et 17 services avec 30 lits chacun. L'hôpital est constitué de plusieurs services.

Tableau II : Différents service de EPH Mohammed Boudiaf.

Spécialités chirurgicales	Spécialités médicales	Plateau technique
Services de chirurgie.générale.	Service de médecine interne.	Service de radiologie.
Service de chirurgie infantile.	Service de pédiatrie.	Service de laboratoire.
Service de chirurgie ORL.	Service de pneumo-ptisiologie.	
Service de chirurgie ophtalmologique.	Service de réanimation.	
Service de chirurgie orthopédique.	Service des urgences.	
	Service d'épidémiologie et de médecine préventive.	
	Service de médecine de travail.	
	Service de médecine légal.	

II.1.3. Maison de diabète

La maison de diabète est située au centre-ville de Ouargla (cité M'khadma), près de 2000 malades atteints du diabète sont inscrits dans cette structure sanitaire qui comporte :

- Deux salles de consultation ;
- Une salle de soin ;
- Un laboratoire ;
- Une chambre pour les malades (02 lits) ;
- Une salle de réception.

II.2. Données recueillies

La collecte des données de chaque malade avant chaque prélèvement, était pour le but de prendre des renseignements sur les caractéristiques démographique et cliniques des malades à savoir : Nom et Prénom, âge, sexe, type de diabète, antibiotiques préalable, grade de l'ulcère ...

II.3. Méthodes de prélèvement**II.3.1. Apartir des pieds infectés**

La méthode de prélèvement utilisée est l'écouvillonnage. Avant tout prélèvement, la plaie est nettoyée avec du sérum physiologique et les parties molles nécrosées, les tissus dévitalisés et contaminés et les tissus fibreux sont éliminés avec une curette ou un scalpel stérile. L'écouvillonnage consiste à passer un écouvillon floqué sur une surface de 1 cm² de la plaie, avec un mouvement en Z combine à une rotation.

II.3.2. Apartir de l'environnement hospitalier (surfaces)

Les prélèvements de surfaces sont effectués à l'aide d'un écouvillon stérile humidifié à l'eau physiologique stérile. A l'aide de l'extrémité de l'écouvillon, tracer des stries sur une surface estimée en carré de 25 cm² (5 cm X 5 cm) en faisant tourner l'écouvillon entre le pouce et l'index (HLA, 2015).

Les échantillons marqués sont acheminés rapidement, en moins de 2 heures au laboratoire pour être déchargés successivement sur la surface des milieux de cultures utilisés pour notre étude.

II.4. Isolement et purification

L'isolement est réalisé sur quatre milieux de culture : milieu Chapman, milieu Mac Conkey, gélose au sang et milieu BEA à 37°C pendant 24 à 48 heures. Afin de confirmer la pureté des souches, nous avons effectué des repiquages successifs en milieu solide (le même milieu d'isolement).

II.5. Pré-identification des isolats

La pré-identification comporte une série d'étapes, se succédant le plus souvent dans un ordre déterminé; les souches isolées ont été pré-identifiées par des techniques microbiologiques standards. Les résultats obtenus au cours de chaque étape permettent l'orientation des démarches ultérieures.

II.5.1. Identification macroscopique

L'identification macroscopique des colonies consiste en l'étude de l'aspect des colonies. Une colonie est l'amas, visible à l'œil nu, constitué par des milliards de descendants d'une seule cellule bactérienne et dont la taille, la forme, la couleur, la consistance sont caractéristiques de chaque espèce. L'étude de l'aspect des colonies nécessite l'observation à l'œil nu (**Master Sciences Mention, 2013**).

II.5.2 Coloration de Gram

Pour la pré-identification des germes, la coloration de Gram est l'étape clé dans notre travail, cette étape de l'examen directe est essentiel pour apprécier la présence et la morphologie des germes, comme elle permet de classer les bactéries en deux grandes catégories (Gram positif, Gram négatif),

Lecture

Les bactéries à Gram positive apparaissent avec une coloration violette et les Gram négatifs ont une couleur rose.

II.5.3 Recherche de la catalase

La catalase (Ferro porphyrine de poids moléculaire élevé) a la propriété de décomposer l'eau oxygénée avec dégagement d'oxygène. C'est l'action directe de l'enzyme qui est mise en évidence dans la masse bactérienne. On prend une goutte d'eau oxygénée (H₂O₂) à 10 volumes qu'on dépose sur une lame avec une colonie bien distincte de culture jeune de 24 h, le dégagement immédiat de bulles d'oxygène exprime la présence d'une catalase. (Garnier et Denis, 2007)

**II.5.4. Recherche d'oxydase**

Le cytochrome oxydase ou oxydase est une enzyme de la chaîne respiratoire bactérienne qui catalyse des réactions d'oxydation du type:



En présence d'oxygène ambiant, cette enzyme peut oxyder un substrat incolore en un produit facilement repérable car coloré:



On dépose un disque imprégné de réactif sur une lame, on l'imbibe avec une goutte d'eau distillée stérile et puis on prélève une colonie parfaitement isolée (plusieurs si petites colonies) avec une pipette Pasteur bouillie et l'écraser sur le disque pendant une dizaine de secondes et observer immédiatement. Si le test est positif nous allons remarquer l'apparition d'une coloration rose/violette c'est-à-dire l'oxydation du réactif donc une souche oxydase positive.

L'absence de la coloration indique que c'est une souche oxydase négative.

II.6. Recherches des bactéries Gram positifs**II.6.1. Recherches des staphylocoques****a. Fermentation de mannitol**

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

b- Recherche de la coagulase

La coagulas libre est présente chez *S.aureus*, mais aussi peut être produite par *S.intermedius* ou *S.hyicus*. Ce test consiste à mettre en évidence la coagulas libérée dans le milieu extérieur.

La détection de cette enzyme s'effectue en ajoutant dans un tube 0.5 ml de plasma humain et 0.5 ml d'une culture de staphylocoques de 24 h en bouillon cœur cervelle .Le mélange est placé à l'étuve à 37°C et incubé pendant 24 heures. Les souches de *S. aureus* provoquant la coagulation du plasma le plus souvent dans les trois premières heures, un test positif se traduit alors par la formation d'un coagulum (**Garnier et Denis, 2007**).

II.6.2. Recherches des streptocoques hémolytiques

Les *Streptocoques* sont recherchés sur la Gélose au sang qui est un milieu riche d'autant plus par la présence de sang. Il permet la lecture du caractère hémolytique, L'hémolyse étant la destruction des globules rouges. Les colonies entourées d'un halo claire sont des bêta-hémolyse (hémolyse totale), les colonies entourées d'un halo verdâtre sont des alpha-hémolyse (hémolyse partielle), les autres colonies qui ne représentent pas un halo sont des gamma-hémolyse (**Guillaume, 2004**).

II.6.3 Recherche des Enterocoques

La culture des Enterocoques est faite sur milieu BEA (Bile Esculine Azide), ces bactéries sont capables d'hydrolyser l'esculine présent dans le milieu de culture en glucose et en escultine, ce qui forme un complexe noir en présence des ions ferrique. Les Enterocoques se présentent en halo noir entourant une petite colonie translucide (**biokar**).

II.7. Recherches des bactéries à Gram négatif (*Enterobactéries, Pseudomonas Acinetobacter*)

Les bacilles à Gram négatif sont recherchés sur le milieu mac Conkey. L'identification des souches à Gram négatif a porté sur une série de tests biochimiques. Les tests biochimiques ayant servi à l'identification sont :

a. Milieu TSI

Le milieu Triple-Sugar-Iron est un milieu d'identification rapide pour les entérobactéries, permet de mettre en évidence la fermentation du glucose (avec ou sans dégagement gazeux), du lactose, du saccharose et la production de H₂S. La pente du milieu TSI estensemencée par stries et le culot par pique centrale. Après, une incubation à 37°C pendant 18 heures.

- Le virage du culot au jaune traduit la fermentation du glucose ;
- La présence de bulles de gaz signifie la fermentation avec production du gaz ;
- Le virage de la pente au jaune traduit l'utilisation du lactose ou saccharose ou les deux à la fois ;
- Une coloration noire, signifie la production d'hydrogène sulfuré(H₂S).

b. Utilisation de citrate

La pente du milieu Citrate de Simmons estensemencée avec une strie sur toute la surface. Incubation à 37°C, pendant 18 heures. Une réaction positive (utilisation de citrate) se traduit par une alcalinisation du milieu en le faisant virer au bleu.

c. Recherche de l'uréase

Le milieu urée-tryptophane appelé improprement milieu urée-indole c'est un milieu complexe qui fournit un ensemble de résultats utiles pour la différenciation des entérobactéries.

Les entérobactéries peuvent dégrader l'urée qui est un composé organique et qui peut servir de source d'azote unique aux bactéries possédant une uréase très active. En présence de cette enzyme, les bactéries uréolytiques peuvent transformer l'urée en ammoniac et en carbonate d'ammonium qui alcalinise le milieu, et qui fait virer l'indicateur coloré de pH (le rouge de phénol) du jaune au rouge en milieu basique.

Après la culture de l'inoculum dans le milieu Urée –indol pendant 24h à 37°C, le milieu de culture est divisé en deux tubes stériles pour rechercher :

-Production d'indole

L'indole est le produit de l'hydrolyse du tryptophane par une enzyme, la tryptophanase. Il est mis en évidence grâce à la coloration rouge caractéristique qu'il donne avec le réactif de Kovacs.

-La tryptophane-désaminase(TDA)

La désaminase agit sur le L-tryptophane en donnant l'acide pyruvique. Ce dernier donne avec le perchlorure de fer (FeCl_3) une coloration brune. Après addition du réactif TDA, l'apparition d'une coloration brun foncé montre que la bactérie est TDA positive.

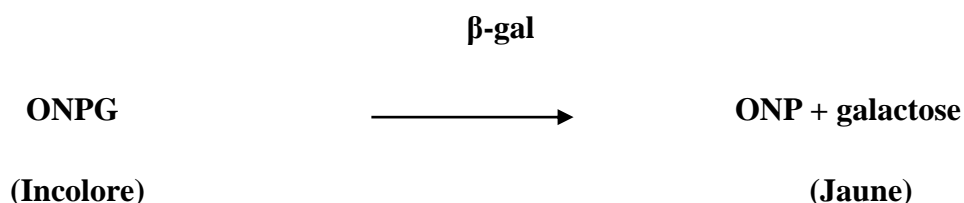
e. Mannitol-mobilité

Le milieu mannitol-mobilité permet de déceler la dégradation du mannitol et la mobilité de la bactérie. L'ensemencement se fait au moyen d'une pipette pasteur par une simple pique centrale jusqu'au fond du tube, la lecture se fait après 24 h d'incubation à 37°C. La fermentation du mannitol se traduit par un virage de couleur du rouge au jaune. La présence des bactéries au-delà de l'axe central signifie qu'elles sont mobiles; cependant leur présence uniquement au niveau de la pique centrale signifie qu'elles sont immobiles.

f. Production de la B-galactosidase (Teste ONPG)

Le test ONPG consiste à rechercher la présence de **β -galactosidase**. On utilise comme substrat, non pas le lactose, mais un autre β -galactoside: l'ortho-nitro-phényl-galactoside (**ONPG**) qui présente l'avantage d'être hydrolysé en un **produit coloré** (l'orthonitrophénol: **ONP**). Ceci est possible car la β -galactosidase n'est pas spécifique du lactose, mais des β -galactosides.

Ce test est pratiqué en réalisant une suspension dense de la bactérie testée dans de l'eau distillée puis à l'aide d'une pince flambée et refroidie nous avons ajouté un disque imprégné d'ONPG et nous avons mis le tube dans l'étuve pendant 15 à 20 minutes. La présence d'une bêta-galactosidase se traduit par la libération de l'orthophényle soluble de couleur jaune qui apparaît après la durée d'incubation (**Delarras, 2007**).



j. Détermination de la voie de fermentation de glucose (test RM et VP)

Le milieu de Clark et Lubs permet l'étude des produits de fermentation du glucose et la différenciation entre les fermentations « acides mixtes » et « butylène glycolique ». Une colonie de la souche à étudier est ensemencée sur le milieu Clark et Lubs puis incubé à 37°C pendant 24 heures. Après l'incubation, diviser le milieu dans deux tubes stériles, verser quelques gouttes de VP 1 et quelques gouttes de VP 2 dans l'un des tubes, et dans l'autre, ajouter quelques gouttes de réactif RM.

- **Test RM (rouge de méthyle)** Ce test permet la mise en évidence, grâce au rouge de méthyle, de la fermentation acide mixte par acidification d'un milieu glucosé après fermentation du glucose.

- **Test VP (Vosges-Proskauer)** Ce test permet la mise en évidence de la production d'acétoïne (ou 3-hydroxy-butanone) au cours de la fermentation butylène glycolique:

en présence d'une base forte (soude ou potasse) et d'a-naphtol, l'acétoïne donne une coloration rouge en milieu très oxygéné.

Lecture

- Test RM: Coloration rouge: RM (+), Coloration jaunâtre: RM (-)
- Test VP: Coloration rouge: VP (+), Coloration jaunâtre: VP (-)

h.Production des pigments

Les *Pseudomonas spp.* peuvent produire des pigments diffusant dans les milieux de culture. Deux types de pigments peuvent être synthétisés : des pigments fluorescents (pyoverdines), des pigments phénaziniques non fluorescents (La pyocyanine).

- Culture sur King A

La gélose King A est utilisée pour la caractérisation des *Pseudomonas* par la mise en évidence de la production de pyocyanine. La production de pyocyanine se caractérise par une pigmentation bleue

- Culture sur King B

La gélose King B favorise la production de pyoverdine et inhibe par ailleurs la production de pyocyanine. La fluorescéine produite par les *Pseudomonas* est un pigment jaune vert fluorescent qui est facilement détecté sur ce milieu.

II.7.Conservation des souches

La conservation des souches isolées après purification est réalisée sur gélose nutritif incliné en tubes, et conservé à 4°C pendant 06 mois.

II.8.Test de la sensibilité aux antibiotiques (ATB gramme standard)

Nous avons testé la sensibilité de toutes les souches identifiées vis-à-vis à différentes antibiotiques par la méthode de l'Antibiogramme standard par diffusion sur gélose Muller Hinton(MH) selon les recommandations du Comité Française de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM, 2018).

- **Milieu** : Nous avons utilisé la gélose MH dont l'épaisseur en boîte est de 4mm. Les boîtes sont ensuite séchées à 37°C-20min afin d'éliminer l'excès d'humidité.
- **Inoculum**: On prélève 3 à 5 colonies et on les dissocie dans 5ml d'eau distillée stérile. D'une façon a obtenir une DO comprise entre 0,08 à 0,11 lue à 625 nm.
- **Ensemencement** :On ensemence par écouvillonnage les boîtes de gélose MH; On dépose les disques d'antibiotiques à tester, On incube les boîtes 24h à 37°C.
- **Lecture**: On mesure à l'aide d'une règle les différents diamètres des zones d'inhibition obtenus autour des disques d'antibiotiques. L'interprétation en sensible(S) ou résistante(R) est effectuée selon les critères définis par le CA-SFM (CA-SFM, 2018).

Il y a actuellement une graduation à 3 niveaux de sensibilité :

- S = bactérie sensible : la concentration minimale inhibitrice mesurée pour cette bactérie est inférieure à la concentration critique humorale de l'antibiotique administré par voie habituelle aux doses habituelles
- R= bactérie résistante : la concentration d'antibiotique qu'elle est capable de supporter est supérieure à la concentration critique chez le malade.
- I= niveau intermédiaire : la concentration minimale inhibitrice est à la limite de ces concentration critiques

Résultats et discussions

II.1. Résultats des prélèvements

Durant la période d'étude 32 patients à pied diabétique infecté ont été concernés ainsi que 13 prélèvements à partir de l'environnement hospitalier (surfaces).

II.1.1 Répartitions des prélèvements selon le type de diabète

Dans notre étude la majorité des patients diabétiques sont de type 2, soit 78%. Sept (07) patients diabétiques de type 1 représentant 22% de la totalité des patients (Figure 6).

