

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de BLIDA -1-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.
Département de Biologie et de Physiologie Cellulaire.



Mémoire de Fin d'Etudes En vue de l'obtention du diplôme de
Master en Sciences Biologiques
Option : Microbiologie-Bactériologie

Thème

Isolement et identification des bactéries multi-résistantes du pied
diabétique et l'étude de l'effet antibactérien de deux huiles essentielles
(*Salvia officinalis* et *Lavandula angustifolia*)

Soutenu le : 17/09/2017

Présenté par :

BÉLAIDI FELLA

AOUADI AMINA

Devant le jury composé de :

M ^{me} MEKLAT. A.	M.C.A	U.S.D.B. 1	Présidente
Mr BOUKHATEM M.N.	M.C.A	U.S.D.B. 1	Examineur
M ^{me} BOUDJEMA. N.	M.C.B	U.S.D.B. 1	Promotrice

Année Universitaire : 2016-2017

~ Remerciements ~

Nous aimerions en premier lieu remercier notre « Dieu », le tout puissant et Miséricordieux, qui nous a donné la volonté, la force, le courage et surtout la patience pour la réalisation de ce travail.

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui nous voudrions témoigner toute notre reconnaissance et gratitude.

Permettez-nous d'adresser nos sincères remerciements à tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé nos réflexions et ont accepté à nous rencontrer et répondre à nos questions durant notre recherche.

*Nos profonds remerciements sont adressés à notre promotrice **Mme Boudjema.N.***

Votre gentillesse, disponibilité tout au long de la réalisation de ce mémoire, orientation et surtout vos judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter nos réflexions ont toujours suscité notre admiration.

*Nous adressons nos sincères remerciements à **Mme Meklat.A** de nous avoir fait l'honneur de présider le jury examinant ce travail.*

*Nous tenons à adresser nos vifs remerciements à **Mr Boukhatem M.N** pour l'honneur d'examiner ce travail.*

Nous tenons à remercier vivement tous les enseignants et les professeurs du département de biologie de l'université de Blida 1 Pour leurs efforts fournis durant toute la période d'étude qui doivent voir dans ce travail la fierté d'un bien acquis, ainsi qu'à tous ceux qui ont collaboré d'une façon ou d'une autre à notre formation.

Nous tenons également à remercier l'ensemble du personnel du laboratoire d'hygiène de la wilaya de Blida.

*Nous remercions infiniment **Mr Tafahí Djamel** pour son accueil, sa disponibilité, son aide dans la réalisation de ce travail, pour tous le temps qui il a consacré pour nous orienter sur les grands titres de notre stage. Nous lui adressons tous nos remerciements pour sa compréhension, son respect, et surtout pour son encouragement.*

*Nos sincères reconnaissances à toute l'équipe de **L'EPH de Blida** (Service maladies internes, diabétologie), à l'ensemble des personnels de **L'EPH de Kolea, L'EPH de Boufarik**, et un grand merci à **Aami Rabah** au niveau de l'unité des soins du pied diabétique de Boufarik.*

Nos remerciements s'adressent également à tous nos amis et collègues qui nous ont apporté leur support moral et intellectuel tout au long de ce travail.

Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont également à nos parents qui ont été toujours là pour nous et pour leurs encouragements.

Nous remercions aussi tout ce qui a contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

~ Dédicaces ~

Louange à Allah seigneur du monde qui m'a comblé de grâce, en me permettant d'achever en bonne santé ce modeste travail que je dédie à mes très chers parents qui m'ont toujours fort encouragé et assisté le long de mon parcours scolaire avec beaucoup de tendresse, de gentillesse, et d'amour.

A ma très chère Maman

Le présent modeste travail est le fruit de tes efforts, des longues années de sacrifices auxquels tu as consentis. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses filles suivent le bon chemin et réussissent dans leurs études. Tes prières et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Je ne trouverai jamais assez de mots pour t'exprimer toute ma gratitude et mon affection. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Qu'Allah t'accorde longue vie, santé et bonheur.

A mon très cher Père

Tu as remplis ton devoir envers tes filles, tu nous as toujours réconforté dans les moments difficiles, et tu nous as accompagné avec tendresse dans notre cursus scolaire, rien au monde ne vaut les efforts que vous avez fourni pour mon éducation, ma formation et mon bien être. Qu'Allah te garde longtemps parmi nous, te donne longue vie, santé et bonheur.

A ma très chère Sœur Aya

Aucun mot ne saurait exprimer le grand amour que j'éprouve envers toi. En témoignage de mon affection et ma profonde estime, je te dédie mon modeste travail en te souhaitant beaucoup de bonheur et de réussite.

A ma chère grand-mère et tous les membres de ma famille qui n'ont cessé de m'encourager tout au long de mon projet.

A mon amie et binôme Fella avec laquelle j'ai partagé les bons et les durs moments.

A my sweetheart baby friend zolley, à mes amis et collègues pour leur générosité illimitée et qui n'ont cessé de m'encourager tout au long de la préparation de ce modeste travail.

A tous mes proches qui ont cru en moi, et qui me donnent toujours l'envie d'aller en avant.

Enfin, je dédie ce travail à toute ma promotion de Microbiologie-Bactériologie, en témoignage de l'amitié qui nous a liée et des bons moments passés ensemble en vous souhaitant un avenir radieux et plein de succès et qu'Allah vous procure santé, bonheur et accomplissement professionnel et familial

Amina





DEDICACE

Je dédie ce modeste travail :

Particulièrement à mes parents de m'avoir permis de réaliser ce travail grâce à leur amour, leurs encouragements moralement et matériellement Jusqu'à la fin de ce travail. Leur soutien inconditionnel, leurs disponibilités, leur patience, leurs conseils qui m'ont été très précieux. Ils m'ont toujours facilité ce parcours, au prix de nombreux efforts. Il me sera impossible de leur rendre tout ce qu'ils m'ont offert. Rien n'aurait été possible sans eux, cette réussite est donc un peu la mienne, mais surtout la leur.

A mes très chères grand-mères

Vous êtes et vous serez toujours pour moi le symbole de l'honnêteté, de la gentillesse, de serviabilité. Que Dieu tout puissant, vous protège et vous assure une bonne santé et longue vie.

A ma sœur Hayet , mes deux frères et ma cousine Feriel , pour leur extrême serviabilité et compréhension.

Mes plus grands remerciements vont à la lumière de ma vie. Mon futur époux, qui embellit ma vie chaque jour, pour son soutien quotidien, son optimisme persistant dans la joie et parfois dans la mauvaise humeur. Pour ses encouragements et son assistance morale qui m'ont permis de faire ce travail dans de bonnes conditions.

A Ma très chère amie et binôme Amina.

Enfin à tous ceux qui m'ont soutenu tout au long de ce travail directement ou indirectement, par leur amitié et leur sympathie, trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude.

Fella



Résumé

Notre travail porte sur l'étude des bactéries responsables des infections du pied diabétique et l'effet antibactérien des deux huiles essentielles de *Lavandula angustifolia* et *Salvia officinalis*.

Sur 65 prélèvements de pus effectués dans plusieurs services hospitaliers (EPH de Blida, EPH de Boufarik, EPH de Kolea et les dispensaires de Boufarik et Ruisseau), nous avons noté une prédominance masculine de 81,51% contre 18,46% chez les femmes. Nos résultats ont montré que la tranche d'âge de 45 à 65 ans pour les deux sexes est la plus touchée et les patients diabétiques de type II sont les plus atteints.

Parmi les 56 cultures positives, 55,35% sont des cultures polybactériennes et 44,64% sont monobactériennes. Parmi les 90 bactéries isolées, les bacilles à Gram négatif occupent la première position avec 58,88%, les *Staphylococcus* en deuxième position avec 33,33% suivis par les *Streptococcus* avec 7,77% et enfin les *Pseudomonas* avec 2,22%.

L'antibiogramme effectué a montré que les Enterobacteriaceae ont présenté une résistance élevée vis-à-vis des β -lactamines testés, de même pour les *Staphylococcus aureus* envers la Pénicilline, la Tétracycline et aussi à la méticilline. Les *Pseudomonas* ont également montré une résistance importante vis-à-vis des Ciprofloxacine, Tobramycine, Aztréonam et l'Imipénème.

D'après les résultats de l'aromatogramme, nous avons noté des diamètres de zone d'inhibition (DZI) qui varient entre 23 à 45mm pour l'huile essentielle de *Lavandula angustifolia*, et de 17 à 25,5mm pour l'huile essentielle de *Salvia officinalis*. Les huiles essentielles de *Lavandula angustifolia* et *Salvia officinalis* ont montré leur efficacité sur les *Staphylococcus aureus* avec des valeurs de la concentration minimale inhibitrice (CMI) égales à 0,5 μ l/ml pour les deux huiles essentielles testées. Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* ont montré une résistance totale vers les deux huiles essentielles de *Lavandula angustifolia* et *Salvia officinalis*.

Mots clés : Pied diabétique, Antibiorésistance, l'huile essentielle, *Lavandula angustifolia*, *Salvia officinalis*, CMI.

Abstract

Our work aims to study the bacteria responsible for diabetic foot infections and the antibacterial effectiveness of the two essential oils of *Lavandula angustifolia* and *Salvia officinalis*.

65 pus samples were taken from the feet of diabetic patients in various health facilities: (EPH of Blida, EPH of Boufarik, EPH of Kolea and the clinics of Boufarik and Ruisseau (Algiers)).

The results obtained during our study showed a male predominance of 81.51% with a prevalence of 18.46% in women. We noted that the age group between 45-65 years of both sexes was the most affected age group. Patients with type II diabetes (mellitus) were the most affected in terms of the two types, by diabetic foot problems.

Out of 56 positive microbial cultures, 55.35% are polybacterial and 44.64% are monobacterial. Out of 90 isolated bacteria, Gram-negative bacilli occupied the first position with 58.88%, and Staphylococci in the second place with 33.33%, followed by Streptococci with 7.77%, and finally *pseudomonas* with 2.22%. The antibiogram revealed that Enterobacteriaceae showed high resistance to β -lactams tested, as well as to *Staphylococcus aureus* against Penicillin, Tetracycline and also to Methicillin (MRSA). *Pseudomonas* also showed significant resistance to Ciprofloxacin, Tobramycin, Aztréonam and Imipenem.

According to the results of the aromatogram, the inhibition zone diameters vary between 23-45mm for the essential oil of *Lavandula angustifolia*, and vary between 17-25.5mm for the essential oil of *Salvia officinalis*. Both of essential oils of *Lavandula angustifolia* and *Salvia officinalis* have shown their potency on *Staphylococcus aureus* with minimum inhibitory concentration (MIC) equals to 0.5 μ l/ml for the two tested essential oils. The strains of *Pseudomonas aeruginosa* showed total resistance to both of essential oils of *Lavandula angustifolia* and *Salvia officinalis*.

Key words: Diabetic foot infections, Antibiotic resistance, Essential oil, *Lavandula angustifolia*, *Salvia officinalis*, MIC.

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى البحث عن الجراثيم المسؤولة في تعفن القدم السكري ، و اختبار التأثير المضاد للجراثيم لكل من الزيوت الأساسية للخزامى *Lavandula angustifolia* و سواك النبي *Salvia officinalis*.

65 عينة قبح جمعت من تعفن أرجل مرضى السكري و ذلك من مختلف المؤسسات الاستشفائية [المستشفى العام للبلدية ، بوفاريك و القليعة إضافة إلى العيادة العامة لبوفاريك و عيادة بلوزداد (العاصمة)] .

بينت النتائج المحصل عليها من خلال دراستنا أن أغلبية المصابين هم من جنس الذكور بنسبة 81,51%. بينما نسبة النساء تعادل 18,46%. كما لاحظنا أن فئة عمر المصابين من كلا الجنسين تتراوح بين 45-65 سنة ، و أن مرضى السكري من النوع II هم الأكثر عرضة للإصابة بهذا الداء .

لاحظنا من بين 56 عينة ايجابية، 55,35% عينة متعددة البكتيريا في حين أن الباقي ما يعادل 44,64% أحادية البكتيريا . من مجموع 90 بكتيريا معزولة ، احتلت العصيات ذات الغرام السالب المرتبة الأولى بنسبة 58,88% متبوعة ب *Staphylococcus aureus* بنسبة 33,33% تليها *Streptocoque* بنسبة 7,77% ، و أخيرا *Pseudomonas* بنسبة 2,22% .

بين الانتيبيوغرام أن *Enterobacteriaceae* تمثل نسبة مقاومة عالية للبيتالكتامين و كذلك *Staphylococcus aureus* للبينسلين و التيتراسكلين و الميثيسيلين ، بينما أظهرت *Pseudomonas* مقاومة لسيبروفلوكزاسين ، توبرامسين ، از تريونام و ايميبينام.

أظهرت النتائج المحصل عليها من الأروماتوغرام أن أقطار منطقة التثبيط تتراوح ما بين 23-45 مم بالنسبة لزيت الخزامى *Lavandula angustifolia* و أخرى تتراوح ما بين 17-25.5 مم بالنسبة لزيت سواك النبي *Salvia officinalis*.

أثبتت كل من الزيوت الأساسية للخزامى و سواك النبي فعاليتها على *Staphylococcus aureus* مع تسجيل أدنى قيمة للتركيز المثبط و الذي يعادل 0.5 مايكرو لتر / ميل لتر لكليهما.

أظهرت سلالات *Pseudomonas aeruginosa* مقاومة كلية للزيوت الأساسية المختبرة.

الكلمات المفتاحية : تعفن القدم السكري ، مقاومة المضادات الحيوية ، زيوت أساسية، *Salvia, Lavandula angustifolia, officinalis*, القيمة الأدنى للتركيز المثبط.

Liste des abréviations

ADH	: Arginine DiHydrolase.
API	: Analytical Profil Index.
ATB	: Antibiotique.
ATCC	: American Type Culture Collection.
BGN	: Bacilles à Gram Négatif.
BGT	: Bouillon Glucosé Tomponné.
BLSE	: β -lactamase à Spectre Elargi.
BMR	: Bactéries Multi Résistantes.
DHB	: Dermo-Hypodermite Bactérienne.
DHBN	: Dermo-Hypodermite Bactérienne Nécrosante.
DID	: Diabète Insulinodépendant.
DNID	: Diabète Non Insulinodépendant.
DZI	: Diamètre de la Zone d Inhibition.
EPH	: Etablissement Public Hospitalier.
FN	: Faciite Nécrosante.
GSF	: Gélose au Sang Frais.
H ₂ O ₂	: Peroxyde d'Hydrogène.
H ₂ S	: Hydrogène Sulfuré.
HE	: Huile Essentielle.
LDC	: Lysine Décarboxylase.
MH	: Muller Hinton.
MRSA	: Methicillin-Resistant <i>Staphylococcus aureus</i> .
MSSA	: Methicillin-Sensible <i>Staphylococcus aureus</i> .
N ₂	: Azote.
NA Cl	: Chlorure de Sodium.
NO ₂	: Nitrites.
NO ₃	: Nitrates.
ODC	: Ornithine Décarboxylase.
OMS	: Organisation Mondiale de Santé.
ONPG	: Ortho-Nitro-Phenyl-Galactosidase.
PLP	: Proteine Liant les Pénicillines.
R	: Résistante.
RHA	: Rhamnose.

RM : Rouge de Méthyle.

S : Sensible.

SAC : Saccharose.

SARM : *Staphylococcus aureus* Restante a la Méthicilline.

TDA : Tryptophane Désaminase.

TSI : Triple Sugar Iron.

URE : Uréase.

USB : Unité de Soins Boufarik.

Vp : Réaction de Voges-Proskauer.

Liste des Figures

Figure 1 : Mal perforant plantaire	7
Figure 2 : Mécanisme de la résistance bactérienne	13
Figure 3 : Aspect général de l'espèce de <i>Lavandula angustifolia</i>	14
Figure 4 : Aspect général de l'espèce de <i>Salvia officinalis</i>	15
Figure 5: Réalisation d'un test de synergie	32
Figure 6: Illustration de la méthode de l'aromatogramme.....	33
Figure 7 : Répartition des prélèvements en fonction du sexe	36
Figure 8 : Répartition des prélèvements en fonction de l'âge.....	37
Figure 9: Répartition des patients en fonction de l'âge et de sexe.....	37
Figure 10 : Répartition des patients en fonction de type de diabète	38
Figure 11 : Répartition des patients selon hospitalisation ou non hospitalisation	38
Figure 12: Répartition des prélèvements positifs et négatifs	39
Figure 13 : Répartition des résultats selon la nature des cultures obtenues	39
Figure 14 : Répartition des résultats selon le groupe de germes identifiés.....	40
Figure 15 : Répartition des résultats selon les germes identifiés.....	40
Figure 16 : Répartition globale des différentes espèces isolées.....	41
Figure 17: Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez <i>les</i> Entérobactéries...	42
Figure 18 : Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches de <i>Pseudomonas</i>	42
Figure 19 : Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches de <i>Proteus mirabilis</i>	43
Figure 20: Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches de <i>Morganella morganii</i>	43
Figure 21: Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches de <i>Klebsiella ornitholytica</i>	44
Figure 22 : Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches des <i>Staphylococcus aureus</i>	45
Figure 23 : Répartition des souches de <i>Staphylococcus aureus</i> selon la résistance à la méthicilline (MRSA).....	45
Figure 24: Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches de <i>Streptococcus</i>	46
Figure 25 : Activité antibactérienne des huiles essentielles de <i>Lavandula angustifolia</i> et <i>Salvia officinalis</i>	50

Figure 26 : Appareillage, verreries, réactifs et principaux milieux de culture utilisés .

..... Annexe II

Figure 27 : Préparation des concentrations pour la CMI. Annexe II

Liste des tableaux

Tableau 1 : Lecture et interprétation du milieu urée-indole.....	26
Tableau 2 : Prélèvement effectué des plaies du pied diabétique.	36
Tableau 3 : Résultats de l'activité antibactérienne <i>in vitro</i> de l'essence aromatique de <i>Lavandula angustifolia</i> et <i>Salvia officinalis</i> sur les différentes souches isolées	46
Tableau 4 : Résultats de l'antibiorésistance sur les différentes souches isolées.....	47
Tableau 5 : Résultats de la concentration minimale inhibitrice(CMI) de l'huile <i>Lavandula angustifolia</i>	49
Tableau 6 : Résultats de la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'huile <i>Salvia officinalis</i>	49
Tableau 7 : Corrélation clinico-biologique entre les types de plaies et les germes impliqués et identifiés	Annexe I
Tableau 8 : utilité du test oxydase.....	Annexe I
Tableau 9 : Classes d'antibiotiques et leurs mécanismes d'action.....	Annexe I
Tableau 10 : Tableau de la lecture de la galerie miniaturisée Api 20 ^E	Annexe II
Tableau 11 : Noms, abréviations et charge des disques d'antibiotiques utilisés durant notre étude	Annexe II
Tableau 12 : Les valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour les Entérobactéries	Annexe II
Tableau 13 : Les valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour <i>P.aeruginosa</i>	Annexe II
Tableau 14 : Les valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour <i>Staphylococcus aureus</i>	Annexe II
Tableau 15 : Répartition des patients en fonction du sexe.....	Annexe III
Tableau 16 : Répartition des patients en fonction de l'âge	Annexe III
Tableau 17 : Répartition des patients selon le sexe et l'âge	Annexe III
Tableau 18 : Répartition des prélèvements selon le type de diabète	Annexe III
Tableau 19 : Répartition des prélèvements selon les patients hospitalisés et non hospitalisés	Annexe III
Tableau 20 : Répartition des résultats selon la positivité et la négativité des prélèvements de pus.....	Annexe III
Tableau 21 : Répartition des prélèvements selon la nature des cultures obtenus	Annexe III
Tableau 22 : Répartition des résultats selon le Groupes de germes identifiés	Annexe III
Tableau 23 : Répartition des germes identifiés	Annexe III
Tableau 24 : Répartition globale des germes identifiés	Annexe III

Tableau 25 : Profil de l'antibiorésistance chez les Entérobactéries.....	Annexe III
Tableau 26 : Profil de l'antibiorésistance chez <i>Pseudomonas</i>	Annexe III
Tableau 27 : Profil de l'antibiorésistance chez <i>Proteus mirabilis</i>	Annexe III
Tableau 28 : Profil de l'antibiorésistance chez <i>Morganella morganii</i>	Annexe III
Tableau 29 : Profil de l'antibiorésistance chez <i>Klebsiella ornitholytica</i>	Annexe III
Tableau 30 : Profil de l'antibiorésistance chez <i>Staphylococcus aureus</i>	Annexe III
Tableau 31 : Réparation des souches de <i>staphylococcus aureus</i> selon la résistance à la méhticilline (SARM).....	Annexe III
Tableau 32 : Profil de l'antibiorésistance chez <i>Streptococcus</i>	Annexe III

Sommaire

Introduction	1
Chapitre I : Partie bibliographique	
1. Généralités sur le diabète	3
1.1. Définition	3
1.2. Classification	3
1.3. Complication du diabète	4
1.3.1. Complications macro-angiopathiques	4
1.3.2. Complications micro-angiopathiques	4
2. Pied diabétique	4
2.1. Epidémiologie	5
2.2. Physiopathologie	5
2.2.1. Facteurs intrinsèques	5
2.2.1.1-Neuropathie diabétique	5
2.2.1.2-Artériopathie des membres inférieurs	7
2.2.1.3- Infections.....	7
2.2.2. Facteurs extrinsèques	9
3. Infections nosocomiales.....	9
3.1. Germes responsables de l'infection du pied diabétique	10
4. Antibiotiques et antibiorésistance.....	11
4.1. Antibiotique.....	11
4.1.1. Définition	11
4.1.2. Classification	11
4.2. Antibiorésistance	11
4.2.1. Définition	11
4.2.2. Bactéries multi- résistantes aux antibiotiques (BMR).....	11
4.2.3. Nature de l'antibiorésistance	11
4.2.4. Mécanismes de la résistance bactérienne aux antibiotiques.....	12
5. Généralités sur la lavande <i>Lavandula angustifolia</i>.....	13
6. Généralités sur la sauge <i>Salvia officinalis</i>	15
Chapitre II : Matériel et Méthodes	
1. Matériel	
1.1. Matériel biologique	18
1.2. Matériel non biologique	18

2. Méthodes

2.1. Méthode de prélèvement du pus	18
2.2. Examen cytot bactériologique de pus.....	19
2.2.1. Étude cytologique	19
2.2.2. Etude bactériologique	19
2.3. Identification des bactéries	21
2.3.1. Identification des bacilles à Gram -.....	21
2.3.2. Identification des cocci à Gram+	27
2.4. Antibiogramme	28
2.5. Recherche de la résistance de <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA).....	30
2.6. Recherche de Beta-lactamase à spectre élargi (BLSE)	30
2.7. Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de <i>Lavandula angustifolia</i> et <i>Salvia officinalis</i>	32
2.8. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des huiles essentielles	33

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Résultats	36
1. Répartition des résultats selon les facteurs étudiés	36
2. Résultats de l'analyse microbiologique	38
3. Résultats de l'antibiorésistance	41
4. Etude de l'effet antibactérien de <i>Lavandula angustifolia</i> et <i>Salvia officinalis</i>	46
III.2. Discussion	51
2.1. Evaluation de l'activité Antibactérienne des huiles essentielles testées	57
2.1.1. L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de <i>Lavandula angustifolia</i>	57
2.1.2. L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i>	59
2.2. La CMI des 2 huiles essentielles de <i>Lavandula angustifolia</i> et <i>Salvia officinalis</i> ..	61
Conclusion	64
Recommandations	66
Références bibliographiques	67
Annexes.	

Introduction

Le diabète est une maladie métabolique caractérisée par une hyperglycémie chronique résultant d'un défaut de sécrétion ou de l'action de l'insuline ou des deux associés. Ceci pouvant entraîner à long terme des complications atteignant les vaisseaux et les nerfs, et d'autres troubles métaboliques avec une variété de causes environnementales et héréditaires (**Beaudeau, 2005**). Son traitement demande de nombreuses contraintes quotidiennes qui peuvent entraîner des répercussions lourdes sur la qualité de vie du patient et de sa famille (**King et al., 1998**).

Le diabète est devenu, depuis plusieurs années, un problème majeur de santé publique en Algérie et dans le monde. Cette pathologie est répandue dans le monde où on dénombre 5 à 7% de la population mondiale (**Weaber, 2007 ; Sharma et al., 2008 ; Singh et Kakkar, 2009 ; Zhou et al., 2009**). Selon la fédération internationale du diabète (IDF) et l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) prévoient que d'ici 2030 le nombre de diabétique augmentera de 170% dans les pays en voies de développement, 41% dans les pays développés (**King et al., 1998 ; IDF, 2008**).

L'Algérie connaît depuis les années 1990 une transition épidémiologique avec la baisse des maladies infectieuses et l'émergence de maladies chroniques non transmissibles (MCNT). La prévalence du diabète publiée en 2007 dans l'étude Tahina est de 12,6% de la population adulte de 35 à 70 ans (**INSP, 2007**), ce qui laisse supposer qu'il existe actuellement 4,4 millions de diabétiques (**Lamri et al., 2014**) dont 50% sont méconnus (**Malek et al., 2013 ; IDF, 2014**). Nombreuses sont les complications qui atteignent les patients diabétiques, une des complications les plus sévères du diabète est celle du pied diabétique. Elle peut aboutir, dans les cas les plus graves, à l'amputation. Le risque d'amputation est de 10 à 30 fois plus élevé chez les diabétiques que la population générale (**Singh et al., 2005 ; Chakib, 2011**) et le consensus international du pied diabétique confirme que 40 à 60% des amputations non traumatiques surviennent chez les diabétiques (**IDF, 2013**). 85% des amputations non traumatiques chez les patients diabétiques sont précédées d'une lésion du pied (**Mayfield et al., 1998 ; Ramsey et al., 1999 ; Monabeka, 2001 ; Prompers et al., 2007**).

Les infections du pied diabétique sont souvent polymicrobiennes avec des souches caractérisées par la multi résistance (**Lavigne, 2006**). L'identification de l'agent infectieux responsable est une étape primordiale dans la prise en charge de l'infection du pied diabétique (**Toumi et al., 2011**). La collaboration entre les différentes disciplines médicales, chirurgicales et biologiques permet la cicatrisation des lésions et la restitution d'un pied fonctionnel en évitant l'amputation (**Got, 2001**).

Avec l'apparition des effets secondaires des médicaments synthétiques et l'augmentation de la résistance des micro-organismes pathogènes vis-à-vis des antibiotiques classiques, une bonne partie des recherches scientifiques s'orientent actuellement vers la voie de l'usage des extraits biologiques actifs des plantes aromatiques et médicinales, notamment vers les huiles essentielles (**Essawi et al., 2000**). C'est une voie très prometteuse et très efficace pour lutter contre les germes bactériens et même les virus puisqu'elle ne présente, à long terme, aucune résistance de la part des organismes bactériens (**Lis-Balchin et al., 1997 ; Saxena, 1997**).

Devant la gravité du problème, nous avons entrepris cette étude sur les infections du pied diabétique, réalisée au niveau du laboratoire d'hygiène de la wilaya de Blida dont le but est de mettre en évidence les différents germes responsables de ces infections, d'évaluer leur sensibilités aux antibiotiques, démontrer et comparer l'efficacité antimicrobienne des deux huiles essentielles de *Lavandula angustifolia* et *Salvia officinalis* vis-à-vis les bactéries isolées et identifiées des infections du pied diabétique, cela afin de rationaliser leur usage pour les appliquer comme remède alternatif aux antibiotiques face à l'émergence de multi résistance bactérienne et à l'échec de l'antibiothérapie, qui pourra probablement atténuer la gravité de ces infections et prévenir les amputations.

Nous avons organisé notre travail comme suit :

- ❖ Isolement et identification des bactéries responsables des infections du pied diabétique de différents patients.
- ❖ Etude de profil d'antibiorésistance des bactéries isolées et identifiées du pied diabétique.
- ❖ Evaluation de l'activité antibactérienne des deux huiles essentielles de *Lavandula angustifolia* et *Salvia officinalis* par la méthode de l'aromatogramme, et détermination de leur concentrations minimales inhibitrices (CMI) vis-à-vis les souches isolées et identifiées des infections du pied diabétique.

1. Généralités sur le diabète

1.1. Définition

Le diabète, ou diabète sucré, est un trouble du métabolisme du glucose qui perturbe le stockage et l'utilisation par l'organisme de ce carburant nécessaire à son énergie (**Portha, 2003**). Ce trouble résulte soit d'un défaut, partiel ou complet, du pancréas à synthétiser l'insuline, soit d'une inaptitude des cellules à utiliser l'insuline pour absorber le glucose (**Timsit et al., 2000 ; Chevenne et Porquet, 2003**). Comme il est mal absorbé par les cellules, le glucose s'accumule dans le sang et cause l'hyperglycémie. Les cellules étant privées de leur principale source d'énergie, il s'ensuit forcément des complications physiologiques et métaboliques importantes (**Rodier, 2001**). D'après les recommandations de l'OMS :

❖ Diabète sucré si :

- Glycémie à jeun $\geq 1,26$ g/l (constatée à deux reprises), car seuil d'apparition de la microangiopathie diabétique.
- Ou glycémie aléatoire ≥ 2 g/l et signes cliniques d'hyperglycémie (**Young, 2016**).

En plus de la glycémie à jeun, le diagnostic repose sur le dosage de l'hémoglobine glyquée HbA1C . d'une valeur de 6,5% ou plus (**Nathan et al., 2009**).

1.2. Classification

La classification du diabète se fonde depuis 1997 sur la physiopathologie des différentes formes cliniques et génétiques de la maladie et non pas sur le type du traitement nécessaire pour corriger l'hyperglycémie (**Fajans, 1998**). Elle comporte actuellement quatre types de diabète :

- **Diabète de type I** : ou diabète insulino-dépendant, juvénile, maigre, cétosique. Il survient à tout âge et est plus fréquent chez les jeunes entre 9-14 ans. Il est lié ou non à une destruction auto-immune progressive des cellules β des îlots de Langerhans, par infiltration des lymphocytes et de macrophages (insuline) qui conduit en quelques années à un état d'insulinopénie absolue (**Luton et al., 1999 ; Lubetzki et al., 2000 ; Gaw et al., 2004 ; Grimaldi, 2005**).
- **Le diabète de type II** : est le diabète non insulino-dépendant ou diabète de la maturité, gras, non cétosique. C'est entre 40 à 80 ans qu'il est le plus fréquent. Il résulte de la combinaison de deux anomalies métaboliques : un déficit de l'insulino sécrétion et une diminution de la sensibilité à l'insuline des tissus cibles (foie, muscle, tissus adipeux)

(Luton et al., 1999 ; Lubetzki et al., 2000 ; Guillausseau et Michelin, 2003 ; Gaw et al., 2004).

- **Le diabète gestationnel** : observé au cours du développement d'une grossesse et qui survient le plus souvent chez une femme en excès pondéral disparaît habituellement après la grossesse (Hennes, 2001).
- **Autres diabètes spécifiques** : sont secondaires à une maladie pancréatique, à une endocrinopathie, iatrogènes ou encore liés à des anomalies génétiques (Rodier, 2001)

1.3. Complications du diabète

L'hyperglycémie est associée à terme avec des complications organiques spécifiques touchant particulièrement les yeux, les reins, les nerfs, le cœur et les vaisseaux (Rodier, 2001), les ulcères aux membres inférieurs pouvant mener à la gangrène et à l'amputation, les maladies cardiaques, les accidents cérébrovasculaires, certaines maladies du système digestif (ulcère, diverticulite, etc.), les infections et certaines complications au niveau de l'anatomie buccale (parodontite, gingivite, etc.) (Hennen, 1996).

1.3.1. Macro angiopathie

C'est l'atteinte des gros vaisseaux ou athérosclérose (Pacaud, 1995). Elle est plus fréquente, plus précoce et toujours plus grave chez le diabétique. Les artères les plus touchées sont les coronaires (artères du cœur), les artères des membres inférieurs, ou se développent des artérites très invalidantes et à haut risque d'amputation après des années d'évolution, et les artères cérébrales.

1.3.2. Micro angiopathie

Atteinte des capillaires, en particulier responsable de la fragilisation cutanée (Perlemuter et al., 2003). Elle diminue la capacité des capillaires à maintenir leur flux constant en réponse aux variations de pression, elle augmente la viscosité sanguine et l'adhésivité plaquettaire, elle diminue la déformabilité des hématies, elle diminue la libération d'oxygène dans les tissus.

2. Pied diabétique

Le terme « pied diabétique » désigne les lésions du pied observées chez le patient diabétique. On estime que 15% des patients diabétiques développeront une plaie au pied nécessitant une hospitalisation prolongée. Toute plaie du pied chez un diabétique est une urgence

médicale (**Kaufman et al., 1994**). 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 (**Pothier, 2002**).

2.1 Epidémiologie

Le pied diabétique est un problème majeur dans tous les pays tant sur le plan médical que social et économique (**Richard et Schuldiner, 2008**). Le risque de survenue d'un trouble trophique du pied peut atteindre 25% des patients diabétiques au cours de leur vie (**Singh et al., 2005**). L'incidence d'amputations est 14 fois supérieure chez le diabétique par rapport au non-diabétique (**Ha-Van, 2008**). Une amputation au niveau des membres inférieurs serait réalisée toutes les 20 secondes dans le monde chez un patient diabétique (**Ha Van, 2014**).

L'incidence des amputations augmente avec l'âge et est plus élevée chez les hommes que chez les femmes (**Pothier, 2002**). 80% des diabétiques vivent dans des pays en voie de développement. En 2025, il est prévisible qu'il y aura 380 millions de diabétiques dans le monde, soit 7,1% de la population adulte.