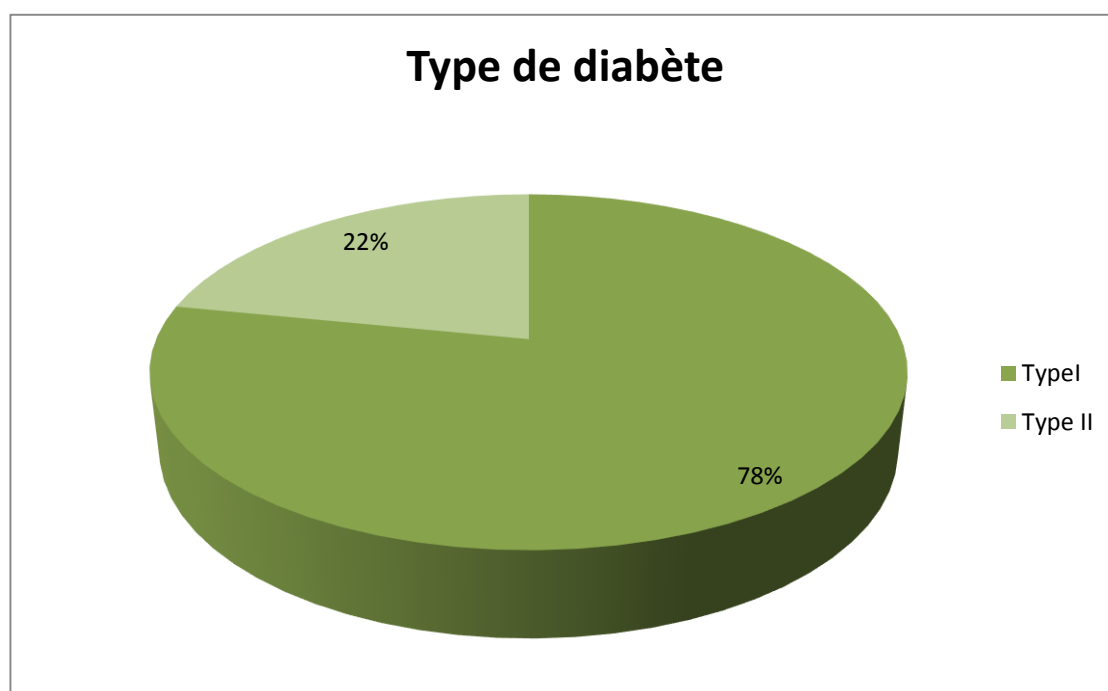


Figure 6: Répartition des prélèvements selon le type de diabète

Les sujets diabétiques de type 2 développent généralement un ulcère de pied plus que les diabétiques de type 1. Selon **Ben moussa et al., (2016)** et **Ravisekhar et al., (2006)**, Ceci peut être due à l'obésité et le style de vie non équilibré qui sont des facteurs de risque de l'apparition de diabète de type 2.

II.1.2 Répartition des prélèvements selon le sexe

La population étudiée est majoritairement masculine soit (62,5%) hommes et (37,5 %) femmes (Figure 7).

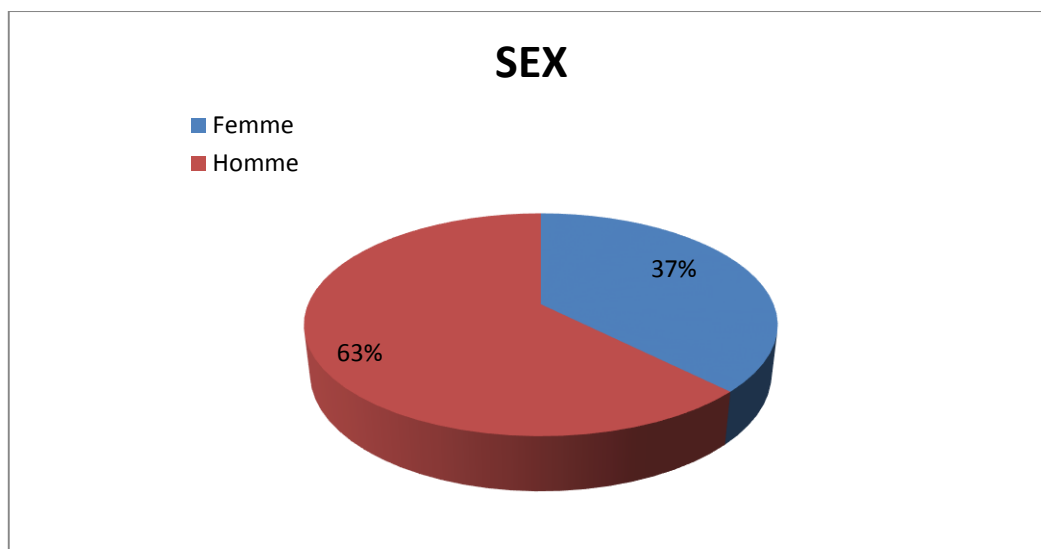


Figure 7: répartition des prélèvements selon le sexe

La dominance des infections du pied diabétique chez les sujets de sexe masculin (63%) par rapport au sexe féminin (37%), peut être expliquée par un niveau plus élevé d'activités extérieures chez les hommes qui les exposent plus à des blessures. Ceci est à l'appui des conclusions de l'étude de **Sharma et al., (2006)** et **Hena et Growther, (2010)**, qui indiquent que les hommes atteints de diabète présentent une prédominance des infections du pied diabétique.

II.1.3. Répartitions des prélèvements selon le sexe et la tranche d'âge

L'âge moyen de nos patients est de 61 ans, l'âge minimal étant de 38 ans et l'âge maximal de 81 ans. La répartition des malades, représentée par la figure 19 montre une prédominance des tranches d'âge de 50 à 69 ans; correspondant à 75% de la population étudiée dont 54.16% sont des hommes.

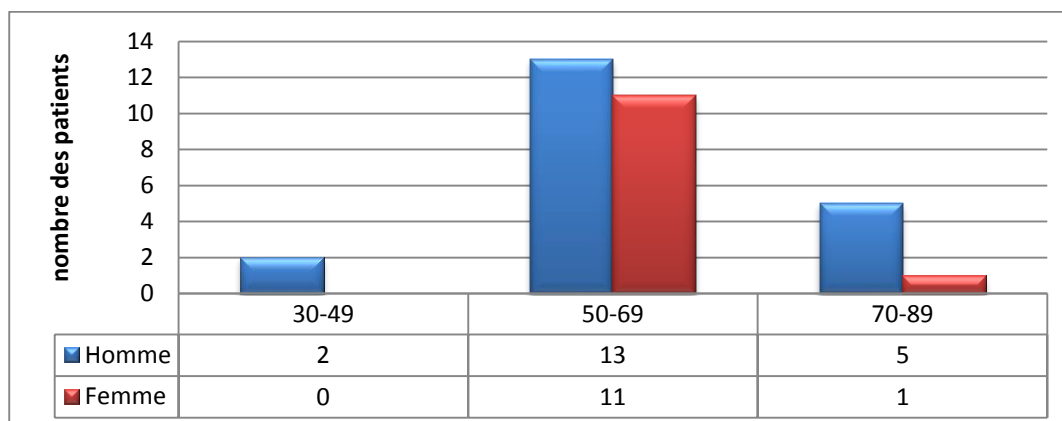


Figure 8 : Répartitions des prélèvements selon le sexe et la tranche d'âge

La catégorie d'âge de plus de 50 ans, est la catégorie majoritaire en terme de l'ulcération (93,75%). En effet, 6,25% de la population échantillonnée est âgée de moins de 50 ans, ce qui explique le rôle important que joue le facteur âge dans le développement des ulcères du pied à cause de la poly-pharmacie chez les gens âgés.

Vishwanathan *et al.* (2002), montrent que les personnes âgées vivant avec le diabète pour une longue période sont plus susceptibles à développer un ulcère du pied.

II.1.4. Répartition de l'examen bactériologique des échantillons prélevés

Parmi les 32 prélèvements de pus, 29, soit 90,6% se sont révélés positifs, et 3, soit 9,4% se sont révélés négatifs (figure 9 A).

A partir des 13 prélèvements effectués sur les surfaces, 7, soit 53,84% sont positifs, et 6, soit 46,16% sont négatifs (Figure 9B).

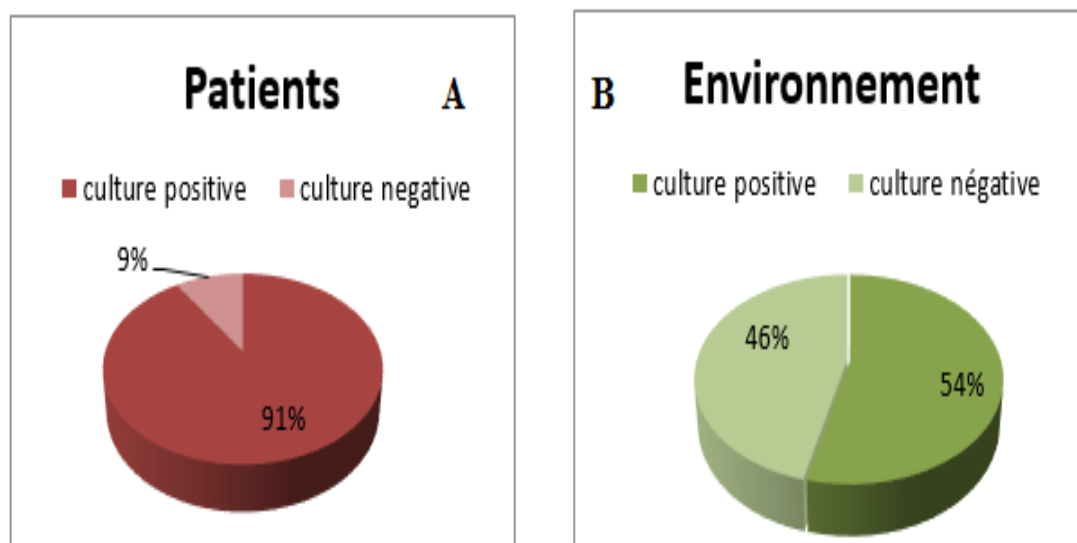


Figure 9 : Caractère cultural des prélèvements des patients (A) et des surfaces (B)

II.2. Résultats des analyses bactériologiques

Entre le 10 février et le 05 juin, une totalité de 70 souches bactériennes ont été isolées, soit 52 souches responsables d'infection du pied diabétique (IPD) et 18 souches de l'environnement hospitalier (surfaces) de l'hôpital Mohammed Boudiaf et de la maison de diabète Ouargla.

II.2.1. Isolement et identifications des staphylocoques

II.2.1.1. Caractéristiques phénotypiques des souches

a. Aspect des colonies

Le milieu Chapman est un milieu sélectif des bactéries halophiles et plus particulièrement les bactéries fermentant le mannitol, tels que les *staphyococcus aureus* dont les colonies apparaissent pigmentées typiquement en jaune doré, crémeuses et pouvant atteindre 1 à 2 mm de diamètre. En présence de mannitol, ces colonies sont entourées d'une auréole jaune indiquant la fermentation de ce dernier (Photo 1 A). Les staphylocoques blancs, quant à eux ne conduisent pas au virage du milieu de culture (mannitol négatif) (Photo 1B).

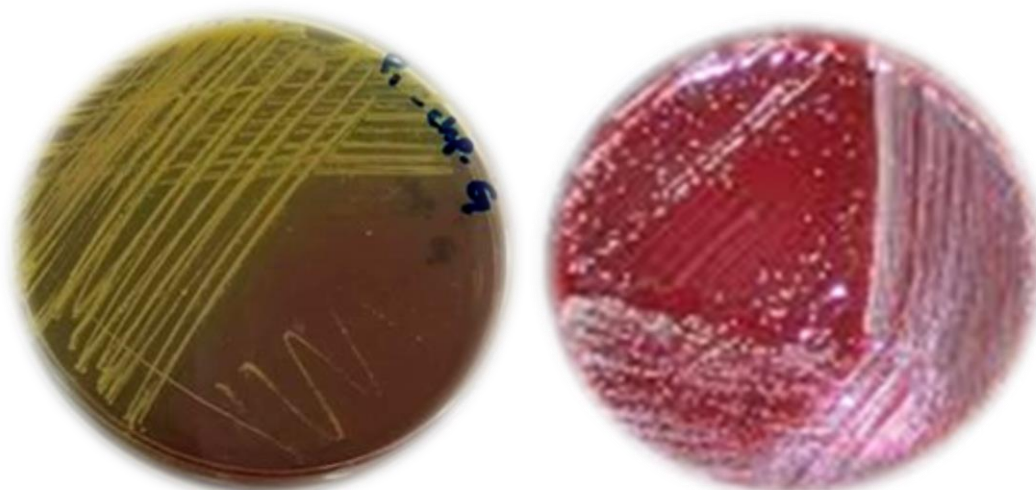


Photo 1: Aspect des colonies de *S.aureus* (A) et de SCN (B) sur milieu Chapman enrichi de mannitol.

b. Coloration de Gram

Les souches isolées sur le milieu Chapman se présentent sous forme de cocci Gram positive en grappe de raisin ou diplocoque (Photo 2).

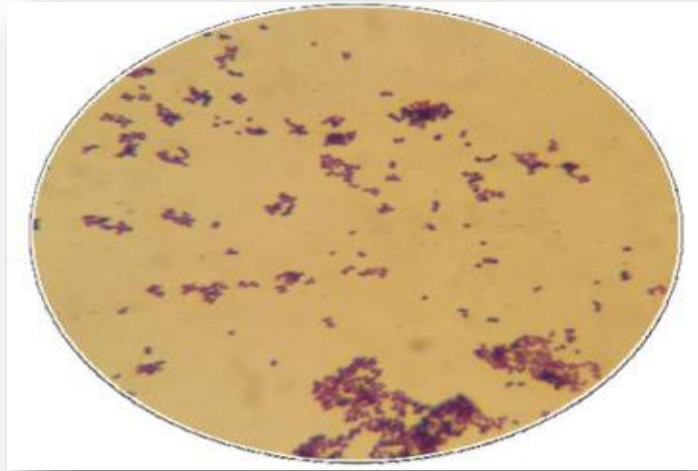


Photo 2: Cocci Gram positif (Staphylocoques)

c. Test de la catalase

L'ensemble des bactéries Gram positif, isolées sur milieu Chapman ont une catalase positive (Photo 3).





Photo 3 : Test de catalase positive

d. Test de la coagulase libre

Parmi les 24 souches de staphylocoques isolées des pieds infectés et de l'environnement, seules 10 souches présentent une coagulase positive (Tableau III).

Tableau III : Résultats de la lecture du test de coagulase

Observation	Interprétation	Conclusion
 <p>Coagulase positive</p>	<p>Présence de l'enzyme coagulase dans l'inoculum ajouté au plasma sanguin.</p>	<p>La bactérie présente dans l'inoculum est une <i>Staphylococcus aureus</i>, la seule capable de produire la coagulase et la formation de coagulum. Elle est dite coagulase +</p>
 <p>Coagulase négative</p>	<p>Absence de l'enzyme coagulase dans l'inoculum ajouté au plasma</p>	<p>La bactérie est incapable de produire une coagulase. Elle est dite coagulase -</p>

II.2.2. Isolement et identification des streptocoques et des entérocoques

a- Aspect des colonies

Les entérocoques sont recherchés sur milieu BEA, ils se présentent en halo noir entourant une petite colonie translucide d'un diamètre de 1,5 mm (Photo 4). D'autres colonies sont capables de se multiplier sur ce milieu comme les staphylocoques par exemple qui apparaissent pigmenté sans halo noir.

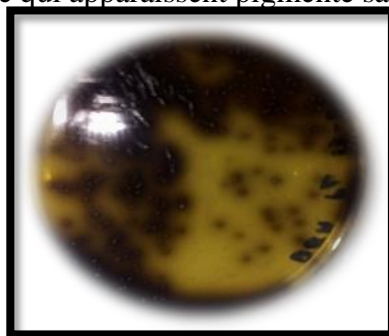


Photo 4 : Aspect des colonies des Entérocoques sur milieu BEA

Les streptocoques sont recherchés sur gélose au sang, qui nous permet de visualiser le caractère d'hémolyse de certains streptocoques (Streptocoque à bêta ou alpha hémolyse), ou les streptocoques non hémolytique (gamma-hémolyse) (Photo 05).



Photo 05 : Aspect des colonies de streptocoques sur la gélose au sang

b- Coloration de Gram

La coloration de gram nous a permis de visualiser la forme, le Gram ainsi que la disposition des colonies des entérocoques et de streptocoques.