En dernier lieu, il faut souligner que la présence d'un trouble trophique est associée avec une diminution de l'espérance de vie des diabétiques (**Chauchard, 2001**). Le risque de décès est multiplié par 2,4 par rapport à un patient diabétique sans lésions ulcérées (**Richard, 2002**).

2.2. Physiopathologie

Le pied du patient diabétique devient pathologique s'il est à risque de présenter une plaie chronique persistant au-delà de 4 semaines. Tous les diabétiques ne sont pas concernés par ce risque (**Hartmann, 2014**). Des lésions graves du pied chez les diabétiques sont constatées en pratique médicale quotidienne; ces atteintes sont liées à deux groupes de causes :

- En rapport avec le diabète lui-même ; l'atteinte vasculaire, l'atteinte nerveuse et l'infection.
- En rapport avec l'environnement ; le mode de vie, l'hygiène et surtout l'hygiène locale traduite par les soins apportés aux pieds, le choix de chaussures, les chaussettes, etc (**Perlemuter et al., 2003**).

2.2.1. Facteurs intrinsèques

2.2.1.1. La neuropathie diabétique

La neuropathie est donnée à toute modification du système nerveux périphérique, et on définit la neuropathie diabétique par la présence de symptômes ou signes d'une dysfonction des nerfs périphériques chez le patient diabétique, après éviction des autres causes possibles. Comme pour la rétinopathie et la glomérulopathie. C'est d'ailleurs la raison pour laquelle on parle de triopathie diabétique pour définir l'atteinte (œil-pied-rein). Les facteurs favorisant cette neuropathie sont (**Grimaldi, 2005**):

- L'âge, la majorité des neuropathies diabétiques survenant après l'âge de 50 ans ;
- Le sexe masculin ;
- Un alcoolisme ;
- Des facteurs nutritionnels (carences vitaminiques, dénutrition) ;
- Une hypoxie chronique (insuffisance respiratoire chronique) ;
- Une ischémie par artérite des membres inférieurs ;
- Des variations rapides de l'équilibre glycémique.

✓ **Neuropathie sensitive**

Elle est responsable de la plupart des plaies du pied, elle a une distribution (en chaussette) avec une symptomatologie débutante par des paresthésies (aiguilles, sensation de brûlures) ou de dysesthésies, avec perte progressive et complète de toute sensation (**Grunfeld, 1991**).

✓ **la neuropathie autonome**

La diminution de la transpiration normale, la perte de régulation de la température cutanée et l'autosympathectomie sont des manifestations de la neuropathie autonome; l'anhidrose qui en résulte se manifeste par une sécheresse cutanée rendant la peau plus vulnérable à l'invasion bactérienne (**Pothier, 2002**). Elle participe à la constitution de l'hyperkératose au point d'appui (principalement au niveau des têtes métatarsiennes) et de fissuration (particulièrement au niveau du talon) (**Malgrange, 2008**).

✓ **Neuropathie motrice**

L'atteinte motrice est responsable d'une amyotrophie des muscles interosseux et d'un déséquilibre entre les muscles fléchisseurs et extenseurs associés à une perte de mobilité articulaire

(Hartemann, 2014). Les deux complications à long terme de la neuropathie sont le mal perforant plantaire (MPP) et l'ostéoarthropathie nerveuse ou pied de Charcot (Ha van, 2008).

- **Mal perforant plantaire**

C'est l'ulcération d'origine neuropathique typique. Il s'agit d'une lésion atone, indolore, sans dépôt fibrineux, ni nécrose et entourée d'un pourtour hyperkératosique (fig.1). Cette lésion se développe sous les zones hyperkératosiques (Ferreira-Maldent et al., 2005).



Figure 1 : Mal perforant plantaire. (Denis, 2002)

- Une complication de la neuropathie est la neuroarthropathie, qui se manifeste par des microfractures passant inaperçues et qui, non traitées peuvent conduire à un effondrement de la voûte plantaire avec une dislocation des os du tarse, dénommé (le pied cubique de Charcot) (Young, 2016).

2.2.1.2-Artériopathie des membres inférieurs

L'artériopathie oblitérante des membres inférieurs (AOMI) est une complication chronique majeure du diabète qui expose le patient à deux risques: l'amputation du membre, les accidents coronaires et cérébro-vasculaire (Codjo et al., 2016). L'atteinte vasculaire est le plus souvent diffuse mais prédomine au niveau des artères distales. Une composante infectieuse vient souvent compliquer les nécroses liées à l'occlusion des artères des membres inférieurs. Tous ces éléments expliquent pourquoi ces lésions conduisent souvent à des amputations chirurgicales plus ou moins étendues (Herisson et Simmon, 1993).

- **Pied ischémique**

Il se caractérise par des pouls distaux abolis ou faibles, une peau fine, fragile, glabre, une hyperonychie avec des ongles épais susceptibles de blesser le lit de l'ongle sous-jacent, une froideur relative du pied, parfois une amyotrophie, souvent une asymétrie lésionnelle.

2.2.1.3-Infection, élément de gravité

L'infection est la troisième composante de ce trépied physiopathologique. Elle est exceptionnellement à l'origine directe d'une plaie (**Malgrange, 2008**). L'infection du pied diabétique est définie par une invasion avec multiplication de micro-organismes, dans la majorité des cas, des bactéries, entraînant des dégâts tissulaires avec ou sans réponse inflammatoire. (**Toumi et al., 2011**). La fréquence des infections chez le diabétique est en rapport avec un déficit des mécanismes cellulaires de défense majoré par l'hyperglycémie, capable d'altérer les fonctions des leucocytes (phagocytose, adhérence, bactéricidie, chimiotactisme). En outre, l'hyperglycémie favorise les phénomènes d'apoptose et est à l'origine de perturbations hémorhéologiques responsables de troubles de la vascularisation distale (**Lavigne et al., 2016**). Les infections du pied diabétique peuvent être superficielles et profondes:

a) Infections superficielles (au-dessus de l'aponévrose)

Avec un tableau de dermo-hypodermite bactérienne aigue (DHB), nécrosante ou non nécrosante (**SFM, 2015**).

- **La dermohypodermite bactérienne (DHB) (cellulite)** : Résulte d'une atteinte de l'hypoderme située entre le derme et l'aponévrose superficielle. Les signes locaux sont dominés par une rougeur péri lésionnelle, s'étendant en un placard inflammatoire extensif. La fièvre, la lymphangite et les adénopathies peuvent manquer chez le diabétique (**Havan, 2008**)
- **La dermohypodermite bactérienne nécrosante (DHBN)** : Qui associe une nécrose de l'hypoderme puis du derme mais sans atteinte de l'aponévrose superficielle (**Mokni et al., 2014**).
- **La fasciite nécrosante (DHBN-FN)** : La fasciite nécrosante qui comporte en plus une nécrose intéressant ou dépassant l'aponévrose superficielle avec des atteintes plus ou moins profondes des fascias (La symptomatologie débute par la fièvre, une douleur anormalement importante par rapport à l'examen physique de la peau, puis progressivement un érythème et un gonflement des tissus cutanés apparaissent. Ensuite, la décoloration de la peau et l'apparition des bulles signent la progression vers la nécrose. Des germes aérobies, anaérobies, Gram positif et Gram négatif et même fongiques ont été incriminés au cours des fasciite nécrosantes.

b) Infections profondes

- **La gangrène humide** : La gangrène humide se définit par la présence de tissus nécrotiques noirâtres avec risque d'évolution vers l'aggravation : décollement, pus grisâtre, odeur nauséabonde, dégradation de l'état général avec sepsis, insuffisance rénale et déséquilibre métabolique.
- **L'ostéite et l'ostéo–arthrite** : L'infection osseuse est présente dans 60% des cas d'infections du pied diabétique .L'ostéite du pied diabétique est une infection le plus souvent chronique : elle aboutit à une destruction osseuse avec formation de séquestres avasculaires, avec une modification du métabolisme bactérien et peut-être une immunodéficience locale (**Ha van, 2008**).
- **Abcès** : Suppuration définie par une collection de pus entourée par une coque fibreuse.
- **Phlegmon** : Est une infection sans collection, à l'inverse de l'abcès qui est collecté.

2.2.2. Facteurs extrinsèques

L'origine des plaies ulcérées du pied diabétique est très souvent un traumatisme mineur, non ressenti par le patient (**Magalon et Vanwijch, 2003**). Les lésions sont souvent causées par :

- Les chaussures elles-mêmes, lorsqu'elles sont inadaptées (trop serrées) ou avec des coutures apparentes ou blessantes (21%).
- Altération de la statique du pied (17%).
- Hygiène défectueuse, mycose, ongles hypertrophiés, incarnés (14%).
- Supports plantaires inadaptés et /ou usés (12%).
- Gestes inadaptés de la pédicure (coupe d'ongle traumatique) (11%).
- Chirurgie de salle de bains (11%).
- Bains de pieds prolongés (5%).
- Chaleur excessive et Coricides chimiques (3%).
- Chute d'objets sur le pied, marche pieds nus (3%).

3. Infections nosocomiales

Toute infection qui n'était ni présente ni en incubation à l'admission du malade à l'hôpital. Un délai de 48h est admis pour le diagnostic de l'infection nosocomiale. Ce délai peut être prolongé de 1mois pour les plaies opératoires et jusqu'à un an pour les infections sur prothèses (**Ramdani Bouguessa et al., 2009**).

Les patients atteints de maladies chroniques telles que tumeurs malignes, leucémie, diabète, insuffisance rénale ou syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA), sont plus vulnérables aux

infections opportunistes. Celles-ci sont dues à des agents normalement inoffensifs, comme ceux qui font partie de la flore bactérienne humaine normale, mais qui peuvent devenir pathogènes lorsque les défenses immunitaires sont affaiblies (**Ducel et al., 2002**). Les infections nosocomiales sont le résultat de deux types de facteurs :

- Liés au malade : diminution des réserves, immunosuppression, malnutrition et pathologie sous-jacente (ex.: insuffisance respiratoire chronique).
- liés au traitement et à l'environnement : surtout liés au caractère invasif des interventions (intubation endotracheale, cathéters, drains, etc.), à la contamination éventuelle de l'équipement utilisé et la transmission de pathogènes par les mains du personnel soignant (**Vincent, 2009**).

Les infections nosocomiales peuvent être causées par tous les types d'agents infectieux, mais elles sont fréquemment de nature bactérienne, dont les principaux microorganismes responsables sont : La participation des bactéries à Gram positif (*Staphylococcus* , *Enterococcus* ,etc.) se réduit alors que l'implication des bacilles à Gram négatif reste prépondérante. *Clostridium difficile* est un acteur récent d'infections nosocomiales (**Vaubourdolle, 2013**).

3.1. Principaux germes responsable de l'infection du pied diabétique

➤ Bactéries aérobies à Gram positif

Sont les plus fréquentes, dans ce groupe, *Staphylococcus aureus* est la bactérie la plus souvent mise en évidence, de façon isolée ou au sein d'une population polymicrobienne lors d'infections qu'elles soient superficielles ou profondes (**Game et al., 2004**). Les Streptococcus β -hémolytiques sont également fréquentes, le plus souvent dans le cadre d'infections polymicrobienne et les infections qu'elles déterminent doivent être traitées. Cette prédominance des bactéries à Gram positif n'est cependant pas universelle (**Shankar et al., 2005**).

➤ Bacilles à Gram négatif

Essentiellement de la famille d'Enterobacteriaceae (*Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella sp*), rencontrées généralement en cas d'infections chroniques ou déjà traitées, *Pseudomonas aeruginosa* est isolée après des hospitalisations de longue durée, l'application de pansements humides, des bains de pieds ou le port de bottes en caoutchouc (**Lipsky et Pecoraro, 1990**).

➤ Bactéries anaérobies strictes

Le plus souvent cocci à Gram positif mais aussi bacilles à Gram négatif (*Prevotella sp*, *Bacteroides sp*) sont souvent associées à des germes aérobies et sont présentes dans des plaies peu profondes et les atteintes profondes (Gerding, 1995). La nature et la durée de la plaie au niveau du pied diabétique infecté influe sur la spécificité des germes impliqués, d'où une corrélation clinico-biologique est démontrée (Tableau-Annexe) (Lipsky et al., 2008). (Tableau 7, Annexe I)

4. Antibiotique et antibioresistance

4.1 Antibiotique

4.1.1. Définition

Les antibiotiques (ATB) sont des composés chimiques, élaborés par un microorganisme ou produits par synthèse et dont l'activité spécifique se manifeste à faible dose sur les microorganismes (Madigan et Martinko, 2007). Ils détruisent ou empêchent la croissance d'un ou d'autre microorganisme (Crouzilles, 2012). Un antibiotique est bactériostatique lorsqu'il inhibe la multiplication des bactéries sans les tuer, et est bactéricides lorsque son action va jusqu'à la destruction de la cellule bactérienne. Dans certains cas, un antibiotique peut être bactériostatique à une certaine concentration et bactéricide à une concentration supérieure (Danan et Aurore, 2006 ; Rémy, 2010).

4.1.2. Classification

Les ATB peuvent être classés selon plusieurs critères : l'origine, la nature chimique, le mode d'action ou le spectre d'action (Bryskier, 1999).

4.2. Antibioresistance

4.2.1. Définition

La résistance aux antibiotiques apparaît comme un événement normal de l'évolution des micro-organismes. La propagation des organismes pathogènes résistants aux antibiotiques est une des menaces les plus sérieuses pour un traitement efficace d'une maladie (Bocq-Callberg et Dusar, 2007). L'antibiorésistance se définit alors par l'inefficacité de la dose d'antibiotique au niveau du site infectieux (Michelbriand, 2012).

4.2.2. Bactéries multi-résistantes aux antibiotiques (BMR)

Les bactéries sont dites multi-résistantes aux antibiotiques (BMR) lorsque, du fait de l'accumulation des résistances acquises à plusieurs familles d'antibiotiques, elles ne sont plus

sensibles qu'un petit nombre d'antibiotiques utilisables en thérapeutique (**Jarlier, 2000 ; Traoré et Souweine, 2002**).

4.2.3. Nature de l'antibiorésistance

Les antibiotiques peuvent être naturellement inefficaces contre certaines bactéries (résistance naturelle) ou devenir inefficace contre des bactéries au préalable sensibles à l'antibiotique (résistance acquise) (**Baudry et Brézelle, 2006**).

➤ Résistance naturelle

Certains antibiotiques sont naturellement inefficaces contre certaines bactéries. Cette résistance naturelle définit le spectre d'action de l'antibiotique. Elle est connue et se manifeste chez tous les individus de la population bactérienne (**Pebert, 2003**). L'information responsable de cette résistance fait partie du patrimoine génétique de la bactérie (**Baudry et Brézelle, 2006**).

➤ Résistance acquise

La résistance acquise apparait à la suite d'un mécanisme chromosomique ou extra chromosomique chez les bactéries (**Baudry et Brézelle, 2006**). A côté de la résistance naturelle, il existe aussi des résistances acquises, c'est l'acquisition de nouveaux gènes capables de rendre la bactérie insensible à un antibiotique ou à un groupe d'antibiotiques, ces nouveaux gènes peuvent être obtenus soit par mutation au niveau du chromosome, soit par transfert d'ADN des plasmides conjugatifs ou de transposons (**Yala et al., 2001 ; Summers, 2006 ; Wright, 2007**).

4.2.4. Mécanisme de la résistance bactérienne aux antibiotiques

Les mécanismes de résistance bactérienne aux ATB peuvent être classés en quatre groupes (figure2).

1) Altération (ou modification) de site de liaison : Phénomène engendré par des chromosomes ou des plasmides, ce mécanisme de résistance produit une baisse de l'affinité de l'antibiotique pour son site d'action (**Carle, 2009**).

2) Inactivation enzymatique des antibiotiques : Par ce mécanisme, la bactérie acquiert la capacité d'inactiver l'action des antibiotiques par la sécrétion d'enzyme avant même qu'ils n'aient pénétré au sein du micro-organisme. Les classes d'antibiotiques visées par ces enzymes sont les β -lactamine, les aminosides et les phénicoles (**Bevilacqua, 2011**).

3) Diminution de la perméabilité : Les porines sont des protéines formant des pores dans la membrane externe des bactéries à Gram négatif et permettant le passage de certaines molécules hydrophiles. Des mutations peuvent entraîner une perte de certaines porines et de ce fait entraver la pénétration de certains antibiotiques. Ces mutations peuvent entraîner la résistance à plusieurs familles d'antibiotiques simultanément (Nauciel, 2000).

4) Excrétion de l'antibiotique par l'efflux : Ils existent chez les bactéries des systèmes permettant d'excréter certains antibiotiques. Ces systèmes jouent un rôle dans la résistance naturelle, sous l'effet de mutation leur niveau d'expression peut augmenter et faire apparaître une résistance acquise pouvant toucher simultanément plusieurs familles d'ATB. Le phénomène a été décrit surtout chez les bactéries à Gram négatif (Nauciel, 2000).

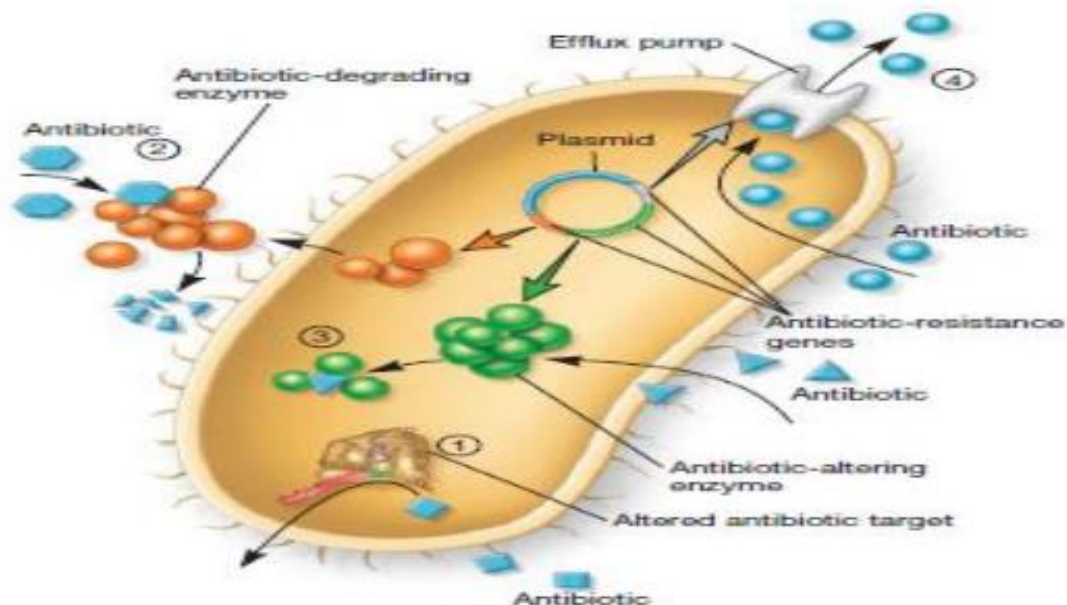


Figure 2 : Mécanisme de la résistance bactérienne (Willey et al., 2008). (1) Altération (ou modification) de site de liaison, (2) Inactivation enzymatique des antibiotiques, (3) Diminution de la perméabilité, (4) Excrétion de l'antibiotique par l'efflux.

5. Généralités sur La lavande (*Lavandula angustifolia*)

La lavande appartient à la famille des Lamiacées (figure 3). Ces arbustes sont célèbres pour leurs fleurs très parfumées et pour leur feuillage aromatique et persistant. Il existe 39 espèces de lavande, toutes originaires des régions sèches, ensoleillées et rocailleuses du monde (Saadatian et al., 2013). La lavande est l'une des plantes médicinales la plus utilisée dans les régions

méditerranéennes et en Algérie. Depuis des millénaires et sur les continents, la lavande a connu une utilisation historique et variée (Maud, 2013).



Figure 3 : Aspect général de l'espèce de *Lavandula angustifolia*.

5.1. Etymologie

La Lavande officinale ou Lavande vraie, est une plante à feuilles étroites. Son nom scientifique est *Lavandula angustifolia* L. ou *L. officinalis* (Jan et Jiri, 1997 ;Bellakhdar, 1997). Lavande vient du latin « lavare » qui signifie « laver » car les Romains parfumaient leurs bains avec cette plante (Wilson et Girard, 2007). Elle est connue en arabe sous le nom de « khuzâma ».

5.2. Répartition géographique de l'espèce

Elle pousse à l'état indigène dans certaines îles de l'Atlantique et depuis le bassin méditerranéen jusqu'au nord de l'Afrique tropicale, au Moyen Orient, à l'Arabie et à l'Inde (Small et Deutsch, 2001).

5.3. Taxonomie

Selon Dupont et Guignard (2007), la lavande suivant la classification classique des plantes à fleurs, elle est classée comme suit :

Règne : Plantae

Embranchement :Spermaphytes

Division:Magnoliophyta (Angiospermes)

Classe:Magnoliopsida (Dicotylédones)

Sous- classe:Asteridées

Ordre : Lamiales

Famille: Lamiacées

Genre : *Lavandula*

Espèce : *Lavandula angustifolia*

5.4. Usage et importance de Lavande

L'huile essentielle de lavande est utilisée dans l'industrie de la lessive et de la savonnerie, ainsi qu'en parfumerie. La lavande est également employée en herboristerie, en aromathérapie et est considérée comme une plante médicinale pour l'action de son huile. En effet, celle-ci est utilisée pour soigner des plaies et brûlures superficielles et présente des effets sédatifs, antibactériens, antifongiques, antidépressifs (Cavanagh et Wilkinson, 2002) et anti-inflammatoire (Sosa, Altinier et al., 2005). La lavande possède aussi des propriétés anticarcinogènes, anti oxydantes, et utilisée comme insecticide (Chu et Kemper, 2001 ; Goren et al., 2002).

6. Généralités sur la sauge (*Salvia officinalis*)

La sauge (*Salvia officinalis*) est une plante médicinale aux multiples vertus (Silberfeld, 2013). Elle est utilisée depuis l'antiquité à des fins médicinales (Sallé, 1991). Originaires du bassin méditerranéen (Stumpf, 2013) et assez commune en Algérie (Baba-aïssa, 2011). Le genre *Salvia* est considéré comme étant le genre le plus large et le plus important de la famille des lamiacées (figure 4) (Lamiaceae ou Labiatae) (Walter et al., 2002 ; Bagci et al., 2008). Il rassemble, à lui seul, plus de 900 espèces identifiées autour du monde (Bektas et al., 2005 ; Kivrak et al., 2009).



Figure 4 : Aspect général de l'espèce de *Salvia officinalis*.

6.1. Taxonomie

Selon l'APG (2009), la sauge est sous le classement suivant :

Règne : Plantae

Embranchement : Spermaphyte

Sous embranchement : Angiosperme

Classe : Magnoliopsida

Sous classe : Asterdae

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Salvia*

Espèce : *Salvia officinalis* L.

6.2. Etymologie

Le nom vernaculaire « sauge » est attribué aux différentes espèces aromatiques du genre *Salvia* (Karousou et al., 2000). Le nom scientifique de la sauge indique clairement l'importance de son rôle en phytothérapie : *Salvia* vient de « salvare » qui, en latin, signifie « sauver » (Ulubelen, 2000 ; Baricevic et al., 2000 ; Nicolette et al., 2000 ; Stanley et al., 2000 ; Baran, 2010). Ce nom est corrompu populairement en « Sauja » et « Sauge » en Français et « Sawge » en ancien anglais, devenu actuellement « Sage », en référence à ces propriétés médicinales, connues depuis les anciennes civilisations (Anthony, 2000). Les Andalous la nomment essalma d'après Ibn-el-baytar qui ajoute qu'elle est appelée salbia par les botanistes d'Espagne (Baba-aissa, 2011)

Nom arabe : souaken'bi, Nàama, Houbiqat essedr, Salmiya (Moussaoui, 2011).

Nom français : herbe sacrée (Leclerc, 1994), Grande sauge (Baba aissa, 2011).

6.3. Répartition géographique

Les espèces *Salvia* représentent un groupe d'espèces cosmopolites, qui montrent une gamme remarquable de variation (Pistelli, 2006). Ce genre est distribué dans trois régions principales dans le monde: 530 espèces à l'Amérique centrale et latine, 250 espèces en Asie centrale et en régions méditerranéennes, 30 en Afrique du Sud et 90 espèces en Asie de l'Est (figure 5) (Walker et al., 2004).

6.4. Usage de la sauge

La majorité des espèces du genre *Salvia* sont utilisées à des fins diverses : aliments, médicaments, parfums et produits cosmétiques (Karaman et al., 2007 ;Bagci et al., 2008). Dès l'antiquité, quelques membres de ce genre ont servi à parfumer et à odorer les corps et les temples (Arslan et al., 2008).

6.5. Importance de l'huile essentielle de la sauge

Les sauges ont été employées comme des plantes à propriétés médicinales salutaires pendant des milléniums. La sauge était un composant fréquent des mélanges de tisanes, recommandés pour les patients tuberculeux. L'huile essentielle de la sauge est encore utilisée en condiments d'assaisonnement, viandes traitées et liqueurs. Outre ces utilisations, les feuilles de la sauge (*Salvia officinalis*), montrent une gamme des activités biologiques; antibactérienne, antifongique, antivirale et astringente (Baricevic et Bartol, 2000).

Cette étude a été réalisée sur des souches issues de 65 prélèvements de pus de plaies infectées des pieds de patients diabétiques hospitalisés et non hospitalisés, provenant des hôpitaux (EPH de Blida; service diabétologie), (EPH Kolea ; chirurgie générale), (EPH Boufarik; médecine interne). En plus de l'unité de soins de Boufarik (USB) et de la maison de diabétique-Ruisseau - Alger, durant une période de 6 mois (Janvier-Juin 2017).

Cette collection inclue les souches pour lesquelles les données des patients étaient disponibles. Les critères d'inclusion sont: âge, sexe, type de diabète et l'hospitalisation (interne ou externe), ainsi de quelques signes cliniques locaux d'infection (amputation de l'orteil, ischémie locale, brûlures, etc.).

1. Matériel

1.1. Matériel biologique

- Le pus de 65 patients diabétiques.
- L'huile essentielle de la lavande (*Lavandula angustifolia*). Cette huile est issue de la société « Extral-bio d'Alger » spécialisée dans la production des huiles essentielles. Cette plante a été récupérée de la France, dont l'huile essentielle a été extraite par la technique d'entraînement à la vapeur à partir de la plante entière.
- L'huile essentielle de la sauge (*Salvia officinalis*) : dans la région de Birtouta (Alger), dont l'huile essentielle a été extraite par la technique d'entraînement à la vapeur à partir de la plante entière.
- Les souches de références. (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923)

1.2. Matériel non biologique

Le matériel non biologique est représenté par :

- Les milieux de culture
- Les verreries
- Les appareillages
- Les réactifs
- Les disques d'antibiotiques (annexe II).

2. Méthodes

2.1. Méthode de prélèvement du pus

La méthode de prélèvement utilisée est la méthode d'écouvillonnage (**Lipsky et al., 2004**).

Echantillonnage

La plaie doit être nettoyée avec une gaze imbibée de sérum physiologique stérile. La méthode la plus utilisée consiste à passer un écouvillon stérile sur une surface de 1 cm² de la plaie, faisant un mouvement superficiel en Z sur la plaie. Deux écouvillons sont effectués, l'un pour l'examen direct (cytologie) et l'autre pour la culture (microbiologie).

Conservation et transport

Les prélèvements de pus sont arrivés rapidement au laboratoire (<2 heures à température ambiante). Les prélèvements sont conservés dans une glacière à 4°C, en cas de transport long (Denis et al., 2007).

Fiche de renseignements

Elle est primordiale, tout prélèvement effectué est accompagné d'une fiche de renseignements clinique comportant : le nom et prénom, l'âge, le sexe, la date et la nature de prélèvement, si le malade est hospitalisé, le service d'origine, le type du diabète, le type de l'infection et l'antibiothérapie.

2.2. Examen cytobactériologique de pus

Tout prélèvement est passé par une étude cytologique pour la détection des hématies et de leucocytes dans le pus et une étude bactériologique pour isoler, purifier et identifier les germes.

2.2.1 Étude cytologique

Elle permet d'apprécier la réaction inflammatoire et de la chiffrer par millilitre de prélèvement, elle permet de préciser le caractère des cellules inflammatoires (lymphocytes ou polynucléaires, altères ou non altères).

2.2.2 Etude bactériologique

Le but de cette étude est de rechercher et d'isoler les bactéries présentes dans le pus. Une observation macroscopique et microscopique de pus a précédé l'identification bactérienne.

a) Examen macroscopique

L'examen macroscopique nous renseigne sur ; la couleur, la consistance, l'odeur, le caractère sanglant du pus.

b) Examen microscopique

L'examen microscopique en bactériologie peut être effectué sans coloration de l'échantillon par observation directe entre lame et lamelle (technique de l'état frais) ou bien après coloration de l'échantillon. Cet examen renseigne sur la présence de bactéries confirmant l'origine bactérienne d'une infection (morphologie, propriétés tinctoriales particulières après coloration de Gram), il nous oriente sur une famille de bactéries ou un genre bactérien, la quantité de bactéries présentes dans le prélèvement) (Denis et al., 2007)

b.1) Etat frais

C'est l'examen d'une goutte de prélèvement entre lame et lamelle sans fixation par la chaleur ou l'alcool. Il permet de voir les bactéries à l'état vivant, leur morphologie, notamment leur mobilité.

Technique

Sur une lame propre on étale une goutte de pus prélevé à l'aide d'un écouvillon, on recouvre avec une lamelle puis on observe sous microscope photonique à l'objectif 40X.

b.2 Etat fixé (Coloration simple au bleu de méthylène)

Coloration simple ou non différentielle, elle permet de visualiser la réaction cellulaire (leucocytes, cellules épithéliales, etc.) ainsi que la morphologie (cocci ou bacilles) et l'agencement des bactéries (chainettes, grappes, etc.).

- La coloration au bleu de méthylène est réalisée en faisant couler une solution de bleu de sur un frottis correctement fixé, le temps de contact est d'une minute.
- La lame est ensuite rincée à l'eau du robinet, séchée entre deux feuilles de papier buvard puis observée à l'immersion. Les structures colorables apparaissent bleues.

C. Recherche et isolement de bactéries

C.1) Technique d'ensemencement

Le prélèvement de pus est ensemencé sur différents milieux de culture (Chapman, Hektoen, gélose au sang frais (GSF), en utilisant la méthode de quadrant.

C.2) Enrichissement des prélèvements

Un milieu d'enrichissement est habituellement un milieu liquide qui contient certaines substances favorisant la croissance de certaines souches. Les prélèvements sont transportés dans

un milieu d'enrichissement qui est le bouillon gélosés tamponné (BGT) et pour les réensemencer après une incubation de 18 à 24h si la culture d'origine est faible.

d) Identification des bactéries

Les cultures positives ont fait l'objet d'une identification microbiologique en utilisant les tests biochimique classiques et la galerie API 20^E qui est précédée par l'étape de la coloration de Gram.

d.1) Coloration de Gram (coloration différentielle)

Elle est basée sur la composition chimique de la paroi bactérienne. Cette coloration permet de différencier les bactéries à Gram + de bactéries à Gram-. Elle est réalisée comme suit :

Avant de procéder la coloration de Gram, il faut d'abord préparer un frottis bactérien (**Delarras, 2007**) :

- Préparation du frottis : Prendre une lame propre, à l'aide d'une pipette pasteur stérile, prélever une colonie bien isolée à partir de la culture bactérienne de 24 heures et étaler en couche mince. Déposer une goutte d'eau physiologique stérile. Sécher rapidement en passant la préparation au-dessus de la flamme, d'un bec Bunsen.
- Coloration : recouvrir le frottis de violet cristal oxalaté (violet de Gentiane) et laisser agir pendant 1 minute.
- Verser du lugol et le laisser agir pendant 1 minute.
- Décolorer à l'alcool, entre 15 et 30 secondes puis rincer à l'eau distillée.
- Recolorer avec de la fuchsine pendant 10 à 30 secondes ; rincer à l'eau distillée. Sécher entre deux feuilles de papier filtre.
- Sécher au-dessus de la flamme d'un bec Bunsen.
- Observer au microscope à l'objectif 100X à immersion.

Avec cette coloration double, les bactéries dites Gram positif apparaissent en violet foncé tandis que les bactéries à Gram négatif sont colorées en rose ou en rouge.

2.3. Identification des bactéries

L'identification des bactéries isolées a été faite par les tests classiques et la galerie API 20^E.

2.3.1. Identification des bacilles à Gram négatif

a) Etude de type respiratoire

- **Test d'oxydase**

Principe : l'oxydase ou cytochrome oxydase est une enzyme présente dans certaines chaînes respiratoires cytochromiques bactériennes. La recherche de cette enzyme est utile dans le diagnostic des bacilles à Gram négatif (**Delarras, 2007**)

Technique

- Déposer sur une lame porte-objet propre, un petit fragment de papier Whatman numéro 1 et l'imprégner d'une solution aqueuse à 1% de chlorhydrate de tétraméthyl paraphénylènediamine.
- Prélever une partie de la colonie à étudier à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée stérile et l'étaler en strie sur le papier imbibé de réactif (**Larpen, 1970**)

Lecture : Une coloration violet-brun survenant immédiatement prouve l'existence d'une oxydase dans le système enzymatique du germe. Ne pas tenir compte des réactions tardives. (Tableau 8, Annexe I)

b) Tests biochimiques (Galerie classique)

Un certain nombre d'épreuves métaboliques, principalement le métabolisme glucidique, le métabolisme protéique, métabolisme respiratoire, le bactériologiste s'oriente sur une famille ou un genre bactérien.