Les entérocoques sont de Gram positif et se disposent en diplocoques ou en courtes chaînettes. Les streptocoques sont de Gram positif et apparaissent en coque de 0,5 à 1 μm de diamètre, présentant un groupement typique en diplocoques ou en chaînettes de longueur variable.

c- Test de la catalase

Les Streptocoques et les Entérocoques n'ont pas d'enzyme catalase, ils sont catalase – (Photo 06).



Photo 06 : Test de la catalase négatif

I.2.3. isolement et identification des bacilles à Gram négatif

a. Aspect des colonies

Sur le milieu Macconkey, les bacilles Gram négatif se présentent en colonies rose ou rouge grâce à la fermentation de lactose (Lactose +), les autres bactéries (Lactose -), apparaissent incolore ou beige sur ce milieu (Photo 07).

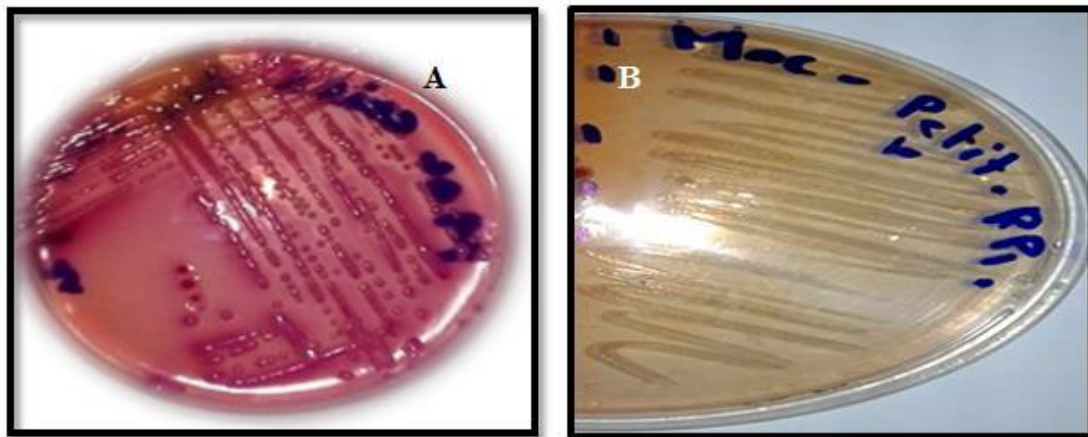


Photo 07 : Aspects des Colonies (lac+) (A) et (lac-) (B).

b. Coloration de Gram

La coloration de Gram des souches isolées sur milieu Macconkey nous a permis d'observer la forme et le Gram de ses bactéries qui apparaissent en bacilles ou coccobacilles de Gram négatif (Photo 08).

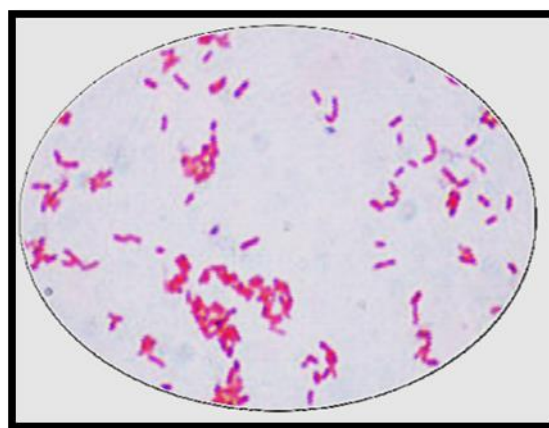


Photo 08 : Bacille Gram négatif

c. Identification biochimique par la galerie classique

Le test IMViC (I: test d'indole ,M: rouge de méthyl ,V: test de Voges Proskauer , C: test de citrate) nous a permis d'identifier particulièrement les entérobactéries, d'autres tests ont également été utilisés comme le test de TSI et le test de mannitol mobilité et le test ONPG. Les résultats sont montrés dans la photo 09

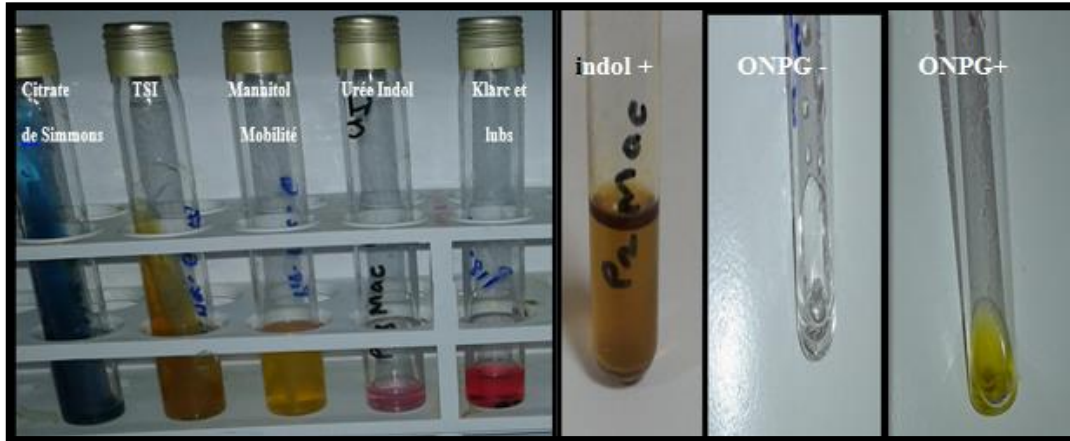


Photo 09 : Testes biochimiques classiques

Les deux milieux King A, et King B ont été utilisés pour l'identification des espèces de *Pseudomonas* (Photo 10)

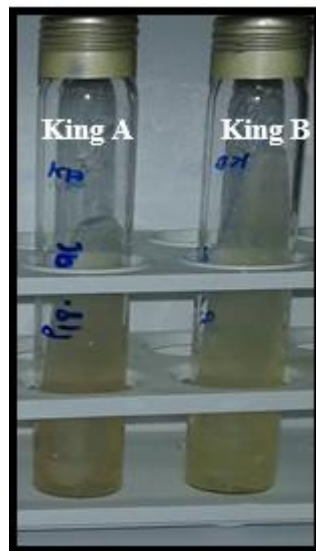


Photo 10 : Résultats sur milieu King A et King B

II.2.4. Répartition de la flore bactérienne selon le Gram

Les bactéries Gram positif occupent la première place avec 86% chez les patients et 80% dans l'environnement, alors que les pourcentages des bactéries Gram négatif isolées des patients et de l'environnement sont de 14% et 20% respectivement (Figure 10).

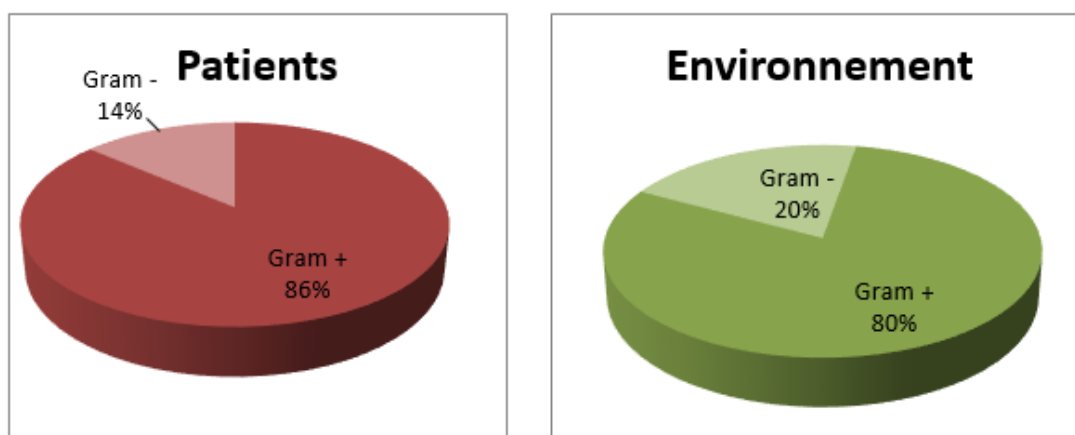


Figure 10 : Répartition des cultures bactériennes selon le Gram

La prédominance des bactéries Gram positif dans les infections du pied diabétique a aussi été signalé par **Dezfulian et al., (2011)** et **Kavitha et al., (2014)**. Cependant, **Nata Pratama et al., (2015)** et **Djahmi et al.,(2013)** signalent la prédominance des bactéries Gram négatif dans ces infections. Cette différence de résultats peut être expliquée par des facteurs climatiques, géographiques, d'hygiène personnelle ou par les techniques utilisées pour le prélèvement (**Uçkay et al., 2013**).

II.2.5. Répartition de la flore de Gram positif

La bactérie la plus fréquemment isolée parmi les bactéries Gram positif est Staphylocoque qui représente 47,36% des souches isolées à partir des plaies infectées, suivie des Streptocoques (31,57%) et enfin les Entérocoques (21,05%) (Figure 11 A).

Au niveau de l'environnement, les Staphylocoques et les Streptocoques sont majoritaires avec un même pourcentage (43%), par rapport aux Entérocoques qui occupent la deuxième place (14%) (Figure 11 B).

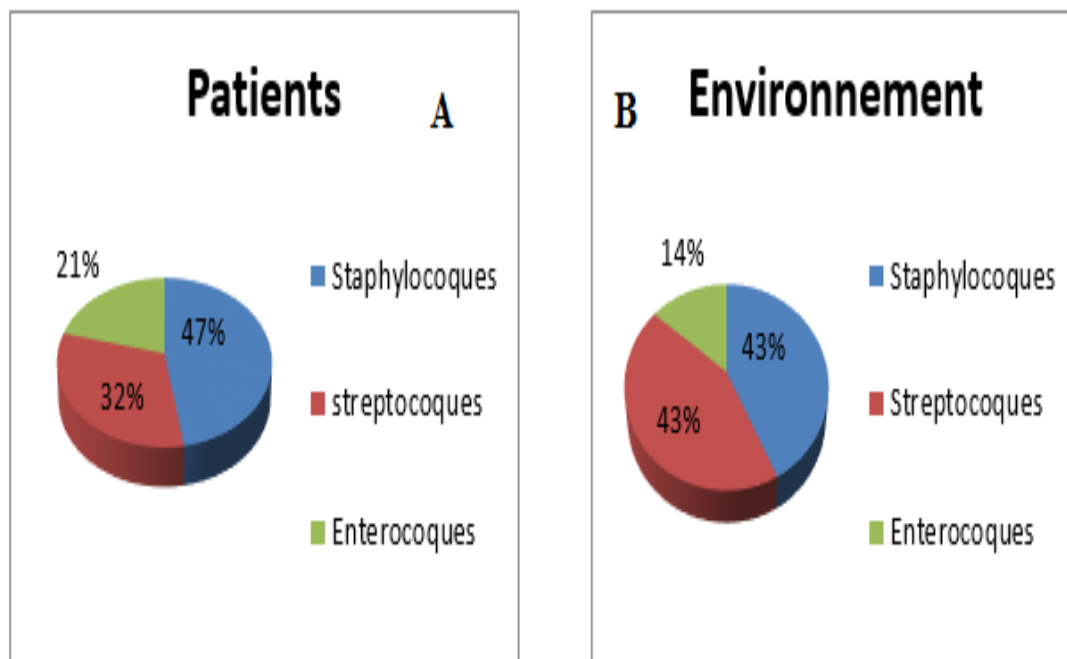


Figure 11: Répartition de la flore Gram positif

La prédominance des Staphylocoques dans les infections du pied diabétique, suivis des Streptocoques et enfin les Entérocoques a aussi été constatée dans les travaux de **Richard et al., (2010)** qui montrent qu'à partir de 210 souches isolées, 54% sont des *S.aureus*, 22% sont des streptocoques et 13% sont des Entérocoques. **Djahmi et al., (2013)** ont aussi décrit que *S.aureus* était la bactérie la plus isolées parmi les cocci de Gram positif dans une étude sur une population algérienne.

II.2.6. Répartition de la flore Gram négatif

Parmi les souches isolées du pus des pieds infectés, 14 sont de Gram négatif dont *E. coli* est la plus prévalente constituant 29% des isolats, suivie de *Acinetobacter spp* 24%, *Citrobacter spp.* et *Morganella morganii* avec 14.28 % chacune, puis *Pseudomonas*, *Klebsiella spp* et *Enterobacter spp* avec 7 % chacune. On remarque que les Entérobactéries sont les plus fréquents (Figure 12 A).

Au niveau de l'environnement, *E. coli* représente 75%, des souches isolées et *Shigella spp.* ne représente que 25% de la totalité des souches isolées (Figure 12B).

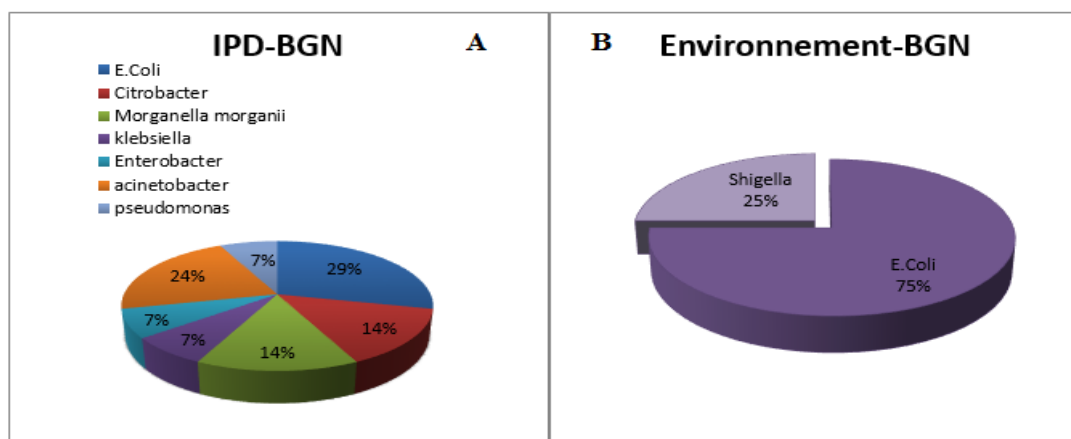


Figure 12 : Répartition de la flore Gram négatif

Les espèces bactériennes Gram négatives incriminées dans les infections du pied diabétique diffèrent d’une étude à une autre. **Perim et al., (2015)** ont décrit que *Proteus spp.* et *Enterobacter spp.* sont les plus dominantes des BGN isolées, suivies de *E. coli*, *Pseudomonas spp.* et *Citrobacter spp.* Des résultats similaires à celles de **Djahmi et al .,(2013)** où les entérobactéries sont les plus dominantes des BGN , dont *Protéus spp.* est la majoritaire. Une autre étude faite par **Saseedharan et al., (2017)** a montré que les *Pseudomonas* sont les plus dominantes. Cette dissemblance de résultats est peut être due aux facteurs climatiques.

II.2.7. Fréquences des isolats poly microbiens

La culture des prélèvements a révélé que les isolats poly microbiens sont prédominants et représentent 52 % des isolats des pieds infectés, alors que les cultures monomicrobiennes (G- ou G+) représentent 48% (Figure 13).

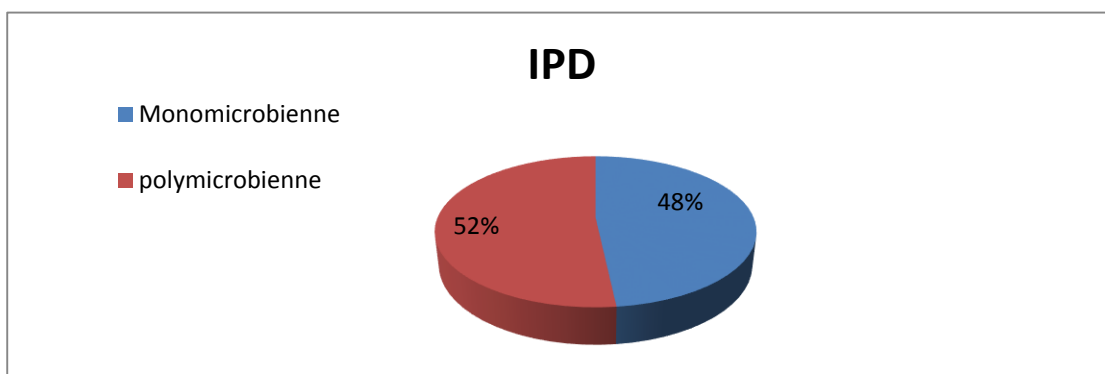


Figure 13: Fréquence des isolats mono et poly microbiens.

Les résultats obtenus sont similaires à ceux de **Citron *et al.*, (2007)**, alors que **Mohd *et al.*, (2010)** ont décrit le contraire. Cette contradiction peut être due au type et à la sévérité de l'infection.

II.2.8. Fréquence d'isolement et type d'association

Parmi les 15 prélèvements poly microbiens, l'association la plus rencontrée est de type Staphylocoque (STPH) + Entérobactérie (ENTB) avec un pourcentage de **27%**, suivie de (Streptocoques (STRP) + Entérocoque (ENTC)) et Entérocoque + Staphylocoque avec 13% des prélèvements poly microbiens pour chaque type d'association. On compte un seul cas pour chaque autre type d'association soit **6,66%** chacune (Figure 14).

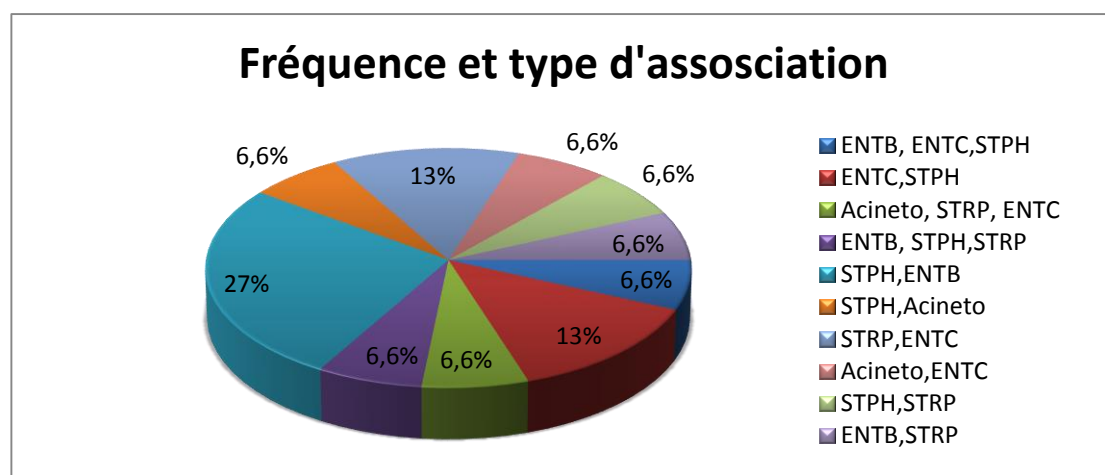


Figure 14: Fréquence d'isolement et type d'association

II.3. Résultats de l'antibiogramme

Nos isolats sont soumis à un antibiogramme pour vérifier leur sensibilité aux différents antibiotiques testés.

Les tests d'évaluation de la résistance aux antibiotiques ont été réalisés selon la méthode classique de diffusion de l'ATB en milieu gélosé MH ou gélose MH au sang selon les recommandations du comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (SFM). (Photo 11).

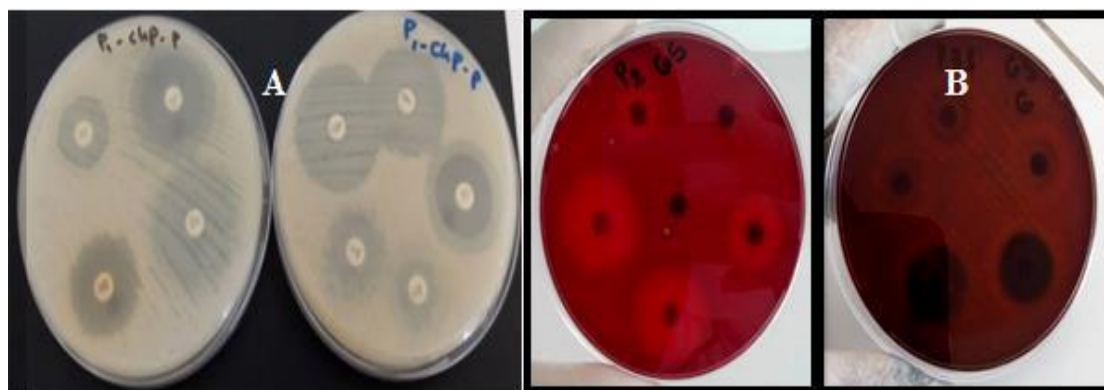


Figure 11: AntibioGramme sur milieu MH (A) et sur milieu MH additionné de sang (B)

II.3.1 Taux de résistance des staphylocoques aux antibiotiques

Les résultats portés sur la figure 15 montrent que les souches de *S.aureus* isolées des patients présentent des résistances plus importantes aux bêta-lactamines (Ampicilline, Pénicilline, Oxacilline, Céfotaxime) et aux glycopeptides (vancomycine et teicoplanine). La kanamycine est l'aminoside pour lequel ces souches ont montré le taux de résistance le plus important de 77%. Ce taux varie entre 55% et 40% vis-à-vis des autres antibiotiques testés.

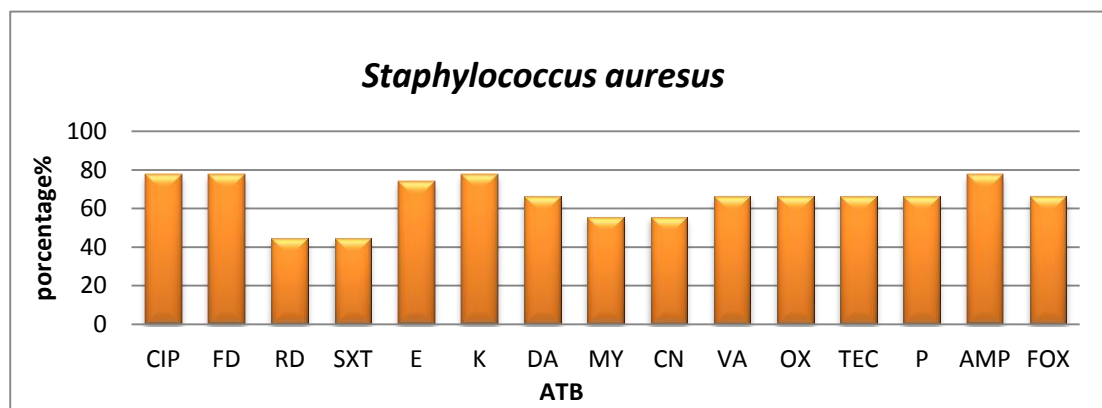


Figure 15 : Taux de résistance des staphylocoques isolées des patients aux ATB

Les souches de Staphylocoques catalase négative isolées affichent des taux de résistance importants vis-à-vis de la majorité des bêta-lactamines qui varient entre 62,5% à l'Oxacilline et 87,5% à la Pénicilline. Ces souches ont un taux de résistance de 87,5% au ciprofloxacine et de 75% au SXT, l'Erythromycine et l'acide fusidique.

Elles semblent moins résistantes à l'action des aminosides (gentamicine et kanamycine). Parmi les glycopeptides, la molécule de la Vancomycine est plus active sur ces souches que la teicoplanine (Figure 16).

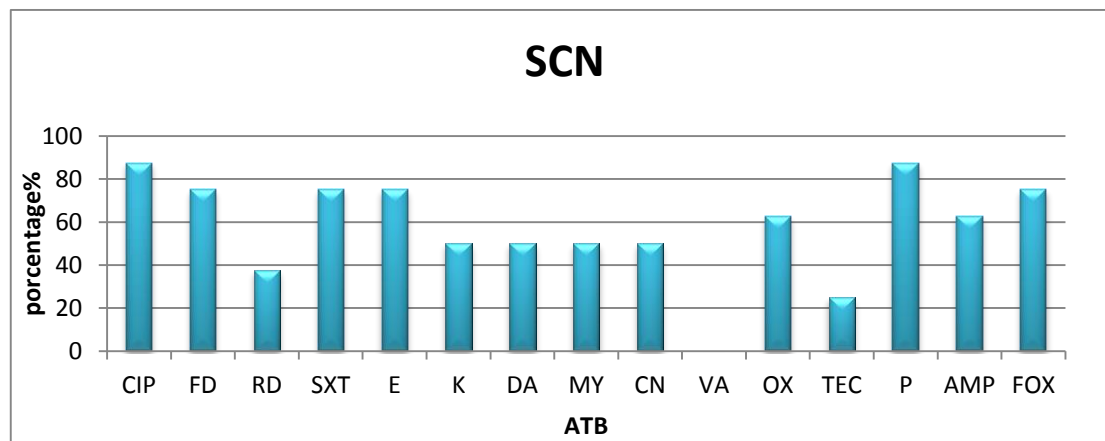


Figure 16 : Taux de résistance des SCN aux ATB

Les profils de résistance déterminés montrent que la souche de *Staphylococcus spp* isolées à partir des surfaces présente une résistance importante aux bêtalactamines, aux Fluoroquinolone (ciprofloxacine) et aux aminoglycosides et une sensibilité aux glycopeptides (VA, TEC) (Tableau IV).

Tableau I : Profil de résistances de *Staphylococcus spp* isolées à partir des surfaces aux ATB

CIP	FD	RD	SXT	E	K	DA	MY	CN	VA	TEC	OX	P	AMP	FOX
R	R	S	R	R	R	S	S	R	S	S	R	R	R	R

D'après les résultats obtenus, on note que 66,66% des souches de *Staphylococcus aureus* sont résistantes à l'oxacilline et à la cefoxitine, ce qui s'oppose aux résultats de **Guira et al ., (2014)** qui signalent que les souches de *S.aureus* sont sensibles à l'oxacilline. Ceci peut être expliqué par les antécédents peu fréquents d'hospitalisation pour les lésions du pied chez leur population étudiée, condition qui augmente le risque de transmission des germes nosocomiaux multi résistants.

Guira et al., (2014) montrent aussi dans leur étude que les Staphylocoques coagulase négative ont un taux de résistance à l'oxaciline de 43% et de 34% à la cotrimoxazole et 25% à la lincomycine.

La résistance importante des souches isolées à partir des IPD aux ATB peut être due à l'usage inapproprié des ATB.

II.3.2 Taux de résistance des Streptocoques aux ATB

Les *Streptocoques* isolés du pus résistent à la teicoplanine, dans 83% des cas, et à la vancomycine dans 66 % des cas. Ils résistent à Erythromycine, acide fusidique, l'oxaciline, et à l'ampicilline, aussi dans 66 % des cas, à la Lincomycie, SXT dans 60% des cas et à la Céfoxitine, clindamycine, Fosfomycine, ciprofloxacine dans 33% des cas. Les molécules d'aminosides les plus actives sur nos isolats de *Streptocoques* sont la gentamicine et kanamycine dont le taux de résistance est de 16%(Figure 17A).

Les molécules actives sur les souches de *Streptocoques* isolées à partir des surfaces restent les aminosides (Figure 17 B).

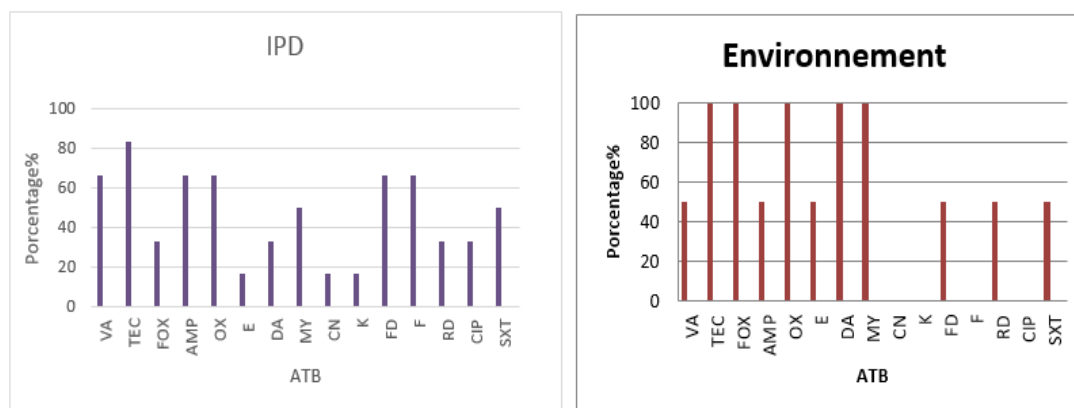


Figure 17: Taux de résistance des Streptocoques aux ATB.

Nos résultats sont contraires à ceux obtenus par **LABANI, (2016)** qui montre la sensibilité des souches de streptocoques à la vancomycine et la teicoplanine.

II.3.3 Taux de résistances des Entérocoques aux antibiotiques

Les *Entérocoques* isolées à partir des plaies infectées expriment un taux de résistance très élevé à la Vancomycine, atteignant 85,71%, à l'Oxacilline, Kanamycin, clindamycine, Lincomycine de 71,42%, à la nitrofurane, ciprofloxacine, teicoplanine de 42,85% et une faible résistance à la SXT voir nul à la fosfomycine (Figure 18).

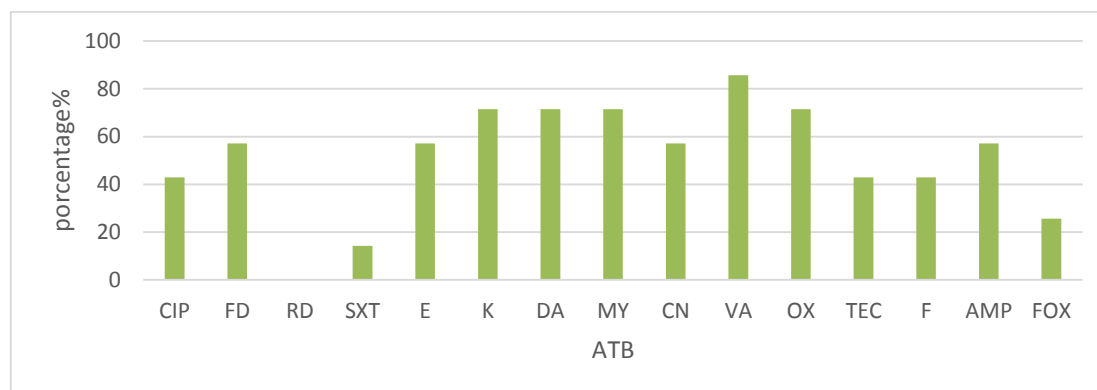


Figure 18 : Taux de résistance des Entérocoque aux ATB (IPD)

Les *Enterocoques* isolées à partir des surfaces ont présentés une résistance totale à l'acide fusidique, et un taux de résistance élevé aux Aminosides (66,66%). Les furanes, l'ampicilline, la Vancomycine et teicoplanine, présentent une bonne activité sur ces souches qui leur sont totalement sensibles (Figure 20).

Les Entérocoques isolés d'IPD ont un taux de résistance aux ATB plus élevé que ceux isolés des surfaces hospitalières.

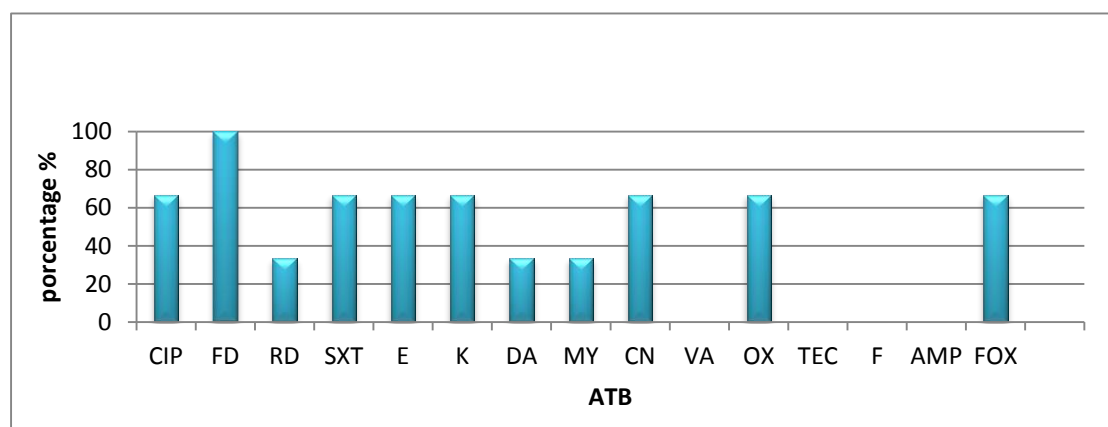


Figure 19 : Taux de résistance des *Entérocoque* au ATB –Environnement

Nos résultats sont plus ou moins différents de ceux de **Madjmaa et Boulmaize, (2015)** où ils décrivent que les entérocoques des IPD sont plus résistants à l'érythromycine avec un taux de 61,54%, suivie de la gentamycine avec 35,29%, la tétracycline est en troisième place avec un taux de 31,54%, suivi par l'ampicilline avec un taux de 26,32%.