Préparation de la suspension bactérienne utilisée dans tous les tests

A partir de culture jeune de 18 ou 24h pour les bactéries, et à l'aide d'une pipette pasteur nous avons prélevé quelques colonies (3 à 5 colonies) bien isolées et parfaitement identiques et ont été mises dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9% de sel (NaCl) (**OMS, 2005**). La suspension bactérienne est bien homogénéisée et laisser sur la paillasse pendant 30 minute

b.1) Etude du métabolisme glucidique

➤ **Test de fermentation des trois sucres (TSI)**

Principe : La gélose TSI ou Triple-Sugar-Iron Bio-Rad est un milieu de culture, principalement utilisé pour la caractérisation biochimique des Entérobactéries (**Delarras, 2007**). Il permet de mettre en évidence en 24h l'attaque du glucose, du lactose et /ou saccharose ainsi que la production d'hydrogène sulfuré et de gaz

Technique

- Ce milieu est ensemencé avec la souche à étudier en effectuant des stries à la surface de la pente de la gélose puis le culot est ensemencé par piqure centrale

Lecture

- Si les bactéries acidifient le glucose en anaérobiose relative (culot), le culot vire au jaune.
- Si le germe n'utilise pas le lactose, la pente devient rouge.
- Si les bactéries utilisent le lactose en aérobiose relative (pente), il y a virage de pente au jaune.
- Le milieu peut être coloré en noir par production d' H_2S . La présence de gaz est détectée par la mise en évidence de bulles ou le soulèvement de la gélose.

➤ Milieu mannitol- mobilité

Ce milieu est utilisé lors de l'identification des entérobactéries (Delarras, 2007). Il permet de rechercher simultanément la mobilité, l'utilisation du mannitol et la réduction des nitrates en nitrites par ces germes.

Technique : ensemencer à l'anse de platine les tubes par piqure centrale dans la gélose en culot, jusque au fond du tube avec la souche à tester. Incuber à $37\pm 1^\circ C$ pendant 18 à 24 heures.

Lecture

- Le test mannitol : ce polyalcool peut être fermenté ; la libération des produits acides fait virer l'indicateur de pH du rouge au jaune.
- Le test mobilité : un ensemencement par une piqure verticale et centrale unique permet de réaliser ce test.

➤ Milieu de citrate de sodium

Certaines bactéries, dont les entérobactéries, sont capables d'assimiler le citrate de sodium comme seule source de carbone et d'énergie du milieu (Delarras, 2007). La recherche de cette propriété se fait avec le milieu de Simmons au citrate de sodium

Technique

- Ensemencer la pente de ce milieu gélose en stries longitudinales et parallèles à l'aide d'une pipette, à partir d'une colonie isolée prélevée sur une gélose nutritive.

Lecture

- Les bactéries produisent une alcalinisation qui fait virer le bleu de bromothymol (indicateur de pH) du vert au bleu en milieu basique ; elles sont alors « citrate positif » et lorsque le citrate n'est pas utilisé, la coloration du milieu ne change pas.

➤ Test Voges-Proskauer (VP) et Rouge de Méthyle RM

Milieu MR-VP (bouillon pour épreuve au rouge de méthyle et test de Voges-Proskauer) est un milieu connu sous son appellation d'origine : Clark et Lubs (**Delarras, 2007 ; Delarras, 2014**), il permet de différencier les fermentations acides mixtes et la fermentation butanediolique chez les Entérobactéries.

Technique

- Deux tubes sont ensemencés et incubés à 37°C pendant 24 à 48h et jusqu'à 4 jours

Lecture : après incubation

- Test RM : ajouter dans le tube 1 quelques gouttes d'une solution de rouge de méthyle, les acides font virer le rouge de méthyle au rouge en milieu acide ; le test RM est positif, dans le cas contraire, il vire au jaune ; le test RM est négatif.
- Test de VP : ajouter quelques gouttes du réactif VPI, puis quelques gouttes du réactif VPII au deuxième tube de Clark et Lubs, puis incliner pendant 5 minutes sur paillasse. Le test VP est positif, apparition d'un anneau rouge. VP(-) : pas de changement.

b.2) Etude de métabolisme protéique

➤ Recherche de décarboxylases

La recherche des décarboxylases de l'ornithine, de la lysine et de l'arginine constituent trois tests biochimiques utiles dans le diagnostic différentiel des bacilles à métabolisme fermentatif

(Enterobacteriaceae) et des bacilles à métabolisme oxydatif (*Pseudomonadaceae*) (Delarras, 2007). Il s'agit des tests ODC, ADH, LDC.

Technique

- Prendre 3 tubes de bouillon (coloration violette avant ensemencement); ODC, ADH, LDC (Delarras, 2014). Préparer une suspension puis ensemercer chacun des trois tubes de bouillon avec 2 gouttes de cette suspension, incubé tous les tubes à 37°C pendant 4 jours au maximum en observant chaque jour.

Lecture

- Ces bacilles fermentent tout d'abord le glucose (en petite quantité) ; les acides produits font virer l'indicateur de pH, le pourpre de bromocresol du violet au jaune. Elles vont métaboliser les acides aminés en formant des amines qui font virer l'indicateur du pH au violet (milieu alcalin) ; les tests sont alors positifs (ADH+, ODC+, LDC+).

➤ Dégradation du tryptophane par test indole

Le tryptophane est décomposé en présence d'une tryptophanase en indole et autres produits. Après incubation l'ajout de réactif de Kovacs permet de mettre en évidence l'indole formé. La couche alcoolique se sépare de la couche aqueuse et se colore en rouge : le test est indole + ; si non elle est de couleur jaune (couleur de réactif) : le test est indole-

➤ Milieu urée-indole

Ce milieu permet en 24h de réaliser trois tests biochimiques qui interviennent dans la différenciation et l'identification des Entérobactéries : le test uréase, le test TDA, et le test indole.

Technique

- Réaliser une suspension du germe à tester dans 1ml d'eau déminéralisée stérile puis ensemercer dans deux tubes à hémolyse de milieu urée indole une goutte de cette suspension (Delarras, 2007).

Tableau 1 : Lecture et interprétation du milieu urée-indole. (Delarras, 2007)

Lecture directe sur les deux tubes à hémolyse après incubation		
Test uréase	Milieu rouge violacé (alcalin) après incubation	Uréase+
	Milieu orange (couleur du milieu)	Uréase-
Addition de réactifs puis lecture		
1^{er} tube à hémolyse : test indole Ajouter du réactif de Kovacs (4 à 5 gouttes)	Coloration rouge en surface (anneau rouge)	Indole+
	Coloration jaune en surface	Indole-
2^{eme} tube à hémolyse : Test TDA Ajouter du perchlorure de fer (7 à 8 gouttes)	Coloration immédiate du milieu en brun	TDA+
	Coloration jaune-orangé	TDA-

- **Identification de *Pseudomonas***

Les géloses King A et King B sont deux milieux favorisant la pigmentation des cultures de *Pseudomonas*, en particulier *P.aeruginosa*. Lagélose King A favorise la synthèse de la pyocyanine pigment qui colore le milieu en bleu ou en vert (pyocyanine et pyoverdine). La gélose King B favorise la synthèse du pigment jaune vert fluorescent (pyoverdine).

c) Identification par micro méthode

- **La galerie Api 20^E**

Principe

La galerie API 20^E est composée de 20 micro tubes (surmontés de cupules contenant des substrats déshydratés, qui permettent de réaliser 21 tests biochimiques du métabolisme respiratoire, glucidique et protéique), le test oxydase constitue le 21^{eme} test d'identification à effectuer hors galerie (Appelbaum et al., 1980). Des tests complémentaires peuvent être réalisés.

Technique

- Préparation de la suspension : à partir d'une culture pure (de 18 à 24 heures) d'entérobactérie ou autre bacille à Gram- dans un tube contenant 10ml d'eau physiologique stérile ou d'eau distillée stérile.
- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide

- Noter la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.
- Placer la galerie dans la boîte d'incubation.
- A l'aide d'une pipette, la suspension bactérienne est introduite dans les tubes de la galerie en évitant la formation des bulles d'air.
- Pour les tests CIT, VP, GEL, les tubes et les cupules doivent être remplis avec la suspension bactérienne.
- Pour les tests ADH, LDC, ODC, H₂S, URE les cupules sont remplis d'huile de paraffine afin d'obtenir une anaérobiose.
- Incuber à 36 ± 2°C pendant 18 à 24 heures.

Lecture : Après incubation, lire les réactions en appliquant le tableau de lecture

- Test TDA : ajouter 1 goutte de réactif TDA. Une couleur marron-rougeâtre indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.
- Test IND : ajouter 1 goutte de réactif JAMES. Une couleur rose diffusant dans toute la cupule indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.
- Test VP : ajouter 1 goutte des réactifs VP 1 et VP 2. Attendre au minimum 10 minutes. Une couleur rose ou rouge indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats. Une faible coloration rose apparaissant après 10 minutes doit être considérée négative.

L'identification est ensuite réalisée à partir d'une base de données ; à l'aide du logiciel d'identification (il suffit d'entrer manuellement au clavier le profil numérique déterminé à x chiffres).

2.3.2. Identification des cocci à Gram+

➤ Test de Catalase

Principe : La catalase est une enzyme présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatives. Elle décompose l'eau oxygénée formée en eau et en oxygène qui se dégage (Delarras, 2007), selon la réaction suivante :



Technique

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

Lecture : Le dégagement de bulles de gaz indique la présence de la catalase : test catalase+.

➤ Recherche de la coagulase

La recherche de la coagulase reste le test essentiel qui différencie *Staphylococcus aureus* des autres espèces de *Staphylocoque* (Riegel et al., 2006)

Technique

- Dans un tube à hémolyse, 500µl d'une culture de *Staphylocoque* (bouillon de 18heures), sont mélangés à 500µl de plasma de lapin oxalaté. Le tube est incubé à 37°C pendant 24h.

Lecture : la présence de la coagulase provoque la coagulation et la prise en masse totale du plasma avant la 4^{ème} heure. Toutefois une réaction se produisant avant la 24^{ème} heure sera considéré comme positive.

2.4. Antibiogramme

L'antibiogramme est un examen de laboratoire courant, qui consiste en la détermination de la sensibilité d'une bactérie aux antibiotiques. Il permet de catégoriser une souche bactérienne en classe semi-quantitatives (sensible S, intermédiaire I ou résistante R) et d'orienter l'antibiothérapie

• Principe

La méthode de diffusion dite « des disques » en milieu solide est la plus simple (Madigan et Martinko, 2007 ; Crouzilles, 2012). Elle est réalisée dans une boîte de Pétri et consiste à ensemençer en surface un milieu solide par inondation de la souche à tester. Des quantités connues de composés antimicrobiens sont déposées sur des disques de papier-filtre qui sont ensuite placés en surface de la gélose. Le développement ou non des bactéries autour du disque renseigne sur la sensibilité de la bactérie à l'antibiotique testé.

• Technique

a) Préparation de l'inoculum

L'inoculum est préparé de façon à obtenir après incubation des colonies juste confluentes. Il est obtenu à partir d'une culture jeune de 18 à 24 heures, (**Antibiogramme en diffusion,**

1998). A l'aide d'une pipette pasteur, on prend quelques colonies (3 à 5 colonies) bien isolées et parfaitement identiques, on l'émulsionne dans 5 ml de l'eau physiologique stérile puis bien homogénéiser la suspension bactérienne. L'ensemencement doit se faire dans les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum.

b) Ensemencement

L'ensemencement se fait par la méthode de Kirby-Bauer, par écouvillonnage.

- Un écouvillon stérile est trempé dans l'inoculum, et laisser s'imbiber.
- Faire sortir l'écouvillon du tube en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube afin de décharger au maximum.
- Ensemencer la boîte de Mueller-Hinton stries serrées, dont l'épaisseur de la gélose est de 4mm, en frottant l'écouvillon sur la totalité de la surface de la gélose et en pivotant la boîte 3 fois de 60° sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même et finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose afin d'assurer une bonne distribution de l'inoculum. (NB : Dans le cas où il y a plusieurs boîtes de pétri à ensemencer, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois).

c. Application des disques d'antibiotiques et incubation

- Appliquer les disques d'ATB à l'aide d'une pince préalablement flambée, en appuyant légèrement et ne pas déplacer les disques après application.
- Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotique sur une boîte de 90mm.
- Pour les bactéries exigeantes (*Streptococcus spp*, etc.), ne pas mettre plus de 4 disques par boîte de 90mm. Les boîtes sont incubées dans l'étuve à 37°C pendant de 18 à 24h.

d) lecture des résultats

- Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés avec précision à l'aide d'un pied à coulisse. (ou une règle graduée)
- Pour les bactéries testées sur Mueller-Hinton simple : les mesures sont prises en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de Pétri fermée.
- Les bactéries testées sur Mueller-Hinton au sang, les mesures de diamètres de zones d'inhibition sont prises, boîte de Pétri ouverte et bien éclairée.

Les bactéries sont classées dans l'une des catégories R, I, S par la comparaison de la zone d'inhibitions aux valeurs critiques citées dans la standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (voir Tableau 12,13,14 : Annexe II). Les trois catégories de sensibilité aux antimicrobiens sont définies comme suit :

- Sensible (S) : l'infection provoquée par la souche testée répondra probablement au traitement par cet antibiotique.
- Résistant (R) : l'infection provoquée par la souche testée ne répondra probablement pas au traitement à cet antibiotique.
- Intermédiaire (I) : la réponse au traitement est imprévisible.

La liste des antibiotiques à tester selon la bactérie isolée (Tableau 11, Annexe II).

2.5. Recherche de la résistance de *Staphylococcus aureus* (SARM)

Confirmation de l'espèce *Staphylococcus aureus* multi-résistante (SARM). La résistance des staphylocoques aux (oxacilline) est recherchée à l'aide d'un disque de céfoxitine (30µg) dans les conditions standards. La résistance est testée en réalisant l'antibiogramme standard du staphylocoque, en prenant en considération la résistance à l'oxacilline.

Après la lecture de la zone d'inhibition aux antibiotiques. On classe les *Staphylococcus aureus* résistantes (SARM) et sensible à la méticilline (MSSA) selon le diamètre d'inhibition. Si le diamètre de la céfoxitine est ≤ 19 mm et la souche elle-même résistante à l'oxacilline (≤ 10 mm), la souche est dite MRSA. Si le diamètre de la céfoxitine est ≥ 20 mm et la souche elle-même n'est pas résistante à l'oxacilline, la souche est dite MSSA (SAEN, 2011).

2.6. Recherche de la β -lactamase à spectre élargi (BLSE)

La détection de la résistance aux C3G est une étape essentielle dans la décision thérapeutique et la surveillance épidémiologique. La BLSE est soupçonnée devant toute diminution du diamètre de la zone d'inhibition d'une C3G.

2.6.1. Définition d'une BLSE

Les BLSE désignent des enzymes « β -lactamase » produites par les Entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter spp.* Entraînant une diminution de l'activité des céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G) (céfotaxime, ceftriaxone, ceftazidime) et des monobactames (aztréonam),

mais n'ayant aucune activité vis-à-vis des céphamycines (céfoxitine, moxalactam) ni des carbapénèmes (imipénème). (Standardisation de l'Antibiogramme à l'Echelle nationale ,2011).

2.6.2. Test de détection des BLSE par synergie

La recherche du phénotype BLSE est réalisée sur l'antibiogramme selon la technique de synergie décrite par **(Jarlier et al., 1988)** en plaçant les disques de CTX (30µg) et de CAZ (30 µg) et ATM à une distance de 20-30 mm (de centre à centre) d'un disque d'amoxicilline/acide clavulanique (20/10µg). Ceci permet de mettre en évidence (après incubation de 24 h à 37°C) une augmentation très nette du diamètre d'inhibition des disques contenant les C3G en regard du disque contenant l'acide clavulanique/amoxicilline, prenant ainsi la forme d'un « bouchon de champagne » pour les souches productrices de BLSE. (Figure 5).

2.6.3. Test du double disque (test espagnol) : confirmation de BLSE

La détection de la bêta-lactamase à spectre élargi (ou étendu) peut être confirmée par le test du double disque. Ce test consiste à rechercher une augmentation de la zone d'inhibition d'un disque de C3G, précédé par l'application d'un disque contenant l'association amoxicilline-acide clavulanique (AMC), comparé à un autre disque portant la même céphalosporine et placé côte à côte sur la gélose Mueller-Hinton **(Rahal et al., 2010)**. Une suspension bactérienne a été préparée à partir d'une culture de 18h, une gélose Mueller-Hinton est ensuite ensemencée selon la technique de l'antibiogramme. Deux disques l'un contenant l'AMC, l'autre une céphalosporine de troisième génération (CTX). La diffusion est faite à la température ambiante du laboratoire pendant une heure, puis le disque AMC est ôté et remplacé par un disque de C3G (CTX ou CAZ). Les boîtes sont incubées 18h à 37°C.

Le test est considéré positif, si le diamètre de la zone d'inhibition du disque de C3G est inférieur de 4 à 5 mm, comparé à celui observé autour du disque de C3G appliqué après pré diffusion du disque de l'AMC.