Les *Entérocoques* sont considérés comme des germes commensaux, mais parfois chez les sujets diabétiques, ils peuvent réagir comme pathogènes opportunistes **Citron et al., (2007)**. De plus les *Entérocoques* sont identifiés comme BMR, s'ils présentent une résistance à la Vancomycine, ce qui est le cas dans notre étude concernant les *Entérocoques* responsables des IPD résistants à la vancomycine dans 85,71% des cas.

II.3.4. Taux de résistance des Bactéries de Gram négatif aux ATB

II.3.4.1. Taux de résistance des Entérobactéries aux antibiotiques

Au vu de la figure 20, toutes les souches d'Entérobactéries isolées à partir des IPD sont totalement résistantes à l'amoxicilline (100%), 90% à l'AMC, 80% à cefalexine et acide nalidixique et 70% à ciprofloxacine et colistine. Ces antibiotiques sont donc les moins actifs sur les Entérobactéries. Ces souches présentent un taux de résistance faible aux Céfoxitine, aztreonam, ceftazidime, imipénème, cefepime (30%).

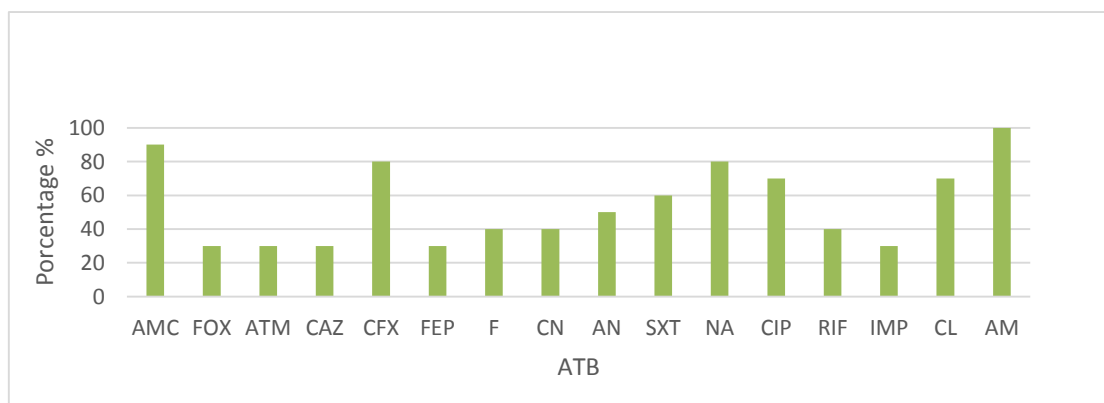


Figure 20 : Taux de résistance des Entérobactéries aux ATB - IPD

Au niveau de l'environnement, les entérobactéries (*E.coli* et *Shigella spp*) isolées présentent une résistance totale à l'amoxicilline (100%), une résistance élevée aux AMC, nitrofurane, Rifamycine (75%) et une sensibilité de la totalité des

souches aux molécules de cefepime , Amikacine, SXT , acide nalidixique , CIP , IMP et CL (Figure 21).

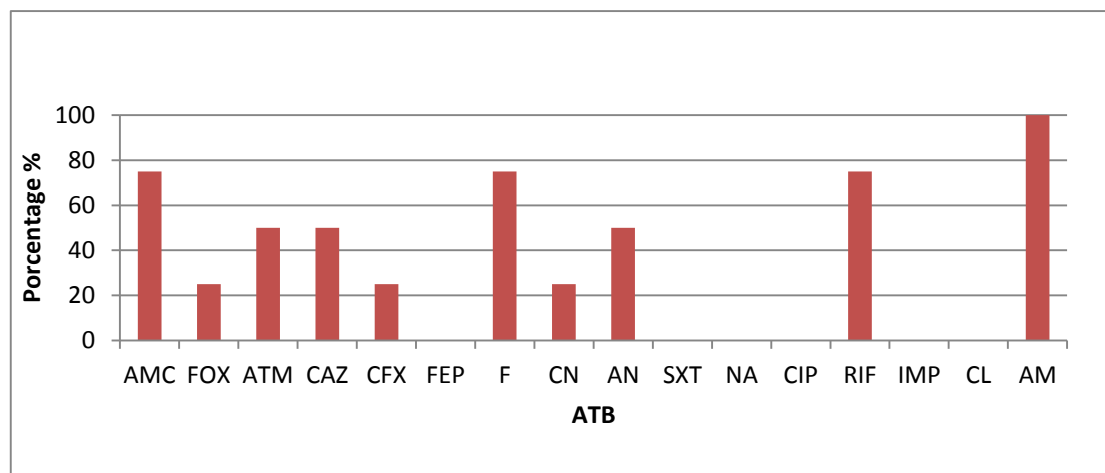


Figure 21 : Taux de résistance des Entérobactéries aux ATB – environnement

Dans une étude similaire à la nôtre, faite par **Al Benwan et al., (2012)** l'imipénème, l'amikacine et la ceftazidim étaient les antibiotiques les plus actifs sur les Entérobactéries (Taux de résistance minime) . Ces bactéries ont exprimé un taux de résistance élevé à l'ampicilline, à l'amoxicilline-acide clavulanique et à la ciprofloxacine.

Concernant l'environnement **Yagoubat et al., (2016)**, décrivent que les Entérobactérie isoler à partir de l'environnement hospitalier, sont résistantes à la AMC et à Ceftiaxone. Selon **You et al.,(2008)** aucune des entérobactérie isolée des surfaces hospitalières dans leurs étude ne présente une résistance à IMP , ce qui est similaire à nos résultats.

II.3.4.2. Taux de résistance des Acinetobacter aux ATB

Les souches *Acinetobacter* responsables d'IPD présentent une résistance totale à, CN et AM (taux de résistance 100%), et un taux élevé a été observé à l'AMC CFX (bétalactamines).

En ce qui concerne les quinolones, un taux de résistance à l'acide nalidixique de 66,6% a été obtenu et de 33,3% à la ciprofloxacine. Pour l'IMP, CAZ et FEP Aucune résistance n'est observée (Figure 22).

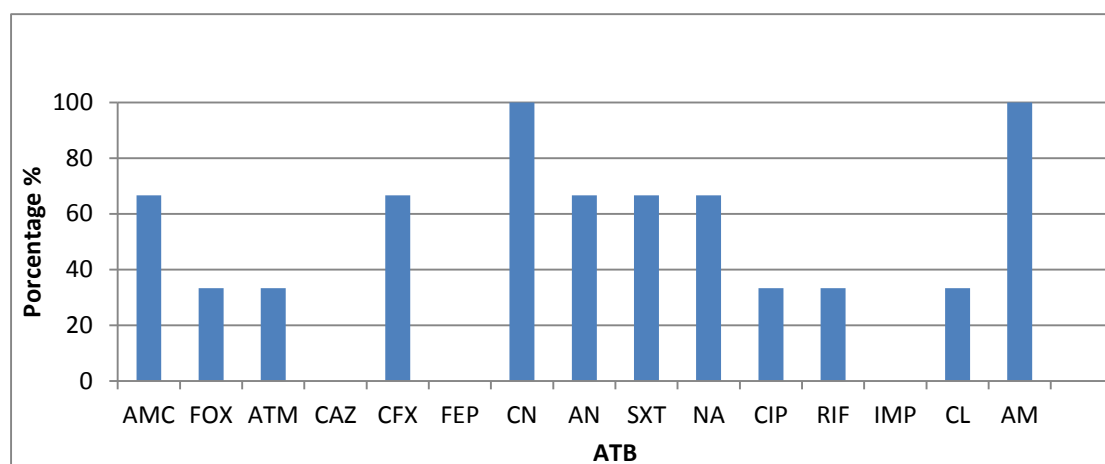


Figure 22 : Taux de résistance des *Acinetobacter spp* aux ATB (IPD)

II.3.4.3. Taux de résistance de *Pseudomonas* aux ATB

Une seule souche de *Pseudomonas spp* isolée parmi les BGN exprime une résistance à 07 antibiotiques différents (FOX, ATM, CFX, FEP, CN, NA, RIF), une sensibilité intermédiaire à l'AM et une sensibilité au reste des ATB testés (Tableau V).

Tableau V: Taux de résistance de *Pseudomonas spp* aux ATB

AMC	FOX	ATM	CAZ	CFX	FEP	CN	AN	SXT	NA	CIP	RIF	IMP	CL	AM
S	R	R	S	R	R	R	S	S	R	S	R	S	S	I

Selon Citronet al., (2007), les souches de *P. aeruginosa* étudiées dans leurs travaux , sont largement sensible à l' imipenem, piperacillin-tazobactam, ceftazidime, aminoglycosides, et ciprofloxacine.

Conclusion

Les infections de pied diabétique (IPD) sont un problème majeur de santé publique avec un taux d'amputations de membres inférieurs toujours très élevé même dans les pays de haut niveau socioéconomique.

Le rôle particulier de l'environnement dans la propagation des bactéries résistantes à été considéré comme négligeable. Ces agents pathogènes nosocomiaux peuvent bien survivre ou persister sur des surfaces pour des mois et peuvent ainsi être une source de transmission.

L'antibiothérapie est le moyen pour venir au bout des infections de pied diabétiques, mais elle est aussi la raison pour laquelle des bactéries résistantes aux antibiotiques sont apparues. L'identification des agents causaux et l'étude de la résistance aux antibiotiques sont des étapes primordiales dans la prise en charge de ces infections.

Dans cette optique, notre travail consistait à une étude prospective pour déterminer les bactéries responsables de ces infections ainsi que les bactéries de l'environnement hospitalier qui peuvent être impliqués, et étudier le profil d'antibiorésistance des souches isolées.

Durant notre travail un ensemble de 70 souches sont isolées qui se divisent en (n=58) à partir des IPD, et (n=18) au niveau de l'environnement obtenues à partir de 32 patients (pus) et 13 sites à partir de l'environnement hospitalier (surfaces).

Ces souches proviennent majoritairement des sujets diabétiques de type II, de sexe masculin (63%) et d'un âge supérieur à 50 ans.

L'isolement des souches a permis de mettre en évidence la prédominance des bactéries de Gram positif (86%) et (80%) à partir des IPD et au niveau de l'environnement respectivement, avec la prévalence de Staphylocoques parmi les BGP. *E.coli* est la bactérie la plus dominante des isolats de Gram négatifs.

A l'issue des résultats de la résistance aux antibiotiques des souches isolées, il ressort que 66,66% des souches de *Staphylococcus aureus* sont Méthiciline résistantes (SAMR), les *streptocoques* sont résistants aux Glycopeptides et Béta lactames, et ils

sont sensibles aux aminosides et 85% des Entérocoques responsables d'infection du pied diabétique sont Vancomycine résistantes (EVR).

L'imipenème, reste l'antibiotique le plus régulièrement actif sur les bacilles entérique

A la fin, on peut déduire que les bactéries isolées à partir des infections de pied diabétique sont en générale plus résistants aux ATB par rapport à celles isolées de l'environnement Hospitalier.

En prescriptive de ce travail, il serait intéressant d'approfondir nos recherche par l'étude génétiques, pour avoir des informations plus précises, et plus claires sur l'acquisition de l'antibiorésistance et de trouver de nouvelles stratégies préventives ou curatives dans le cadre la prise en charge des infections du pied diabétique.

*Références
bibliographiques*

1. **Akwah L., Ntungwen.F, Nukenine E., KagningTsinda E., Nwabo Kamdje A. H. (2015)** . Bacteriology of Diabetic Foot Ulcers with Reference to Multidrug Resistance Strains at the Yaounde Central Hospital (Cameroon). *Journal of Diseases and Medicinal Plants*. Vol. 1, No. 4, , pp. 53-58. doi: 10.11648/j.jdmp.20150104.11
2. **Al Benwana K., Al Mulla A., V. O. Rotimi b. (2012)**. A study of the microbiology of diabetic foot infections in a teaching hospital in Kuwait.
3. **ALEKSHUN M.N., LEVY S.B. (2007)**, Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance *Cell*, 128, 1037-1050.
4. **American Diabetes Association. (2013)**, Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 36(Suppl. 1) : S67–74
5. **ANDREWS J.M. (2001)**, Determination of minimum inhibitory concentrations. *J. Antimicrob. Chemother.*
6. **ARDTAN, INTERNAT. (1992)**, NOUVEAU PROGRAMME, *Néphrologie*, P 170.
7. **Atlas du diabète de la FID**, 6e édition.
8. **Avorn, J.L., Barrett, J.F., Davey, P.G., McEwen, S.A., O'Brien, T.F., Levy, S.B. (2001)**. Organisation mondiale de la santé (OMS). Antibiotic resistance: synthesis of recommendations by expert policy groups: alliance for the prudent use of antibiotics,
9. **Bacon, R.T., Sofos, J.N., Kendall, P.A., Belk, K.E. and Smith, G.C., (2003)**. Comparative analysis of acid resistance between susceptible and multi-antimicrobial-resistant salmonella strains cultured under stationary-phase acid tolerance-inducing and non-inducing conditions. *Journal of Food Protection*. 66, 732-740.
10. **Bador Julien . (2013)**, Résistance aux antibiotiques par mécanisme d'efflux chez *Achromobacter xylosoxidans*. UNIVERSITE DE BOURGOGNE Ecole Doctorale Environnements-Santé.
11. **Bagnoli, Fabio, Rappuoli, Rino, Grandi, Guido (2017)**. *Staphylococcus aureus*. Microbiology, Pathology, Immunology, Therapy and Prophylaxis
12. **Baudry C., Brézellec H. (2006)**. Microbiologie, immunologie, Groupe Liaisons.

13. **Bayot D., Faron G. (2014).** Pharmacologie pour les sages-femmes, 2^{ème} édition de Boeck.
14. **Ben Haj Khalifa A, Moissenet D, Vu Thien H, Khedher M. (2011) ,** Les facteurs de virulence de *Pseudomonas aeruginosa* : mécanismes et modes de
15. **Ben Moussa M., Khalfallah M., Boutiba I., Ben Boubaker R., Amine Slim N., Jerraya H., Dziri Ch. (2016).** Profil bactériologique et thérapeutique du pied diabétique infecté: étude prospective de 100 patients. Service de chirurgie - Hôpital Charles Nicolle. Faculté de Médecine de Tunis. Université El Manar.
16. **Benabbou Taha Ahmed . (2012),** Antibiorésistance des bactéries lactiques isolées de produits artisanaux algériens.
17. **Bernard Collin, (1992),** Petit dictionnaire de la médecine du gibier. Edition du Perron.
18. **Bustany P., Chaumet-Riffaud P., (1993) Internat, nouveau programme Tome 17: Pharmacologie**
19. **Capita selecta. (1996).** Pédiatrie, édition Garant.
20. **Carattoli A. (2001).** Importance of integrons in the diffusion of resistance. *Veterinary Research*.32, 243-259.
21. **Carattoli A. (2001).** Importance of integrons in the diffusion of resistance. *Veterinary Research*.32, 243-259
22. **Caroline Pedgrift Krzywicki, (2011),** L'impact médical hospitalier de la prise en charge du pied diabétique, Mémoire N° 157.
23. **Caruba T., Jaccoulet E. (2015).** Pharmacologie et thérapeutiques, 2^{ème} édition.
24. **Cavalo JD., Antonitti G., Baffoy N., Guignement S. , J. Hajjar, C. Horn C. Le Gouhir, A. Le Guyader, B. Lejeun, M. Mounier, V. Salomon. (2002),** Surveillance microbiologique de l'environnement dans les établissements de santé Air, eaux et surfaces. Ministère chargé de la santé.
25. **Chabbert Y.A. (1982).** Sensibilité bactérienne aux antibiotiques : Bactériologie Médicale (L. Le Minor & M. Véron, eds.), Flammarion Médecine Sciences, Paris, pp. 204-212
26. **Chadwick P. (2013).** Fungal infection of the diabetic foot: the often ignored complication. *Diabetic Foot Canada*.
27. **Chakib M, 2011,** prévalence de diabète en Algérie santé-Mag, N°1.