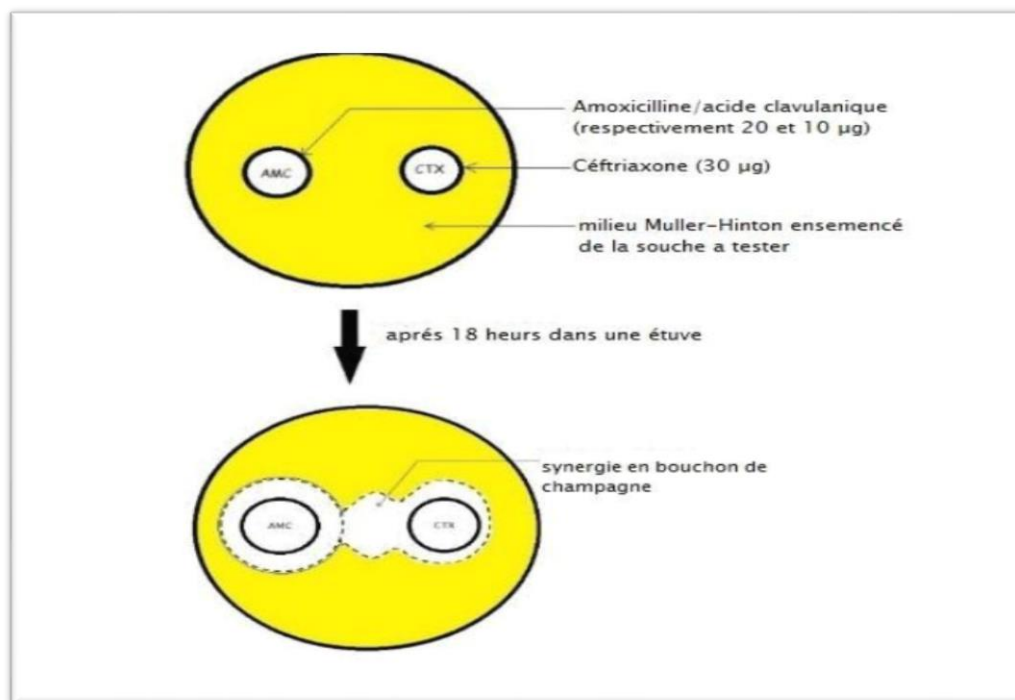


Figure 5: Réalisation d'un test de synergie

2.7. Etude de l'activité antibactérienne des huiles de *Lavandula angustifolia* et *Salvia officinalis*

Nous avons réalisé la méthode de l'aromatogramme (la méthode de diffusion sur milieu gélosé) afin de tester l'effet antibactérien des huiles de la lavande (*Lavandula angustifolia*), et de la sauge (*Salvia officinalis*) sur les souches isolées du pied diabétique et identifiées. Cette technique a été utilisée auparavant par plusieurs chercheurs (Chao et al., 2000., Ozcan et al., 2003)

2.7.1. Aromatogramme

C'est une méthode de mesure in vitro du pouvoir antibactérien des huiles essentielles (Girault et Bougeon, 1971). Cet examen est équivalent à un antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par des essences préalablement sélectionnées et reconnues (Bondi et al., 1993).

Nous avons adapté la technique utilisée par certains auteurs Benjilali et al., (1986) et Satrani et al., (2007) pour évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles (HE).

2.7.1.1. Principe de la technique

La méthode des aromatogrammes consiste à :

- Déposer un disque stérile en cellulose (dans notre cas : disque de 9 mm de diamètre) imprégné d'une quantité bien définie des HE (1 et 2 gouttes par disque séparément, ce qui correspond à 20 et 40 μL /disque) à tester, à la surface d'une gélose (MH pour les bactéries) préalablement coulée dans une boîte de pétri et ensemencée avec le micro-organisme testé.
- Les boîtes sont ensuite fermées et incubées dans l'étuve à 37°C pendant 18 à 24h .
- Après incubation, la lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre (en mm) de la zone claire autour du disque, appelée : zone d'inhibition (Figure 2).
- Chaque essence diffuse à partir du disque au sein de la gélose et y détermine un gradient de concentration (Hellal, 2011). Les bactéries croissent sur toute la surface de la gélose sauf là où elles rencontrent une concentration d'essence suffisante qui inhibe leur croissance.

Lecture

- L'absence de la croissance bactérienne se traduit par un halo translucide autour du disque dont le diamètre est mesuré et exprimé en mm.

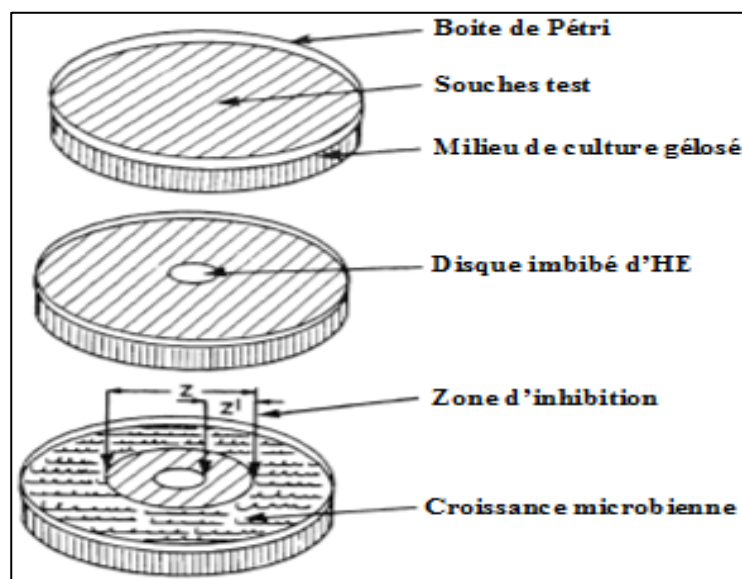


Figure 6: Illustration de la méthode de l'aromatogramme (Zaika, 1988).

2.8. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des huiles essentielles

Cette technique consiste à inoculer, par un inoculum standardisé, une gamme de concentration décroissante en huile essentielle. Après incubation, l'observation de la gamme

permet d'accéder à la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI), qui correspond à la plus faible concentration en huile essentielle capable d'inhiber la croissance bactérienne.

L'huile essentielle est mélangée aux concentrations désirées avec le milieu gélosé liquéfié par simple agitation manuelle (**Taudo, 1990**). Après refroidissement, on ensemence la suspension bactérienne déjà préparée puis on incube à 37°C. L'adjonction d'un émulsifiant (Tween 80), inerte, stable et dépourvu d'action synergique antibiotique, peut être réalisée pour améliorer la solubilité de l'huile essentielle et sa diffusion dans la gélose (**Perrucis, 1994**). Ainsi, l'huile essentielle est préparée dans une solution de Tween 80 à la concentration désirée. Le mélange est agité manuellement pendant 10 minutes, puis ajouté au milieu gélosé liquéfié. L'ensemble est coulé en boîte de pétri. L'ensemencement(en 1seul strie) est effectué après refroidissement de la gélose.

2.8.1. Principe de la technique

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est définie comme étant la dernière ou la plus basse concentration d'un agent antimicrobien (huile essentielle) qui peut inhiber visiblement la croissance d'un micro-organisme après 24h pour les bactéries. Son but est d'établir le niveau de sensibilité des pathogènes envers les agents antimicrobien en l'occurrence des HE étudiées dans ce cas. Cette CMI est déterminée selon la méthode des dilutions sur milieu gélosé : MH pour les bactéries.

2.8.2. Protocole expérimentale

a) préparation de l'inoculum microbien

A partir de culture jeune de 18 ou 24h pour les bactéries, et à l'aide d'une pipette pasteur nous avons prélevé quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques et sont été mises dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9% de sel (NaCl) (**OMS, 2005**).La suspension bactérienne est bien homogénéisée et laisser sur la paillasse pendant 30 minute.

Nous avons préparé une autre solution à partir de la solution mère tout en prélevant 0,1ml de la solution mère auquel en ajoutant 9ml d'eau physiologique stérile. Cette dernière qui sera utilisée pour la détermination de la CMI.

b) préparation des dilutions d'HE de 2% à 0,03%

- On prépare une dilution d'EH à 2% , en diluant 1ml d'HE pure (100%) additionné de tween 80 stérile dans 50ml de milieu MH liquide dans le premier flacon ,on agite légèrement afin de bien homogénéiser le mélange.
- On réalise des dilutions de $\frac{1}{2}$ au $\frac{1}{2}$, en versant la moitié de la dilution 2% dans le deuxième flacon et compléter avec 25 ml de milieu MH stérile ce qui donne la dilution 1%.
- On procède de la même manière jusqu'à l'obtention de la dernière dilution 0,03% et on rejette les 25 ml du mélange restante.
- On coule chaque dilution dans les boîtes de pétri puis on les laisse solidifier. On peut diviser chaque boîte selon le nombre correspondant aux bactéries à étudier.
- On plonge un écouvillon stérile dans la solution préalablement préparée pour l'étude de la CMI, on l'essor bien dans la paroi intérieure de tube puis on fait un ensemencement sur la surface de la gélose par un seul strie. Les boîtes de pétri ensemencées sont incubées à 37°C pendant 24h pour les bactéries.

NB :

- Un témoin positif (+) ne contenant que le milieu (MH) additionné de tween 80 plus l'inoculum, doit être prévu pour chaque dilution d'HE.
- Un témoin négatif (-) ne contenant que le milieu MH additionné de tween 80 est également prévu.

c) Lecture

La lecture des résultats se fait à l'œil nue, en indiquant la plus faible concentration inhibitrice de l'HE, se traduisant par l'absence de toute croissance bactérienne visible.

III.1. Résultats

Nous avons effectué 65 prélèvements de pus du pied diabétique au sein de 5 établissements médicaux, La répartition des 65 malades souffrants des plaies du pied diabétique est montrée dans le tableau suivant:

Tableau 2 : Prélèvement effectué des plaies du pied diabétique

établissement	Nombre de prélèvement	Pourcentage (%)
EPH-Blida	37	56,92
EPH-Kolea	10	15,38
EPH-Boufarik	7	10,76
USB	8	12,30
Maison de diabétique	3	04,61
Total	65	100

L'analyse des aspects épidémiologiques de pied diabétique chez les 65 patients, est faite en fonction des paramètres suivants: le sexe, l'âge, le type de diabète et l'hospitalisation (externe ou interne).

1.1. Selon le sexe

Sur les 65 prélèvements effectués nous avons noté une prédominance masculine avec une prévalence de 81,53% , alors qu'une fréquence de 18,46% représente les femmes (Figure 7,Tableau 15).

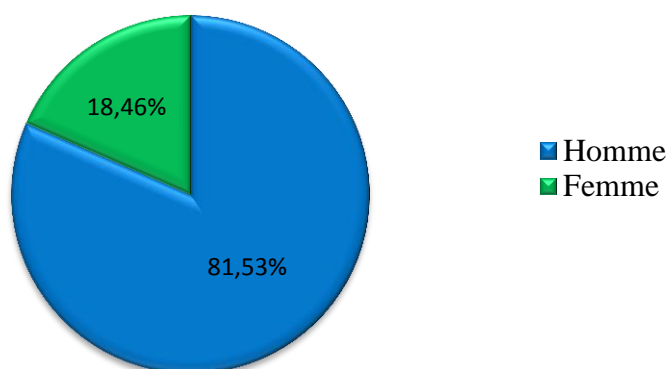


Figure 7 : Répartition des prélèvements en fonction du sexe.

- **Sexe ratio de cet échantillonnage (65 prélèvements)**

Sexe ratio = (Nombre d'hommes / Nombre de femmes)

Sexe ratio = (53 / 12) = 4.4 ; Sexe ratio : (4 :1) .

1.2. Selon les tranches d'âge

Pour chercher la tranche d'âge la plus touchée par les infections du pied diabétique, nous avons réparti les patients en tranches d'âge de 20ans. Nous avons constaté (Figure 8, Tableau 16) que les patients diabétiques appartenant à la tranche d'âge 45-65 ans sont les plus touchés par le problème du pied diabétique avec une fréquence de 64,61%, suivi par la tranche d'âge de 65-85ans avec une fréquence de 33,84%. Les patients moins de 45ans occupent la 3ème position avec une prévalence de 3,07%.

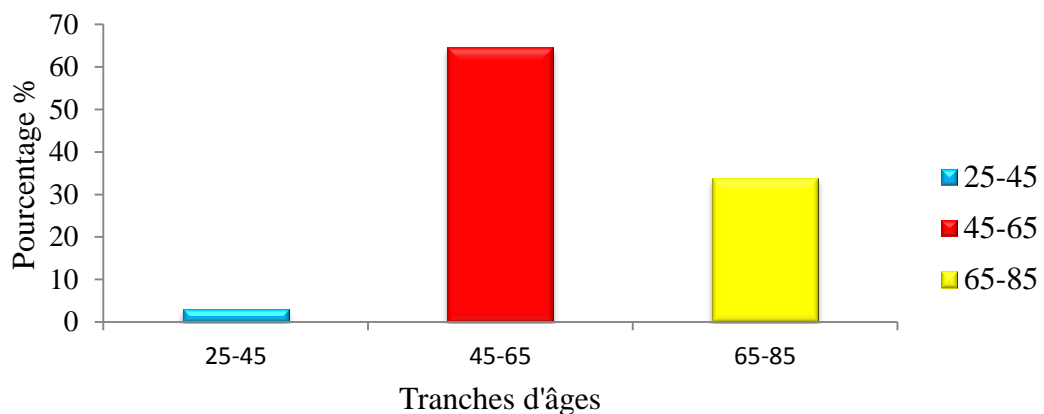


Figure 8 : Répartition des prélèvements en fonction de l'âge.

1.3. Selon le sexe et l'âge

Les résultats obtenus ont permis de démontrer que les hommes appartenant à la tranche d'âge de 45-65 représentent le taux de prélèvement le plus élevé avec une fréquence de 52,30%. Alors que les femmes appartenant à la même tranche d'âge affichent un taux de 12,30% (Figure 9, Tableau 17).

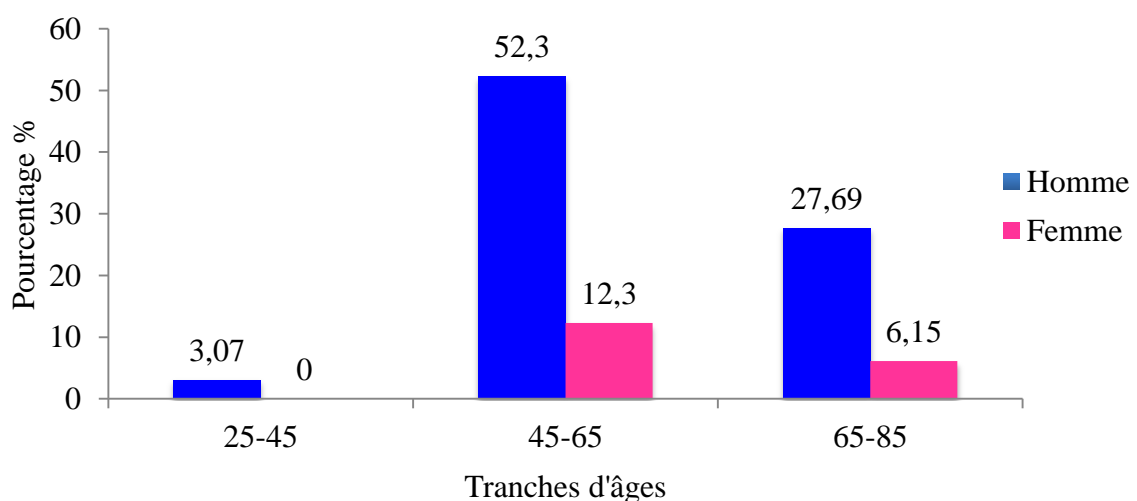
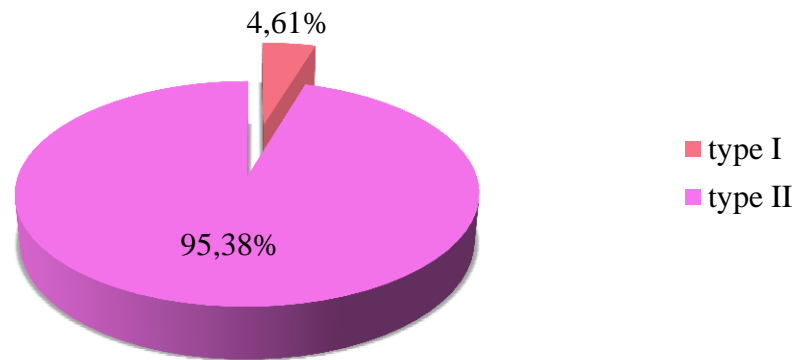


Figure 9: Répartition des patients en fonction de l'âge et de sexe.

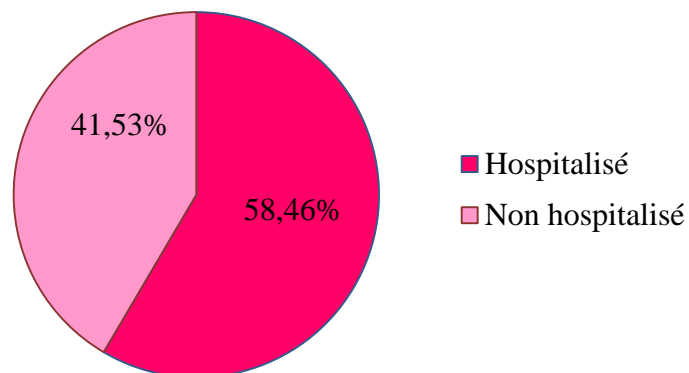
1.4. Selon le type de diabète

Parmi les 65 patients, 95,38% sont des diabétiques de type II, alors que 4,61% restant sont des diabétiques de type I (Figure 10, Tableau 18).

**Figure 10 :** Répartition des patients en fonction de type de diabète.

1.5. Selon les patients hospitalisés/non hospitalisés

D'après la figure 11, Tableau 19, les résultats obtenus ont montré que parmi les 65 patients, 38 sont hospitalisés soit une fréquence de 58,46%, les 27 restants avec une fréquence de 41,53% sont non hospitalisés.

**Figure 11 :** Répartition des patients selon hospitalisation ou non hospitalisation.

2. Résultats de l'analyse microbiologique

Nous avons reparti les résultats d'analyse microbiologique selon les prélèvements positifs ou négatifs, la nature de la culture bactérienne (monobactérienne/polybactérienne) et selon les germes ou les espèces responsables dans l'infection du pied diabétique.

2.1. Cas positif et négatif de pus

Dans les 65 prélèvements de pus effectués, nous avons remarqué que 56 prélèvements positifs (présence de germes) avec un taux de 86,15 %, tandis que les 9 prélèvements restants représentent un taux de 13,84%, ces derniers sont négatifs (absence de germes) (Figure 12, Tableau 20).

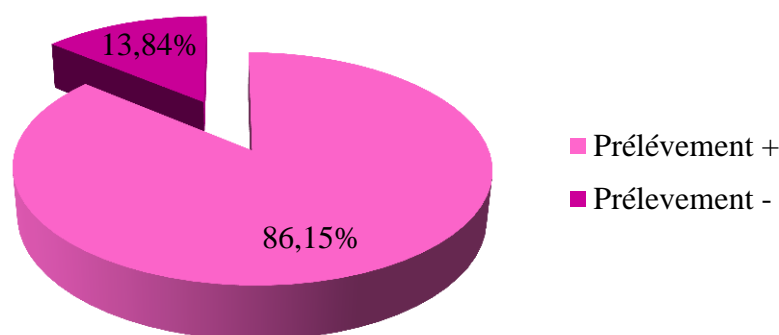


Figure 12: Répartition des prélèvements positifs et négatifs.

2.2. Nature des cultures obtenues

D'après l'isolement et l'identification des différentes bactéries, nous avons noté que sur 56 prélèvements effectués, un taux de 44,64% sont des cultures monomicrobiennes, par contre 55,35% sont des cultures polymicrobiennes (deux germes et plus) (Figure 13, Tableau 21).

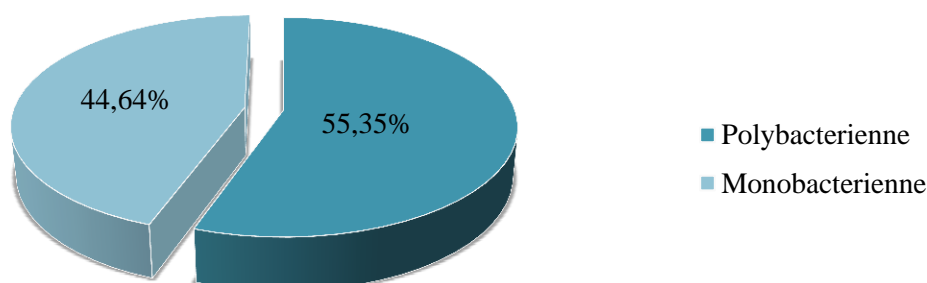


Figure 13 : Répartition des résultats selon la nature des cultures obtenues.

2.3. Groupes de germes identifiés

Au cours de notre étude, nous avons isolé 90 souches de l'ensemble des prélèvements réalisés. 53 souches de bacilles à Gram négatif et 37 souches de cocci à Gram positif ont été identifiées. Nous avons pu regrouper les souches dans deux catégories : les bacilles à Gram négatif et cocci à Gram positif.

Ces résultats ont montré que l'infection du pied diabétique est causée aussi bien par les bacilles à Gram négatif avec une fréquence de 58,88% que par les cocci à Gram positif représentant un taux de 41,11% (Figure 14, Tableau 22).

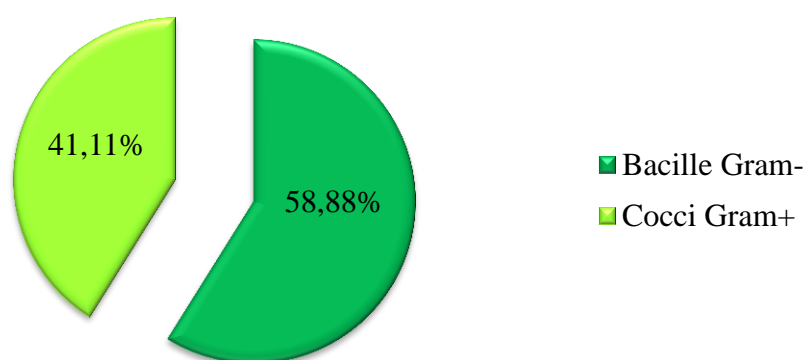


Figure 14 : Répartition des résultats selon le groupe de germes identifiés.

Sur 90 souches identifiées nous avons noté (Figure 15, Tableau 23) que les Entérobactéries occupent la première position (51 souches) avec un taux de 56,66%, suivi par les Staphylocoques (30 souches) avec un taux de 33,33%. Les Streptocoques occupent la 3^{ème} position (7 souches) avec un taux de 7,77%, et en derniers les *Pseudomonas* (2 souches) avec un pourcentage de 2,22%.

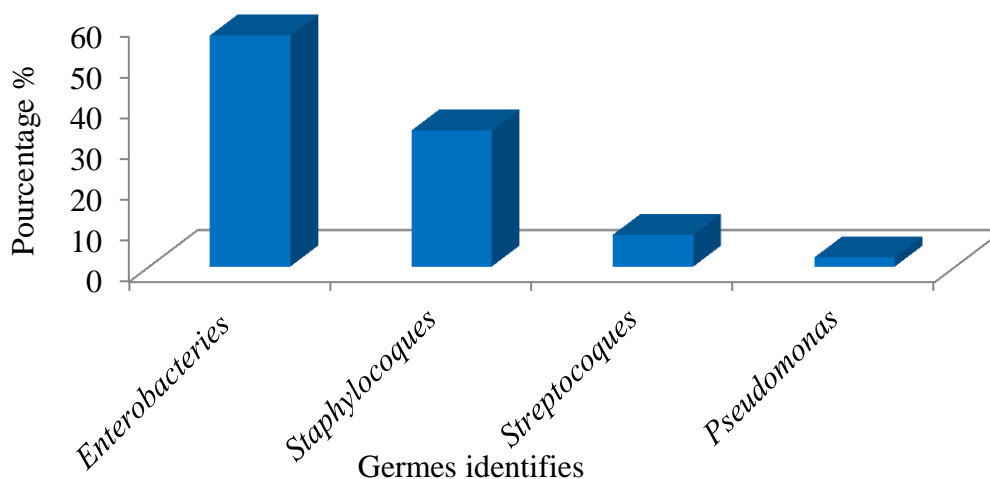


Figure 15 : Répartition des résultats selon les germes identifiés.

2.4. Espèces identifiées

Dans l'ensemble des espèces identifiées, et sur les 51 souches d'Entérobactéries isolées nous avons noté une prédominance de *Proteus mirabilis* avec un taux de 23,52%, suivi par *Proteus vulgaris* avec un taux de 19,60 %, puis *Morganella morganii* avec une prévalence de 11,76% et en quatrième position *Proteus penneri*, *Klebsiella ornitholytica*, *serratia odorifera* avec le même taux de 5,88%. Les autres espèces montrent une fréquence moins importante d'un taux de 3,92% pour *Citrobacter freundii* et *Citrobacter braakii* et en dernière position avec une fréquence moins importante de 1,96%, nous avons *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Ochrobactrum anthropi*, *Chryseobacterium indologenes*, *Citrobacter koseri*, *Providencia stuartii*, *Chromobacterium violaceum*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter sakazakii* et *Proteus rettgeri* (Figure 16, Tableau 24), Concernant le groupe de *Staphylocoque*, les résultats obtenus ont montré une prédominance de *Staphylococcus aureus* avec un taux de 33,33%.

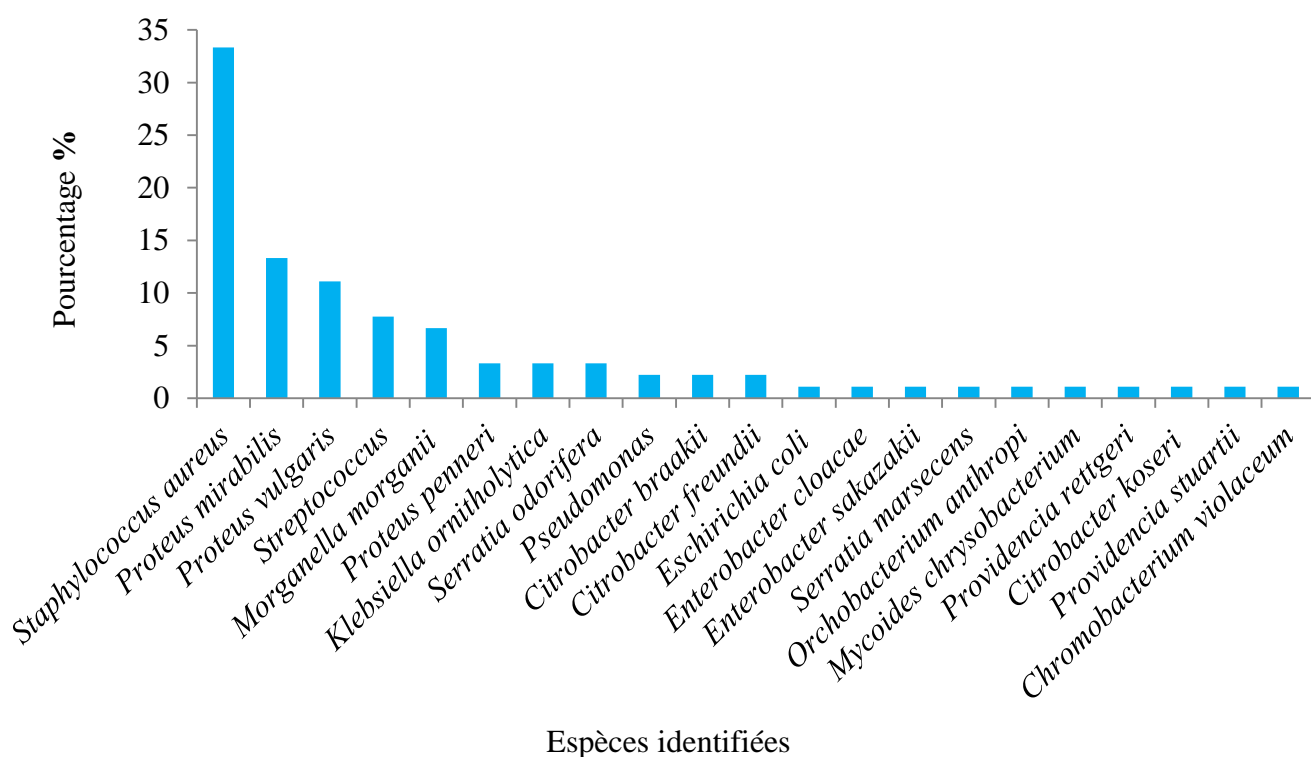


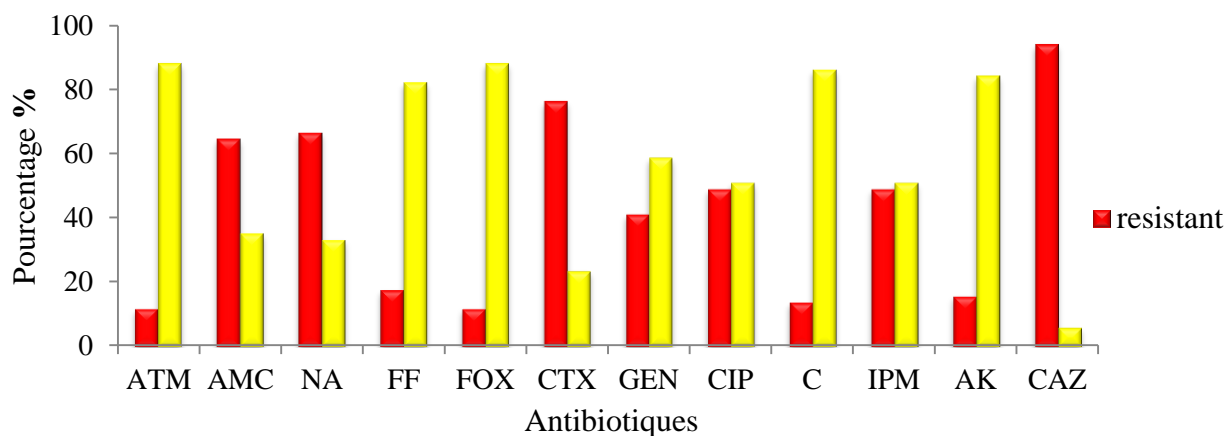
Figure 16 : Répartition globale des différentes espèces isolées.

3. Résultats de l'antibiorésistance

➤ Entérobactéries

Les 51 souches d'entérobactéries testées, ont montré une résistance très élevée (94,11%) vis-à-vis la Ceftazidime (CAZ) (Figure 17, Tableau 25), et (76,47%) envers la Cefotaxime (CTX), l'acide nalidixique (NA) (66,66%), l'Amoxicilline+Acide clavulanique (AMC) (64,70%). Une

résistance moyenne (49,01%) vers la Ciprofloxacine (CIP), l'imipénème (IPM) (49,01%). Par contre nous avons noté une grande sensibilité (88,23%) envers l'Aztréonam (ATM) et la Céfoxitime (FOX), Chloramphénicol (C) avec un pourcentage de (86,27%) et l'Amikacine (AK) (84,31%), la Fosfomycine (FF) (82,35%). Une sensibilité moyenne (58,82%) vers la Gentamycine



(GEN)

Figure 17: Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les Entérobactéries.

➤ *Pseudomonas*

Les 2 souches de *Pseudomonas* isolées ont montré (Figure 18,Tableau26) une résistance totale (100%) vis à vis l'Aztréonam (ATM), la Ciprofloxacine (CIP), l'Imipénème (IPM), et la Tobramycine (TOB). Tandis que une résistance moyenne (50%) de la Fosfomycine (FF), l'Amikacine (AK) a été observée et une sensibilité totale de la gentamycine (GEN).

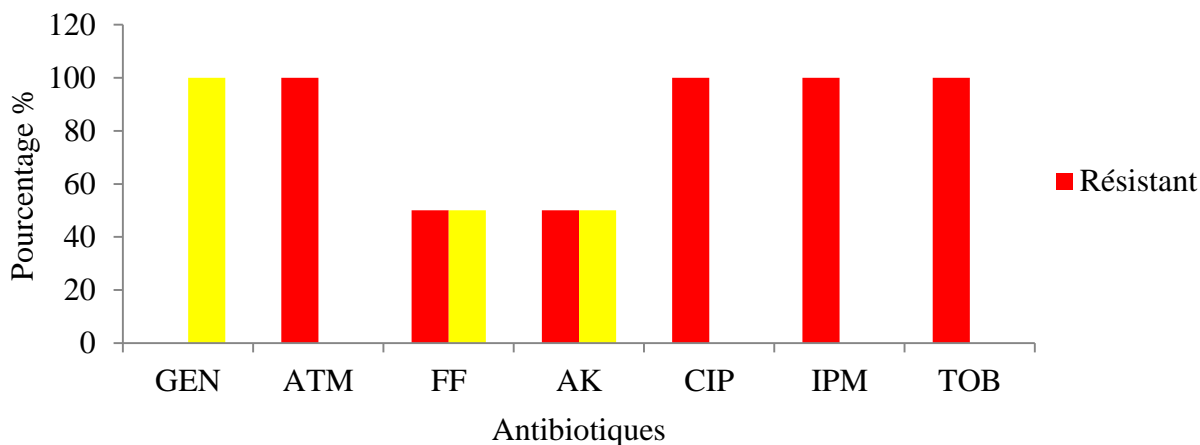


Figure 18 : Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches de *Pseudomonas*.