28. **Christophe Le Coz. (2010).** Progrès en dermato-allergologie, De Groupe d'études et de recherches en dermato-allergologie.
29. **Courvalin P., F. Denis, M.C. Ploy, M. P. d. garilhe, P. Trieu-Culot (2001),** Antibiotiques.From
30. **Courvalin P., Philippon A. (1989),** Mécanismes biochimiques de la résistance bactérienne aux agent's antibactériens. Page 332-355 Bactériologie médicale, édition : Leminor Léon et Véron Michel.
31. **Cristian C. (2008).** Microbiologie Hygiène Base microbiologiques de la diététique. Ed. TEC & DOC Lavoisier, Paris. p.76 -86, 257.
32. **D.M. Citron, Goldstein E.JC., Merriam C.V., Lipsky B. A., Abramson M.A., (2007).** Bacteriology of Moderate-to-Severe Diabetic Foot Infections and In Vitro Activity of Antimicrobial Agents.
33. **Davison J. (1999).** Genetic exchange between bacteria in the environment. Plasmid., 42,73-91.
34. **DELAERE B. (2001),** La résistance aux antibiotiques en médecine générale. Louvain médical, (2) : 16-22 .
35. **Dellaras Camille. (2014).** Pratique en microbiologie de laboratoire, Recherche de bactéries et de levures et moisissures. Edition Lavoisier.
36. **Dellit T.H., Owens R.C., McGowan J.E., Gerding D.N., Weinstein R.A., Burke J.P., and coll. (2007).** Infectious diseases society of America and the society for healthcare epidemiology of America guidelines for developing an institutional program to enhance antimicrobial stewardship. Clin Infect Dis. 44, 159-77.
37. **Denis stora . (2013),** Pharmacologie et thérapeutique 2^{ème} édition - Lamarre.
38. **Denise pothier. (2002),** guide pratique de podologie : annoté pour le diabétique, P 142 et 150-154.
39. **Dezfulian A., Salehian MT., V. Amini, H. Dabiri, M. Azimi rad, MM. Aslani, M. Alebouyeh, I. Fazel, MR. Zali. (2011),** Bacteriological Study of Diabetic Foot Infections at an Iranian Hospital. 13(8): 590–591.
40. **Diamantopoulos EJ, Haritos D., Yfandi G., Grigoriadou M., Margariti G., Paniara O., Raptis SA. (1998),** Management and outcome of severe diabetic foot infections. Exp Clin Endocrinol Diabetes.

41. **Djahmi N., Messad N., S. Nedjai, Moussaoui A., Mazouz D., Richard J.-L., A. Sotto J.-P. (2013)** , Molecular epidemiology of *Staphylococcus aureus* strains isolated from inpatients with infected diabetic foot ulcers in an Algerian University Hospital .
42. **Duron F., Heurtier A, (2005)**, Complications du diabète en dehors des accidents métaboliques aigus. Faculté de Médecine, Pierre et Marie Curie. Paris, France.
43. **Équipe de professionnels de la santé de Diabète Québec, (2014)**, Diabète Québec.
44. **Ezaitouni F., Rhou H., Benamar L., Ouzeddoun N., Bayahya R., Balafrej L. (1999)**. Rein et Aminosides, Médecine du Maghreb n°77.
45. **Faucher M., Ssourisse J.. (2010)**. Pharmacologie, Les anti-infectieux, édition VERDIER-LORNE.
46. **Favet . (2013)**, Antibiotiques et résistance bactérienne : offensives et contre-offensives. Séminaire de bactériologie7. 14p.
47. **Flandrois j-p. (1997)**. Bactériologie médicale.
48. **francois pebert. (2003)**, maladies infectieuses : toutes les pathologies des programmes officiels des études médical ou paramedical editions heures de France
49. **Frédéric Barbut. (2017)**, Rôle d'un laboratoire de Microbiologie de l'environnement. Expérience de l'hôpital Saint-Antoine Microbiologie de l'environnement Unité d'Hygiène et de Lutte contre les Infections Nosocomiales (UHLIN) Hôpital Saint Antoine.
50. **GAZENDEL J-M., .ORECCHIONI A-M. (2013)**. préparateur en pharmacie - Guide théorique et pratique 2^{ème} édition.
51. **Geoffroy K. (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 Didero. P : 31-97.

52. **George G., Khachatourians B.A. (1998).** Agricultural use of antibiotics and the evolution and transfer of antibiotic-resistant bacteria. Canadian Medical Association., ;159, 1129-1136
53. **Gerard Tortora J. (2011),** Introduction à la microbiologie, 2eme Edition Québec.Pearson , Edition du renouveau pédagogique INC.420-421 P.
54. **Gourdi P., Hanaire H., Mathis A., Martini J, (2008),** Le diabète et ses complications, Diabétologie. Module 14. Decm.3. Faculté de Médecine Université Paul Sabatier. Toulouse France.
55. **GUARDABASSI L., COURVALIN P. (2006),** Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance , Aarestrup F.M. (Ed.), Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin , Washington, 1-18
56. **Guergouri F.Z. (2014),** classification des antibiotiques. Faculté de médecine Département de pharmacie Module de pharmacologie spéciale.
57. **Guillaume P.Y. (2004) ,** Les milieux de cultures en microbiologie (<http://www2.ac-lyon.fr/enseigne/biotech/microbio/milieus.html>)
58. **Guillet C. (2010),** Implication des produits terminaux de glycation dans les complications liées au diabète, Nutrition clinique et métabolisme, p24 ; 109–114.
59. **Guillo J.F. (1988),** Apparition et évolution de la résistance bactérienne, aux antibiotiques.
60. **Guira O., Tiéno H., Traoré S., Diallo I., Ouangré E., Sagna Y., Zabsonré J., Yanogo D., S.S. Traoré, Y.J. Drabo. (2015),** Écologie bactérienne et facteurs déterminant le profil bactériologique .
61. **Hartemann-Heurtier A., Marty L., G. Ha Van, A. Grimaldi. (2000),** Place de l'antibiothérapie dans le traitement du pied diabétique. Diabetes & Metabolism Vol 26, N° 3 p. 219
<http://www.universalisedu.com/encyclopedia/antibiotiques/>.
62. **International Diabètes Fédération(FID), (2015),** facteurs de risque.
63. **Jacoby GA. (1994),** Exu·achromosomal resistance in Gram-negative organisms: the evolution of beta-lactamase. Trends Microbiol , 2 : 357-60 .
64. **Jawetz Ernest, Melnick Joseph, Edward A. Adelberg. (1973)**
Microbiologie médicale.

65. **Kavitha K .V., Tiwari S., V. Bharat Purandare, S. Khedkar, S. SBhosale, and A G Unnikrishnan. (2014).** Choice of wound care in diabetic foot ulcer: A practical approach. *World J Diabetes* ; 5(4): 546–556
66. **Khiev B., Veber B. (2010),** Patient BMR + risques de contamination et prévention en pré-hospitalier et aux urgenc
67. **Kirkiacharian Serge, (2010).** Guide de chimie médicinale et médicaments, édition Lavoisier
68. **Lachgard Karim. (2016),** LE PIED DIABETIQUE, Séance formation.
69. **LAVIGNE J.P. (2007),** Effets des antibiotiques et mécanismes de résistance, Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes.3p.
70. **Lewis R. (2009),** US Food and Drug Administration (FDA). The rise of antibioticresistant infections.
71. **Lipsky BA., HG. Deery, JM. Embil, WS. Joseph, AW. Karchmer, JL. Lefrock, DP. LEW, JT. Mader, C. Norden, TANJS, 2004,** Diagnosis and treatment of diabetic foot infections, *Clin.Infect.* Pages 287-296
72. **Louis Bernard, Jean-Paul Stahl, C. Chidia, J.-P. Bru, P. Choutet, J.-M. Decazes, L. Dubreuil, C. Leport, B. Lina, C. Perronne, D. Pouchain,B. Quinet, P. Weinbreck.(2006).** Maladies infectieuses et tropicales .Recommandations pour la pratique clinique Prise en charge du pied diabétique infecté.
73. **Louis Monnier. (2010),** Diabétologie, ELSEVIER MASSON.
74. **Lozniewski A, Rabaud C. (2010).** Résistance bactérienne aux antibiotiques. Infections associées aux soins.
75. **Madigan M., Martinko J. (2007).** Biologie des micro-organismes. 11ème Edition, PEARSON Education, France. P.354-355.
76. **Madjmaa O., Boulmaize H. (2016),** Isolement et caractérisation des souches d'entérocoques multirésistantes en clinique au niveau de CHU Khellil Amrane.
77. **Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Mandell (2009).** Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases. Sixième édition,
78. **Mansour Khadija. (2012),** étude des facteurs associés aux complications chez les diabétiques du RSSB préfecture des arrondissements de ben msik, P 5.

79. **Marchou B., Bellido F., R. Charnas, C. Lucain, JC .Pechère. (1987).** Contribution of betalactamase hydrolysis and outer membrane permeability to ceftriaxone resistance in *Enterobacter cloacae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 31(10): 1589–1595.
80. **Maurice Bouysset. (2004),** Pathologie ostéo-articulaire du pied et de la cheville: Approche médico-chirurgicale Springer Science & Business Media.
81. **Mehdi S. (2008),** La fréquence des bactéries multi résistante à l'hôpital Hassan II de Settat, UNIVERSITE MOHAMMED V .FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE RABAT, 48-51p.
82. **MESSAÏ A. (2006),** Analyse critique des pratiques de l'antibiothérapie en élevages avicoles. Thèse : Méd. Vét : Constantine (Université de saad dahleb blida, faculté des sciences agrovétérinaires et biologiques).
83. **Meziani M. (2012),** Mémoire de Magistère, Contribution du diagnostic biochimique bactérien dans l'établissement des parentés phylogénétiques : Cas des Entérobactéries et *Pseudomonas*, Université Mentouri Constantine. p.3.
84. **Mohd Z., Malik A., Ahmad J. (2010),** Clinico-bacteriology and risk factors for the diabetic foot infection with multidrug resistant microorganisms in North India;2(4):22–34..
85. **Mouton Y., Bingen E., Deboxker Y., Dubreuil L. (2000).** Antiviraux Anti infectieux. Éditions John Libbey Eurotext. P116.
86. **Nicolas J-F., Cousin F., Thivolet J. (2002).** Immunologie clinique et allergologie: compte rendu du séminaire .
87. **Nikaido H., (1994),** Prevention of drug access to bacterial targets: permeability barriers and active efflux. *Science* 264:382-388.
88. **Nordmann P., Carrer A. (2010).** Les carbapénèmases des entérobactéries. *Archive de pédiatrie.*
89. **Normak H. B., Normak S., (2002).** "Evolution and spread of antibiotic resistance." *Journal of Internal Medicine* 252: 91-106.
90. **Organisation mondiale de la santé (OMS). (2016),** aide-mémoire N°138.
91. **Pagès JM . (2004),** Porines bactériennes et sensibilité aux antibiotiques. *Med Sci (Paris)*, 2004 Mar; 20(3):346-51.
92. **Pallasch T.J., (2003).** Antibiotic resistance. *Dental Clinics of North America.* 47, 623-639.

93. **Perim MC., Borges C., Celeste SR., Orsolin F., Mendes RR., Mendes GO., Ferreira RL., Carreiro SC., MC. Pranchevicius, (2015).** Aerobic bacterial profile and antibiotic resistance in patients with diabetic foot infections.
94. **Phillippon A. (2013).** Les bêta-lactamases à spectre étendu ou élargi (BLSE). Immuno-analyse et Biologie.
95. **Pitout J.D., Hanson, N.D., Church, D.L., Laupland, K.B. (2004).** Population-based laboratory surveillance for Escherichia coli-producing extended-spectrum β -lactamases: importance of community isolates with blaCTX-M Genes. Clin Infect Dis. 38, 1736-1741.
96. **Pratama N., Lugito H., Crcrrawangsih A., M. Kurniawanl , Tjiangl, M. (2015) ,** MICROBIOLOGICAL PROFILES OF DIABETIC FOOT INFECTIONS IN GENERAL HOSPITAL IN KARAWACI, TANGERANG, INDONESIA.
97. **PRESCOTT, HARLEY, KLEIN. (2007),** Microbiologie .2e édition française.
98. **PREVOST Elodie. (2015),** Place de l'INSULINOTHERAPIE FONCTIONNELLE dans la prise en charge du diabète de type 1.
99. **Raccah D. (2004).** Epidémiologie et physiopathologie des complications dégénératives du diabète sucré. EMC-Endocrinologie. Elsevier SAS ; 1: 29-42.
100. **Raphael Perez . (2014),** Le diabète n'est pas une fatalité, Prévention et prise en charge Active.
101. **Ravisekhar Gadepalli R., Dhawan B., V. Sreenivas, A. Kapil, AC. Ammini . (2006),** A clinic microbiological study of diabetic foot ulcers in an Indian tertiary care hospital ;29(8):1727–32.
régulations. Ann Biol Clin ; 69(4) : 393-403
102. **Richard J.-L., Lavigne J.-P., Got I., A. Hartemann, D. Malgrange, D. Tsirtsikolou, A. Baleyrier, E. Senneville . (2010).** Management of patients hospitalized for diabetic foot infection: Results of the French OPIDIA study.

103. **Rogeaux Oliver, (2014), La résistance aux antibiotiques : un problème mondial majeur de santé publique, Centre hospitalier de Chambéry, France** <https://devsante.org/articles/la-resistance-aux-antibiotiques-un-probleme-mondial-majeur-de-sante-publique> visite le 11-04-2018
104. **Roy Paul H., (1997),** Dissémination de la résistance aux antibiotiques : le génie génétique à l'oeuvre chez les bactéries, vol. 13.
105. **Rutala WA., Weber DJ. (1997),** Water as a reservoir of nosocomial pathogens. Infect Control Hosp Epidemiol.
106. **Sanders, C.C., Sanders, W.E. (1992)** β -lactam resistance in gram-negative bacteria: global trends and clinical impact. Jr Clin Infect Dis. 15, 824-839.
107. **SANOFI, antibio-responsable.fr**
108. **Saseedharana S., Sahub M., Chaddhaa R., E. Pathrose, A. Bal , P. Bhalekar , P. Sekar, Krishnan P. (2017),** Epidemiology of diabetic foot infections in a reference tertiary hospital in India .
109. **Senneville E. (2008).** Infection and diabetic foot.
110. **Sharma VK., PB. Khadka, A. Joshi, R. Sharma . (2006).** Common pathogens isolated in diabetic foot infection in Bir Hospital. Kathmandu Univ Med.
111. **Soell M., Miliauskaite A., M. Hassan, Haïkel Y., Selimovic D. (2007),** Diabète et santé bucco-dentaire, Elsevier Masson .Médecine des maladies Métaboliques, Vol. 1 - N°4
112. **Sylvie Gerche . (2009),** Diabète insulino-dépendant. En line <http://www.docteurclic.com>
113. **Sylvie Gerche, (2011),** Médecin généraliste, Diabète non insulino-dépendant, diabète de type 2. En line <http://www.docteurclic.com>
114. **TALBERT M., WILLOQUET G., GERVAIS R. (2009).** Pharmacologie clinique, Wolters Kluwer France.
115. **Talon D. (1999)** The role of the hospital environment in the epidemiology of multiresistant bacteria. J Hosp Infect. Sep; 43(1):13-7
116. **Timsit J. (1996) ;** Ethiopathologie de diabète de type 1 .la revue de praticien. Paris ; 46 :560-564.

117. **Uçkay I., Gariani K., Pataky Z., Lipsky B.A. (2013).** **Diabetic foot infections: state-of-the-art, Diabetes, Obesity and Metabolism**, JohnWiley & Sons Ltd.
118. **VALENSI P., COSSON E., (2006),** Service d'Endocrinologie-Diabétologie-Nutrition, CHU Jean Verdier, BONDY. Physiopathologie des complications du diabète Réalités Cardiologiques. N° 213 – Cahier 1.
119. **Verdier I., Gérard, Lina, Yves G., François V. (2015),** Cours de Bactériologie Médicale: STAPHYLOCOCCUS. <http://www.microbes>
120. **VimalinHena J., Growther L., (2010).** Studies on Bacterial Infections Of Diabetic Foot Ulcer. Afr. J. Clin. Exper. Microbiol 11(3): 146-149.f
121. **Vincent C. (2004).** Pompes d'efflux et résistance aux antibiotiques chez les bactéries. Pathologie Biologie
122. **Vincent J. (2000)** .Bactéries multi résistantes dans les hôpitaux français : bilan en 2000et perspectives de surveillance nationale dans le cadre du Réseau d'Alerte d'Investigation et de Surveillance des Infections Nosocomiales (RAISIN)
123. **Weber DJ, Rutala WA. (1997),** Role of the environmental contamination in the transmission of vancomycin-resistant enterococci. Infect Control Hosp Epidemiol.
124. **Weber DJ., Rutala WA. (1997),** Environmental issues and nosocomial infections. In: Wenzel RP. Prevention and control of nosocomial infections (3rd ed). Williams & Wilkins, Baltimore, p491-514.
125. **Wens J., Sunaert P., Feyen L., rombruggen C. (2007)** Diabète sucré de type 2, recommandations de bonne pratique. Société scientifique de médecine générale.
126. **Wolfgang, M., Van Putten, J.P.M., Hayes, S.F. and Koomey, M., (1999).** The comP locus of Neisseria gonorrhoeae encodes a type IV prepilin that is dispensable for pilus biogenesis but essential for natural transformation. Molecular Microbiology.
127. **Yagoubat M., Ould El-Hadj-Khelil A., Malki A., Bakour S., Touati A., Rolain J-M. (2016),** Genetic characterisation of carbapenem-resistant Gram-

negative bacteria isolated from the University Hospital Mohamed Boudiaf in Ouargla, southern Algeria.

128. **Yala D., Merad A.S., Mohamedi D., Kourichi M.N. (2001).** Classification et mode d'action des antibiotiques, Médecine de Maghreb, n°91
129. **Yala D., Merad A.S., Mohamedi D., Ouar Korich M.N., (2001).** Classification et mode d'action des antibiotiques. Médecine du Maghreb n°91.
130. **YALA D., MERADA S., D. MOHAMEDI, M.N. OUAR KORICH. (2001).** RESISTANCE BACTERIENNE AUX ANTIBIOTIQUES, médecine du meghreb n°91.
131. **Yamashita SK., Louie M., AE. Simor, A. Rachis. (2000),** Microbiological surveillance and parenteral antibiotic use in a critical care unit. Can J Infect Dis 2000;11:107-11.
132. **Yernault J.-Cl. , Demedts M. (1997).** Infections respiratoires pour le spécialiste, édition garant
133. **You J.H.S., Kei H.W., Lau W.C., K.Y. Wong, T. Marasinghe , N. Lee , M. Ip , (2008),** School of Pharmacy, Faculty of Medicine, Chinese University of Hong Kong, Hong Kong , Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Prince of Wales Hospital.
134. **Yvon Michel-Briand. (2009).** Une histoire de la résistance aux antibiotiques, L'Harmattan.

Annexes

Annexe 01 : Milieux de culture

Milieu de Chapman

Extrait de viande (bovin ou porcin).....	1g
Peptone de caséine et de viande (bovin et porcin).....	10g
Chlorure de sodium.....	75g
Mannitol.....	10g
Agar.....	15g
Rouge de phénol.....	0,025g

pH=7,6

Préparation : 111g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave : 15 minutes à 120°C.

Gélose nutritive

Peptone.....	10.0g
Extrait de viande.....	5g
Chlorure de sodium.....	5g
Agar.....	10.0g

pH=7.3

Gélose Mueller-Hinton

Infusion de viande de boeuf.....	300ml
Peptone de caséine.....	17.5g
Amidon de maïs.....	1.5g
Agar.....	10.0g

pH= 7.4

Préparation : 37g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 116°C, 15min

Bouillon coeur-cerveille (BHIB) :

Infusion de cervelle de veau.....	12.5g
Infusion de coeur de boeuf.....	5.0g
Peptone.....	10.0g
Glucose.....	2.0g
Chlorure de sodium.....	2.0g

Phosphatase di sodique.....5g

pH= 7.4

Préparation : 37g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 120°C, 20min.

Milieux MAC

Peptone.....20g

Lactose.....10g

Sels biliaries.....1.5g

Cristal violet.....0.001g

Rouge neutre.....0.05g

Chlorure de sodium.....5g

Agar.....15g

pH = 7,1

Gélose au Sang

Gélose nutritive additionné de sang. Le sang est ajouté stérilement dans le milieu stérile en surfusion.

Milieu BEA

BioTrypcase.....17g

Bio-Thione.....3g

Extrait de levure.....5g

Bile de bœuf.....10g

Chlorure de sodium.....5g

Citrate de sodium.....1g

Esculine.....1g

Citrate de fer ammoniacal.....0.5g

Azide de sodium.....0.25g

Agar.....13.5g

pH = 7,1

Annexe 02 : Réactifs

1. Sérum physiologique :

Chlorure de Sodium.....	9g
Eau distillée	1000 mL

2. Réactifs de la coloration de Gram

Violet de gentiane

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

Lugol

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

Fuschine de ziehl

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

Annexe 03 :

Tableau I: Classification de l'infection des plaies du pied selon le Consensus International sur le Pied Diabétique (**International Working Group on the Diabetic Foot, 2003**)

Grade 1	Pas de symptôme, ni de signe d'infection
Grade 2	<p>Atteinte cutanée uniquement (sans atteinte des tissus sous-cutanés, ni systémique) avec au moins deux des signes suivants</p> <ul style="list-style-type: none"> • Chaleur locale • Érythème > 0,5–2 cm autour de l'ulcère • Sensibilité locale ou douleur • Tuméfaction locale ou induration • Décharge purulente (sécrétion épaisse, opaque à blanchâtre ou sanguinolente) <p>Les autres causes de réaction inflammatoire de la peau doivent être éliminées (par exemple : traumatisme, goutte, pied de Charcot aigu, fracture, thrombose, stase veineuse)</p>
Grade 3	<ul style="list-style-type: none"> • Érythème > 2 cm et une des constatations décrites ci-dessus ou • Infection atteignant les structures au-delà de la peau et du tissu sous-cutané, comme un abcès profond, une lymphangite, une ostéite, une arthrite septique ou une fasciite <p>Il ne doit pas y avoir de réponse inflammatoire systémique</p>
Grade 4	<p>Quelle que soit l'infection locale, si présence de signes systémiques manifestés par au moins deux des caractéristiques suivantes</p> <ul style="list-style-type: none"> • Température > 38 °C ou < 36 °C • Fréquence cardiaque > 90 battements par minute • Fréquence respiratoire > 20 cycles par minute • PaCO₂ < 32 mmHg • Leucocytes > 12 000 ou < 4 000 /mm³ • 10 % de formes leucocytaires immatures

Tableau II : Classification de l'infection des plaies du pied selon WAGNER (TSIRTSIKOLOU, 2007)

Grade	Lésion
0	Pas de lésion, déformation, cellulite possible
1	Ulcère superficiel
2	Atteinte tendon ou capsule
3	Abcès ostéomyélite, ostéoarthrite
4	Gangrène localisée, talon, avant pied
5	Gangrène étendue à tout le pied

Tableau III : Classification de l'infection des plaies du pied selon UT (Laveryetal., 1996).

	Grade 0 lésion épithélialiste (%)	Grade 1 plaie superficielle (%)	Grade 2 Atteinte du tendon ou de la capsule (%)	Grade 3 Atteinte de l'os ou de l'articulation (%)
Stade A Pas d'infection Pas d'ischémie	0A (0)	1A (0)	2A (0)	3A (0)
Stade B Infection Pas d'ischémie	0B (12,5)	1B (8,5)	2B (28,6)	3B (92)
Stade C Pas d'infection Ischémie	0C (25)	1C (20)	2C (25)	3C (100)
Stade D Infection et ischémie	0D (50)	1D (50)	2D (100)	3D (100)

Tableau IV: Corrélations clinicobactériologiques entre les pathogènes habituellement identifiés et les types de plaies (LIPSKY *et al.*, 2004).

Type de plaie du pied	Pathogènes
Plaie superficielle récente sans antibiothérapie récente	<i>Streptocoques β-hémolytiques</i> <i>Staphylococcus aureus</i>
Plaie chronique (≥ 1 mois) Plaie antérieurement traitée par antibiotiques	<i>Streptocoques β-hémolytiques</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Entérobactéries</i>
Plaie traitée par des céphalosporines d'évolution défavorable	<i>Entérocoques</i>
Lésion macérée	<i>Pseudomonas</i> sp. (fréquemment en association avec d'autres bactéries)
Plaie de longue durée (ulcère ≥ 6 mois), Traitement antérieur par des antibiotiques à large spectre	Association de cocci à Gram positif aérobies (<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>streptocoques β-hémolytiques</i> , <i>staphylocoques</i> à coagulase négative, <i>entérocoques</i>), et de bacilles à Gram négatif (<i>entérobactéries</i> , bacilles à Gram négatif non fermentatifs, <i>Pseudomonas</i> sp.), ± <i>corynébactéries</i> , ± <i>Candida</i> sp.
Odeur nauséabonde, Nécrose, Gangrène	Cocci à Gram positif aérobies, <i>Entérobactéries</i> , Bacilles à Gram négatif non fermentatifs, <i>Pseudomonas</i> sp. <i>Anaérobies stricts</i>

Tableau V : Les familles d'antibiotiques

Famille		DCI	
BÊTA-LACTAMINES	PÉNICILLINES	Pénicillines du groupe G ET V	Benzathinebenzylpenicilline Benzathine pénicilline (forme long retard) Benzathinephenoxyethylpenicilline Pénicillines G = benzylpénicilline sodique Pénicilline V
		Pénicillines du groupe M	Méthecilline Cloxacilline Oxacilline
		Pénicillines du groupe A	Amoxicilline Amoxicilline + Acide clavulanique Ampicilline Ampicilline + Sulbactam
		Carboxypénicillines	Ticarcilline Ticarcilline + Acide clavulanique
		Uréidopénicillines	Pipéracilline Pipéracilline + Tazobactam
		Aminidopénicillines	Pivmécillinam
		Témocilline	Témocilline
	CARBAPÉNÈMES	Ertapénem Imipénem + Cilastatine Méropénem	
	MONOBACTAME	Aztréonam	
	CÉPHALOSPORINES	Céphalosporines de 1ère génération (C1G)	Céfaclor Céfadroxil Céfalexine Céfalotine Céfazoline Céfradine
		Céphalosporines de 2ème génération (C2G)	Céfamandole Céfoxitine Céfuroxime sodique Céfuroximeaxétil
		Céphalosporines de 3ème génération (C3G)	Céfixime Cefpodoximeproxétil Céfodiamhexétil Céfépime Céfotaxime Cefpirome Ceftazidime Ceftriaxone
	FOSFOMYCINE	Fosfomycine Fosfomycinetrométamol	
	GLYCOPEPTIDES	Teicoplanine Vancomycine	
LIPOPEPTIDE	Daptomycine		
POLYMYXINES	Polymyxine E ou colistine		

AMINOSIDES		Amikacine sulfate Gentamicine Neomycine (associée) Nétilmycine Spectinomycine Streptomycine Tobramycine
MACROLIDES ET APPARENTÉS	MACROLIDES VRAIS	Amphotericine B Azithromycine Clarithromycine Érythromycine Josamycine Midécamycine Roxithromycine
	LINCOSAMIDES	Clindamycine Lincomycine
	KÉTOLIDES	Télithromycine
	SYNERGISTINES	Pristinamycine
PHÉNICOLES CYCLINES		Thiamphénicol Chlortetracycline Doxycycline Lymécycline Méthylèncycline Minocycline Tigécyclin
ACIDES FUSIDIQUES		Acide fusidique
OXAZOLIDINONES		Linézolide Tedizolid
QUINOLONES	QUINOLONES URINAIRES	QUINOLONES 1ÈRE GÉNÉRATION FLUOROQUINOLONES Énoxacine Loméfloxacin Norfloxacin
	QUINOLONES SYSTÉMIQUES	FLUOROQUINOLONES Ciprofloxacine Ofloxacine Péfloxacin
	QUINOLONES ANTI-PNEUMOCOCCIQUES	FLUOROQUINOLONES Lévofloxacine Moxifloxacine
QUINOLÉINES		Hydroxyquinoléine
MUPIROCINE		Mupirocine
AUTRES		Rifamycine
SULFAMIDES		Sulfadiazine Sulfadiazine + Pyriméthamine Sulfaméthizol Sulfafurazole + Érythromycine Sulfaméthoxazole + Triméthoprime (Cotrimoxazole)
	NITROFURANES	Nitrofurantoïne Nifuroxazide

PRODUITS NITRÉS	NITRO-IMIDAZOLES	Métronidazole Ornidazole Tinidazole
ANTITUBERCULEUX		Éthambutol Isoniazide Isoniazide + Rifampicine Pyrazinamide Pyrazinamide + Isoniazide + Rifampicine Rifabutine Rifampicine

Tableau VII: Mécanismes de résistance majeurs des principales classes d'antibiotiques (Avorn *et al.*, 2001 ; Dellit *et al.*, 2007 ; Mandell *et al.*, 2009).

Antibiotiques	Résistance chromosomique	Résistance extra-chromosomique
<i>Aminosides</i>	Diminution de la perméabilité, Modification de la cible (protéine S12 sous-unité 30S).	Inactivation par acétyltransférases,
<i>beta-lactamines</i>	Diminution de la perméabilité, Diminution de l'affinité des PLP, Diminution de la synthèse des PLP, Synthèse de nouvelles PLP, Inactivation enzymatique par des céphalosporinases.	Inactivation par diverses β -lactamases ou carbapénémases.
<i>beta-lactamines est inhibiteurs de beta-lactamases</i>	Inactivation par des céphalosporinases chromosomiques.	Inactivation par β -lactamases hyperproductrices et β -lactamases résistantes aux inhibiteurs.
<i>Glycopeptides</i>		Modification de la cible, Diminution de l'affinité, ERV, 6 gènes de résistance identifiés (VanA, VanB, etc).
<i>Macrolides</i>		Méthylation du ribosome bactérien (ARN 23S).
<i>Chloramphénicol</i>	Diminution de la perméabilité	Efflux actif, Inactivation par acétyltransférases.
<i>Quinolones</i>	Modification de la cible ADN-gyrase ou topoisomérase IV (gène <i>gyrA</i> , <i>gyrB</i> ou <i>par C</i>) par mutation spontanée, Diminution de la perméabilité.	
<i>Rifampicine</i>	Modification de la cible (ARN polymérase ADN dépendante).	
<i>Sulfamidés</i>	Diminution de la perméabilité, Modification par mutation de la dihydroptéroate synthétase.	Dihydroptéroate synthétase additionnelle sans affinité pour sulfamidés.
<i>Tétracyclines</i>	Diminution de la perméabilité	Efflux actif spécifique.
<i>Triméthoprime</i>	Diminution de la perméabilité, Mutation de dihydrofolate réductase.	Dihydrofolate réductase additionnelle insensible au triméthoprime.

Annexe 04 : Matériels et consommateurs

- Bec Bunsen
- Ecouvillons
- Etuve
- Autoclave
- Vortex
- Tubes à essai
- Anse de platine
- Para film
- Boîtes de Pétri
- Pincés

Annexe 05 : Tableaux des concentrations et diamètres critiques pour les diverses classes d'antibiotiques

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)	
		S	R	S	R
PENICILLINES					
Pénicilline G	6 µg (10 UI)	≤ 0,25	> 2	≥ 29	< 18
Ampicilline	10 µg	≤ 2	> 8	≥ 21	< 16
Ampicilline/sulbactam	10/10 µg	≤ 2/8	> 8/8	≥ 21	< 16
Amoxicilline	25 µg	≤ 2	> 8	≥ 23	< 16
Amoxicilline/ac. clavulanique	20/10 µg	≤ 2/2	> 8/2	≥ 23	< 16
Ticarcilline	75 µg	≤ 8	> 16	≥ 24	< 22
Ticarcilline/ac. clavulanique	75/10 µg	≤ 8/2	> 16/2	≥ 24	< 22
Pipéracilline	75 µg	≤ 4	> 16	≥ 22	< 18
Pipéracilline/tazobactam	75/10 µg	≤ 4	> 16	≥ 22	< 18
CARBAPENEMES					
Imipénème	10 µg	≤ 2	> 8	≥ 24	< 17
Méropénème	10 µg	≤ 2	> 8	≥ 22	< 15
Ertapénème	10 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 28	< 26
Doripénème	10 µg	≤ 1	> 4	≥ 24	< 19
MONOBACTAME					
Aztréonam	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 23	< 21

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)	
		S	R	S	R
CEPHALOSPORINES (Voie parentérale)					
Céfazoline		≤ 1	> 2		
Céfalotine	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 18	< 12
Céfamandole	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 22	< 15
Céfuroxime	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 25	< 22
Céfoxitine	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 22	< 15
Céfotiam	30 µg	≤ 4	> 32	≥ 22	< 15
Céfopérazone	30 µg	≤ 4	> 32	≥ 21	< 14
Céfotaxime	30 µg	≤ 1	> 2	≥ 26	< 23
Ceftriaxone	30 µg	≤ 1	> 2	≥ 26	< 23
Ceftazidime	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 21	< 19
Céfépime	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 21	< 19
Cefpirome	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 21	< 19
Latamoxef	30 µg	≤ 4	> 32	≥ 23	< 17
CEPHALOSPORINES (Voie orale)					
Céfadroxil	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 18	< 12
Céfalexine	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 18	< 12
Céfradine	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 18	< 12
Céfaclor	10 µg	≤ 2	> 8	≥ 22	< 16
Céfatrizine	10 µg	≤ 2	> 8	≥ 22	< 15
Loracarbef	10 µg	≤ 2	> 8	≥ 23	< 15
Céfuroxime-axétil	10 µg	≤ 1	> 4	≥ 26	< 20
Céfotiam-héxétil	10 µg	≤ 1	> 2	≥ 22	< 19
Céfixime	10 µg	≤ 1	> 2	≥ 25	< 22
Cefpodoxime-proxétil	10 µg	≤ 1	> 2	≥ 24	< 21

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)	
		S	R	S	R
MACROLIDES					
Erythromycine	15 UI	≤ 1	> 4	≥ 22	< 17
Dirithromycine	15 µg	≤ 0,12	> 4	≥ 28	< 16
Azithromycine	15 µg	≤ 0,5	> 4	≥ 22	< 17
Spiramycine	100 µg	≤ 1	> 4	≥ 24	< 19
KETOLIDES					
Télithromycine	15 µg	≤ 0,5	> 2	≥ 21	< 17
LINCOSAMIDES					
Lincomycine	15 µg	≤ 2	> 8	≥ 21	< 17
Clindamycine	2 UI	≤ 2	> 2	≥ 15	< 15
STREPTOGRAMINES					
Pristinamycine	15 µg	≤ 1	> 2	≥ 22	< 19
Quinupristine-dalfopristine	15 µg	≤ 0,5	> 2	≥ 25	< 19
OXAZOLIDINONES					
Linézolide	30 µg	≤ 2	> 4	≥ 28	< 24
GLYCOPEPTIDES					
Teicoplanine	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 17	-
Vancomycine	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 17	-
POLYPEPTIDES					
Bacitracine	130 µg	≤ 2	> 2	≥ 15	< 15
Colistine	50 µg	≤ 2	> 2	≥ 15	< 15
SULFAMIDES-TRIMETHOPRIME					
Sulfamides	200 µg	≤ 64	> 256	≥ 17	< 12
Triméthoprime	5 µg	≤ 4	> 8	≥ 16	< 12
Triméthoprime/sulfaméthoxazole	1,25/23,75 µg	≤ 2/38	> 8/152	≥ 16	< 10

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)	
		S	R	S	R
AMINOSIDES					
Streptomycine					
- streptocoques, entérocoques	500 µg	≤ 250	> 500	≥ 14	< 12
- autres bactéries	10 UI	≤ 8	> 16	≥ 15	< 13
Gentamicine					
- streptocoques, entérocoques	500 µg	≤ 250	> 500	≥ 17	< 11
- autres bactéries	15 µg (10 UI)	≤ 2	> 4	≥ 18	< 16
Nétilmicine	30 µg	≤ 2	> 4	≥ 21	< 19
Kanamycine					
- streptocoques, entérocoques	1000 µg	≤ 250	> 500	≥ 14	< 10
- autres bactéries	30 UI	≤ 8	> 16	≥ 17	< 15
Tobramycine	10 µg	≤ 2	> 4	≥ 18	< 16
Amikacine	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 17	< 15
Spectinomycine (<i>Neisseria gonorrhoeae</i>)	100 µg	≤ 64	> 64	≥ 20	< 20
PHENICOLES					
Chloramphénicol	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 23	< 19
TETRACYCLINES					
Tétracycline	30 UI	≤ 4	> 8	≥ 19	< 17
Oxytétracycline	30 UI	≤ 4	> 8	≥ 19	< 17
Doxycycline	30 UI	≤ 4	> 8	≥ 19	< 17
Minocycline	30 UI	≤ 4	> 8	≥ 19	< 17
Tigécycline	15 µg	≤ 0,25	> 0,5	≥ 22	< 22

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)	
		S	R	S	R
NITROFURANES					
	300 µg	≤ 64	> 64	≥ 15	< 15
QUINOLONES					
Acide oxolinique	10 µg	≤ 2	> 4	≥ 20	< 17
Fluméquine	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 25	< 21
Acide nalidixique	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 20	< 15
Acide pipémidique	20 µg	≤ 8	> 16	≥ 19	< 14
Acide piromidique	25 µg	≤ 16	> 32	≥ 20	< 16
FLUOROQUINOLONES					
Ciprofloxacine	5 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 25	< 22
Enoxacine	5 µg	≤ 1	> 2	≥ 22	< 19
Lévofloxacine	5 µg	≤ 1	> 2	≥ 20	< 17
Loméfloxacine	5 µg	≤ 1	> 2	≥ 22	< 19
Moxifloxacine	5 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 24	< 21
Norfloxacine	5 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 25	< 22
Ofloxacine	5 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 25	< 22
Péfloxacine	5 µg	≤ 1	> 4	≥ 22	< 16
Sparfloxacine	5 µg	≤ 1	> 2	≥ 20	< 16

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)	
		S	R	S	R
DIVERS					
Acide fusidique	10 µg	≤ 2	> 16	≥ 22	< 15
Fosfomycine	50 µg + 50 µg G6P	≤ 32	> 32	≥ 14	< 14
Métronidazole	Comprimé 16 µg	≤ 4	> 4	-	< 21
Nitroxoline	20 µg	≤ 1	> 32	≥ 30	< 12
Rifampicine	30 µg	≤ 4	> 16	≥ 19	< 14
Mupirocine	5 µg	≤ 2	-	≥ 19	-

Annexe 06 : Profils d'antibiorésistance obtenus pour les souches testées

<i>Staphylococcus aureus</i>															
	CIP	FD	RD	SXT	E	K	DA	M Y	CN	VA	OX	TE C	P	AM P	FOX
P1p	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
P6p	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
P9	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
P10	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	I
P15	R	S	R	S	S	S	S	I	S	S	S	R	S	I	R
P19	S	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
P23	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	R	S	R	R	R
P26	R	R	I	S	R	R	R	R	S	S	S	S	I	S	R
P33	R	R	S	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	S
TAUX	7	7	4	4	7	6	5	6	5	5	6	6	6	7	6
<i>Staphylocoques à coagulas négative</i>															
P7	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	I
P16	R	R	S	R	R	R	S	S	R	S	R	S	R	I	R
P17	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R
P18	R	R	I	S	R	R	S	S	S	S	R	S	R	S	R
P22	S	S	I	R	R	S	S	S	S	S	S	S	I	I	S
P24	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S	S	S	R	R	R
P27	R	R	R	R	R	S	R	R	S	S	S	R	R	R	R
P28	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R
TAUX	7	6	3	6	6	4	4	4	4	0	5	2	7	5	6
Environnement															
Douche	R	R	S	R	R	R	S	S	R	S	R	S	R	R	R

Entérocoques

	VA	TEC	FOX	AMP	OX	E	DA	MY	CN	K	FD	F	RD	CIP	SXT
P1	R	S	S	R	S	R	R	R	S	R	R	R	I	S	I
P3	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	I	I	I	I
P6	R	R	R	I	R	I	R	R	R	R	R	R	S	S	S
P8	S	S	S	I	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	S
P11	R	S	I	R	R	S	S	S	R	S	R	R	S	S	S
P21	R	R	S	R	R	R	R	R	S	R	R	S	S	R	R
P24	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
ET	S	S	R	I	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
L1	S	S	R	I	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
Douche	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S

Streptocoque

	VA	TEC	FOX	AMP	OX	E	DA	MY	CN	K	FD	F	RD	CIP	SXT
P2	S	R	S	R	R	I	S	R	S	S	R	S	I	S	I
P8	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S
P9	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	R	R	R
P11	R	R	I	R	R	S	S	S	S	S	R	R	R	S	R
P33p	S	S	I	S	S	S	R	R	S	S	S	R	S	S	S
P33g	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	R
P13	S	R	R	R	R	S	S	R	R	R	S	S	I	I	S
P34	R	S	S	R	R	R	R	R	S	R	R	S	I	R	R
Environnement															
Lit2	S	R	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R
cui	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	S	R	S	S

BGN																
<i>Entérobactérie</i>																
ATB	AMC	FOX	ATM	CAZ	CFX	FEP	F	CN	R	SIT	NA	CIP	RIF	IMP	CL	AM
P1	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R	I	R	R
P9	R	I	S	S	R	S	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R
P10	R	S	S	S	R	S	R	S	S	R	R	S	S	S	R	R
P15p	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	R	R	S	S	R	R
P15g	R	S	S	S	R	S	R	S	S	S	R	R	S	I	R	R
P18p	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
P18g	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R
P17	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R
P25g	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
P34	R	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S	S	R
<i>Entérobactérie- Environnement</i>																
Cui1R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	I	S	R	S	S	R
Cui1r	R	S	R	R	S	S	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R
Cui2R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R
Cui2r	R	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	I	S	S	R
<i>Acinetobacter spp</i>																
P8	R	S	S	S	R	S		R	R	R	R	R	R	S	R	R
P21	R	S	S	S	S	S		R	R	R	R	S	S	S	S	R
P26	S	R	R	S	R	S		R	S	S	S	S	S	S	S	R
<i>Pseudomonas spp</i>																
P25p	S	R	R	S	R	R		R	S	S	R	S	R	S	S	I

Annexe 07

Tableau d'identification des staphylocoques :

Test	Mannitol	catalase	coagulase	Test	Mannitol	catalase	Coagulase
Souche				Souche			
P1p	+	+	+	P18p	-	+	-
P1g	+	+	-	P19p	+	+	-
P6p	+	+	-	P19g	-	+	+
P6g	+	+	+	P19gb	-	-	-
P7p	+	+	-	P21p	-	+	-
P7g	+	+	-	P21g	+	+	-
P9	+	+	+	P22p	+	+	-
P10	+	+	+	P22g	-	+	-
P11	+	+	-	P23	+	+	+
P12	+	+	-	P24	+	+	-
P15	+	+	+	P26p	-	+	+
P16p	+	+	-	P26g	+	+	-
P16g	+	+	+	P27p	+	+	-
P17	+	+	-	P28	-	+	-
P18g	-	+	-	P33	+	+	+
D	-	+	-	Lit1b	-	+	-
Db	-	+	-	Lit1j	+	+	+
Cui1p	-	+	-	Cui1J	+	+	+

Tableau d'identification des BGN

Test	Lac	sac	Glu	H2S	Gaz	Cit	Man	Mob	VP	RM	TDA	Indol	Uréa	ONPG	Espèce
souch															
P1	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	<i>Morganella morganii</i>
P8	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	<i>Acinetobacter spp</i>
P9	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	<i>Citrobacter spp</i>
P10	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	<i>Citrobacter spp</i>
P15p	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	<i>Morganella morganii</i>
P15g	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	<i>E coli</i>
P18p	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	<i>E coli</i>
P18g	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	<i>Klebsiella spp</i>
P17	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	<i>E coli</i>
P21	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	<i>Acinetobacter spp</i>
P26	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	<i>Acinetobacter spp</i>
P25p	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	<i>Pseudomonas spp</i>
P25g	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	<i>Enterobacter spp</i>
P34	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	<i>Ecoli</i>
Cui1R	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	<i>Ecoli</i>
Cui1r	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+		-	<i>Shigella spp</i>
Cui2R	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+		+	<i>E coli</i>
Cui2r	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	<i>Ecoli</i>

Antibiorésistance des souches bactériennes impliquées dans les infections du pied diabétique

Résumé :

Les infections de pied diabétique (IPD) constituent un problème majeur de santé publique, qui peut être aggravé par la présence des germes résistants aux antibiotiques ATB.

Ce travail prospective a été réalisé pour identifier les germes responsables des IPD ainsi que les germes de l'environnement hospitalier qui peuvent être impliqués, et déterminer leur profil d'antibiorésistance.

Il ressort des résultats que les CGP sont dominantes avec la prévalence des staphylocoques. *E.coli* est la bactérie la plus dominante plus des BGN. Parmi 09 souches de *Staphylococcus aureus*, 06 sont SARM. Les Streptocoques et les entérocoques de l'IPD présente une résistance accrue vis-à-vis les antibiotique de la famille des glycopeptides 06 souches, soit 85% sont des ERV, aux contraire des Entérocoque isolés de l'environnement sont sensible à l'action de la Vancomycine. L'imipenème, reste l'antibiotique le plus régulièrement actif sur les bacilles à Gram négatif isolées.

Mot clé : Infection du pied diabétique, CGP, BGN, Environnement hospitalier, antibiorésistance.

مقاومة المضادات الحيوية من السلالات الجرثومية التي تشارك في التهابات القدم السكري

الملخص :

تعتبر عدوى القدم السكرية مشكل عويص على الصحة العمومية ، والتي يمكن أن تتفاقم بسبب وجود الكائنات الحية المقاومة للمضادات الحيوية.

تم إجراء هذه الدراسة لتحديد الجراثيم المسؤولة عن هذه العدوى وكذا الجراثيم المتواجدة في بيئة المستشفى التي قد تكون مسببة لها، و معاينة مقاومة هذه الجراثيم للمضادات الحيوية.

أوضحت النتائج أن CGP هي الأكثر هيمنة مع غلبة المكورات العنقودية كما إتضح أن الإشيريشا كولاي هي الأكثر سيادة من بين BGN. من بين 09 سلالات من المكورات العنقودية الذهبية، كانت 06 منها SARM. تظهر المكورات العنقودية والمكورات المعوية المعزولة من القدم المتقرحة مقاومة متزايدة للمضادات الحيوية من عائلة الـ Glycopeptides . 06 سلالات مقدره بنسبة 85% كانت VRE ، على النقيض من المكورات المعوية المعزولة من بيئة المستشفى كانت حساسة Vancomycine . كما انه لازال يعتبر الـ imipénème المضاد الحيوي الأكثر نشاطا بانتظام على العصيات المعزولة سالبة الغرام.

الكلمات المفتاحية : عدوى القدم السكرية، CGP , BGN, بيئة المستشفى, مقاومة المضادات الحيوية .

Antibiotic resistance of bacterial strains involved in diabetic foot infections

Abstract:

Diabetic foot infections are a major problem in public health, which can be aggravated by the presence of antibiotic-resistant organisms.

This prospective work was carried out to identify the germs responsible for the IPDs as well as the germs of the hospital that may be involved, and to determine their antimicrobial resistance profile.

The results show that **GCP** are more dominant with the prevalence of *staphylococci*. *E. coli* is the most dominant bacterium of **GNB**. Of the 09 strains of *Staphylococcus aureus*, 06 are MRSA. *Streptococcus* and *Enterococcus* of IPD show increased resistance to antibiotics of the family of glycopeptides. 06 strains, (85%) are VRE, in contrast *Enterococci* isolated from the environment are sensitive to the action of Vancomycin. Imipenem remains the most regularly active antibiotic on isolated Gram-negative bacilli

Key words: diabetic foot infection, **GPC**, **GNB**, hospital environment, antibiorésistance.