➤ *Proteus mirabilis*

La figure 19,Tableau 27 montre que les 12 souches de *Proteus mirabilis* sont faiblement résistantes vers la Cefotaxime (CTX) (16,66%), la Ciprofloxacine (CIP) et l'Acide nalidixique

(NA) (25%). Cependant elles sont fortement résistantes à l'Amikacine (AK) (91,66%) et une sensibilité moyenne vers l'Aztréonam (ATM) (50%), la Fosfomycine (FF) (41,66%), la Gentamycine GEN et Amoxicilline +Acide clavulanique (AMC) (33,33%).

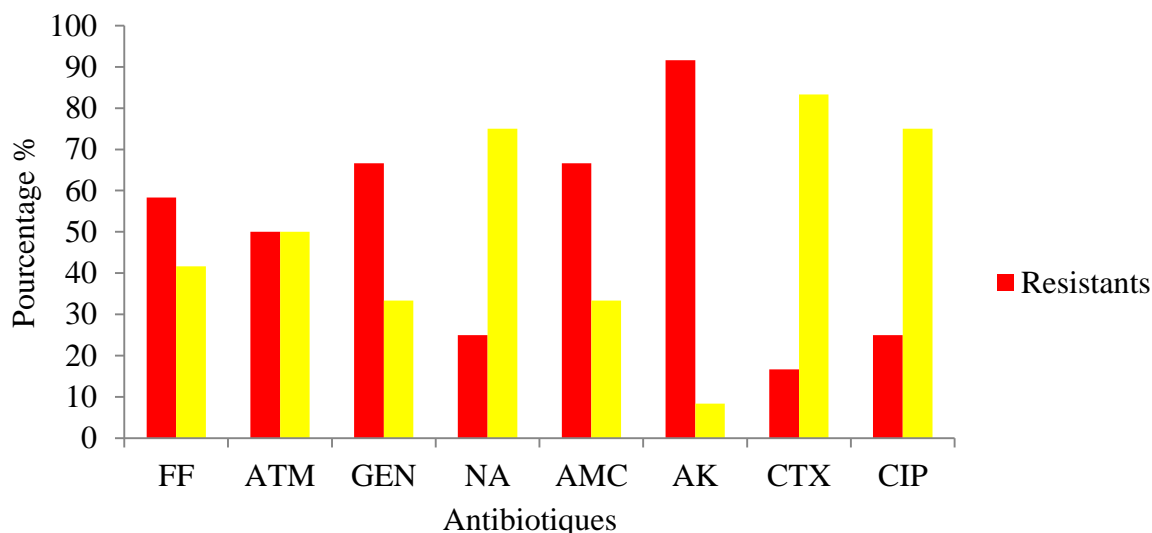


Figure 19 : Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches de *Proteus mirabilis*.

➤ *Morganella morganii*

Une résistance totale de l'ensemble des souches isolées de *Morganella morganii* a été notée vis-à-vis l'Acide nalidixique (NA) (Figure 20,Tableau28) et une forte résistance (83,33%) à l'Amoxicilline +Acide clavulanique (AMC), la Céfazoline (CZ).Une résistance moyenne à la Colistine (CT) (50%) et une faible résistance à l'Imipénème (IPM) (16,66%) a été enregistrée. Une sensibilité élevée à la Gentamycine (GEN) (66,66%) et l'Aztréonam (ATM), tandis qu'une sensibilité moyenne à la Céfotaxime (CTX) (33,33%), la Ceftazidime (CAZ) et Chloramphénicol (C) a été observée.

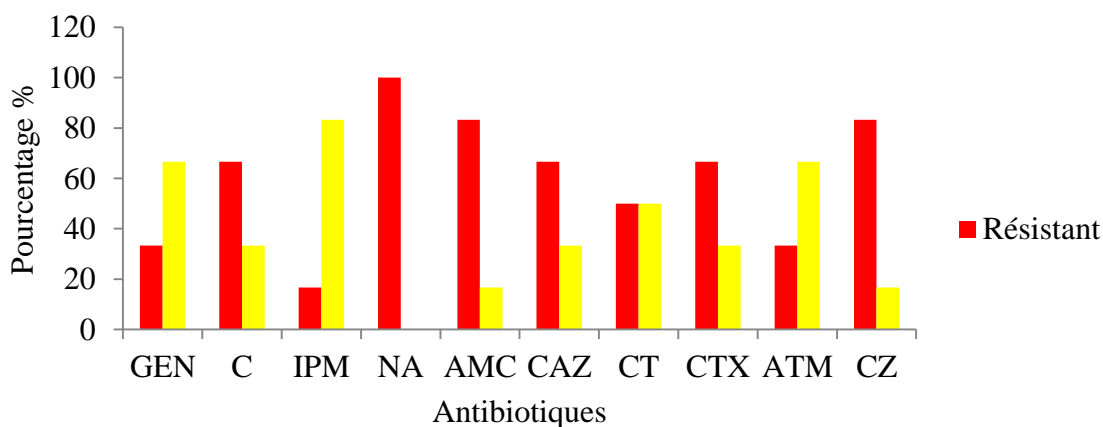


Figure 20: Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches de *Morganella morganii*.

➤ *Klebsiella ornitholytica*

Sur les 3 souches de *Klebsiella*, nous avons noté (Figure 21,Tableau 29) une résistance totale à la Fosfomycine (FF), une résistance élevée (66,66%) à la Ciprofloxacine (CIP), Cefotaxime (CTX), l'Aztréonam (ATM), l'Amoxicilline +Acide clavulanique (AMC). Une sensibilité élevée (66,66%) à l'Amikacine (AK) (66,66%), l'Acide nalidixique (NA), la Gentamycine (GEN), alors qu'une faible sensibilité a été enregistrée à la Cefoxitine (FOX) (33,33%).

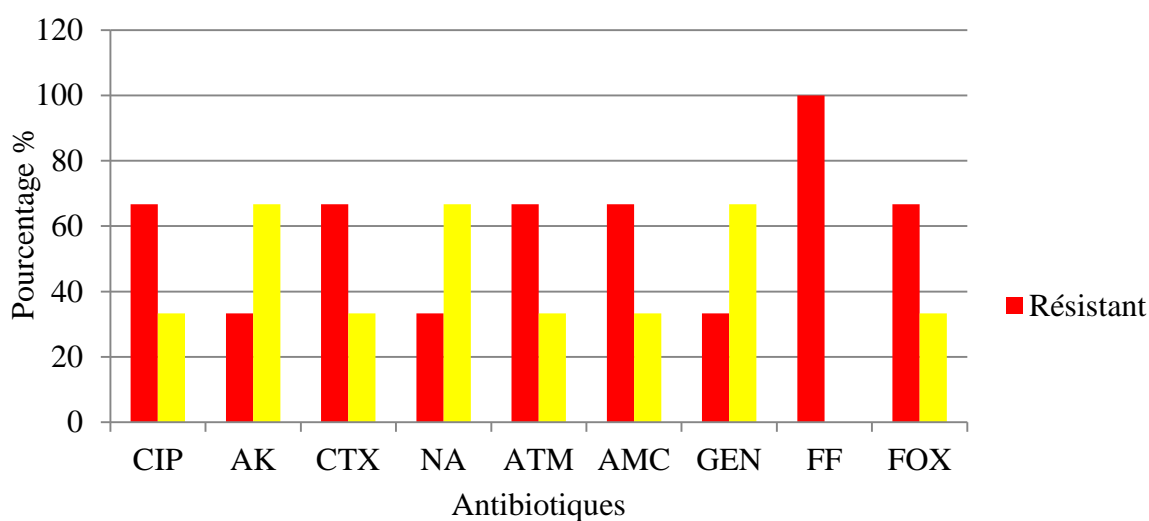


Figure 21: Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches de *Klebsiella ornitholytica*.

➤ *Staphylococcus aureus*

La figure 22,Tableau 30 ,montre que les 30 souches de *Staphylococcus aureus* isolées ont marqué une résistance très élevée (90%) à la Pénicilline (P), la Tétracycline (TE). Une résistance moyenne (46,66%) vers la Gentamycine (GEN), l'Erythromycine (E) ensuite la Rifampicine (RA) (43,33%).Une sensibilité presque totale (96,66%) à la Chloramphénicol (C),très élevée (83,33%) à l'Acide fucidique (FA), la Fosfomycine (FF),la Vancomycine (VA) (76,66%) l'Amikacine (AK) (73,33%) et élevée (66,66%) à la Céfoxitine (FOX), l'Oxacilline (OX).

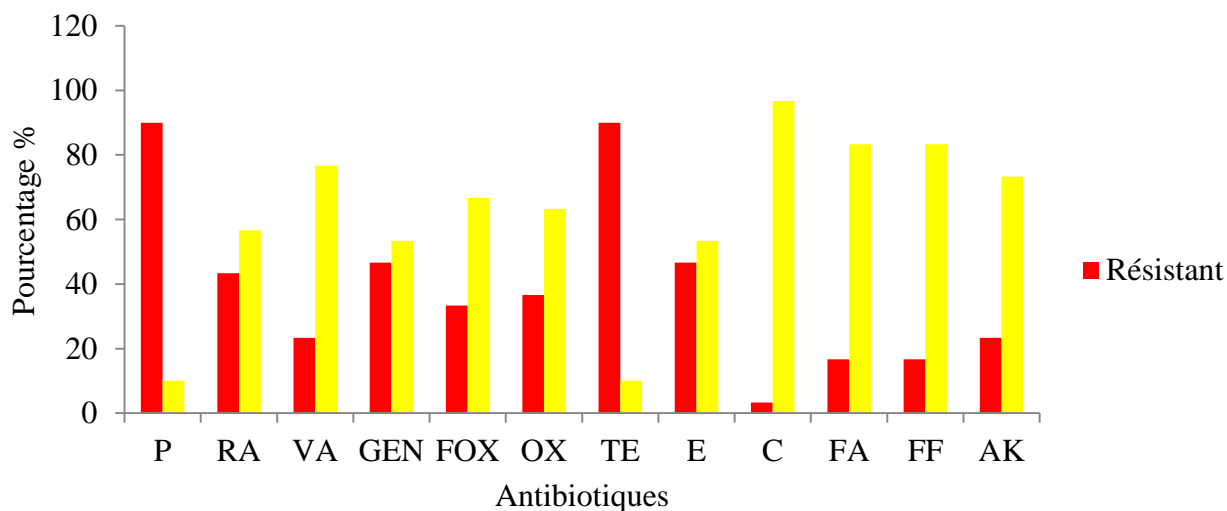


Figure 22: Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches des *Staphylococcus aureus*.

➤ ***Staphylococcus aureus* résistante à la méticilline (SARM)**

Les résultats de l'antibiogramme des 30 souches de *Staphylococcus aureus* isolées ont montré (Figure 23, Tableau 31) que 40% des souches sont résistantes à la méticilline (Méthicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: MRSA). Les 60% restantes sont sensibles à cette molécule Méthicillin-Sensible *Staphylococcus aureus* : MSSA.

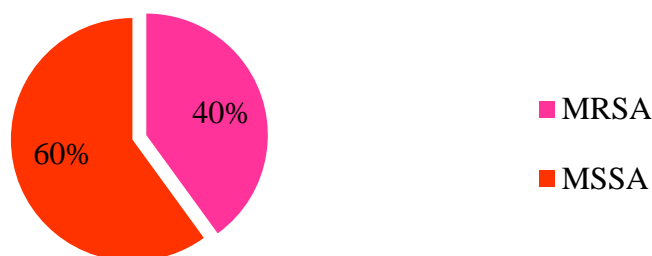


Figure 23: Répartition des souches de *Staphylococcus aureus* selon la résistance à la méticilline (MRSA).

➤ ***Streptococcus***

D'après les résultats obtenus sur l'antibiogramme des *Streptococcus*, nous avons noté (Figure 24, Tableau 32) que les souches de *Streptococcus* présentent une sensibilité totale (100%) à l'Ofloxacine (OFX), une sensibilité très élevée (90%) vers : le Chloramphénicol (C), la Vancomycine (VA), la Rifampicine (RA), l'Erythromycine (E) (83,33%), Céfotaxime (CTX) (73,33%) et à la pénicilline (P) (66,67%). Tandis qu'une résistance très élevée à la Tétracycline (TE) (80%) suivis par une résistance à la Gentamycine (GEN) (66,67%), puis la Clindamycine (DA) une résistance pratiquement faible (46,66%).

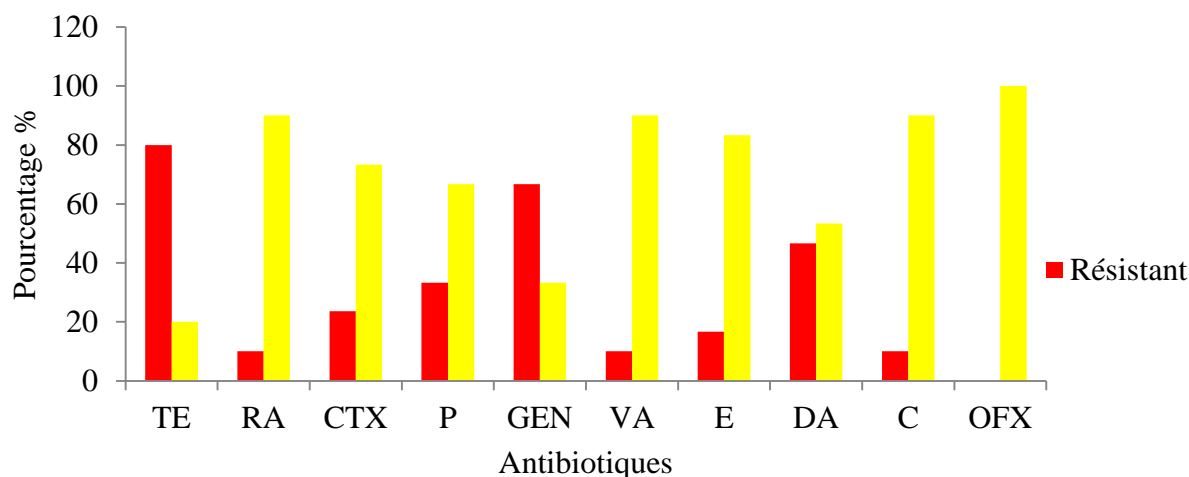


Figure 24 : Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches de *Streptococcus*.

4. Etude de l'effet antibactérien

4.1. Aromatogramme

Le screening antibactérien des 2 essences aromatiques de la lavande (*Lavandula angustifolia*) et la sauge (*Salvia officinalis*) a été réalisé, *in vitro*, sur plusieurs souches isolées avec 2 doses (20 et 40µl) pour chaque souche. Au total, 22 bactéries ont été sélectionnées et testées (5 bactéries à Gram+ et 17 à Gram-). Les résultats de cette étude antimicrobienne sont rapportés dans le tableau 3.

A noter que le diamètre du disque (9mm) a été inclut dans le calcul de la zone d'inhibition. (figure26, Annexe II).

Tableau 3: Résultats de l'activité antibactérienne *in vitro* de l'essence aromatique de *Lavandula angustifolia* et *Salvia officinalis* sur les différentes souches isolées.

Souches	<i>Lavandula angustifolia</i> DZI (mm)		<i>Salvia officinalis</i> DZI (mm)	
	Dose1 (20µL)	Dose 2 (40µL)	Dose1(20µL)	Dose2(40µL)
<i>Staphylococcus aureus</i> (S1) (SARM)	45	90	25,5	33,5
<i>Staphylococcus aureus</i> (S2)	11	21,5	15	22
<i>Staphylococcus aureus</i> (S3) (SARM)	16	20	16	25
<i>Streptococcus</i> (S1)	14	28,5	17	19
<i>Streptococcus</i> (S2)	15	26	14	24
<i>Morganella morganii</i> (S1)	11	13	12	19,5
<i>Morganella morganii</i>	15	16	13	18

(S2)				
<i>Morganella morganii</i> (S3)	10	12	11	15
<i>Proteus vulgaris</i> (S1)	15	35	25	46
<i>Proteus vulgaris</i> (S2)	18	19	16	16
<i>Proteus mirabilis</i> (S1)	40	47.5	17	27
<i>Proteus penneri</i> (S1)	R	R	11	14
<i>Escherichia coli</i> (S1)	15	15	12	19
<i>Citrobacter koseri</i> (S1)	0	15	12	30
<i>Citrobacter koseri</i> (S2)	15	30	16	20
<i>Citrobacter freundii</i> (S1)	R	R	R	R
<i>Citrobacter braakii</i> (S1)	R	R	R	R
<i>Enterobacter sakazakii</i> (S1)	21	30	12	25
<i>Providencia rettgeri</i> (S1)	16,5	41,5	14	65
<i>Serratia odorifera</i> (S1)	23	25	17	45
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (S1)	R	R	R	R
<i>Orchobacterium anthropi</i> (S1)	R	R	10	18

Tableau 4 : Résultats de l'antibioresistance sur les différentes souches isolées.

Souches	Antibiogramme (R : résistante, S : sensible)
<i>Morganella morganii</i> (S1)	(CAZ, AMC, NA, CT, GEN, C)=R
<i>Morganella morganii</i> (S2)	(GEN, NA, AMC, CZ, CAZ, CT)=R
<i>Morganella morganii</i> (prélèvement (S3))	(IPM, NA, FF)=R
<i>Staphylococcus aureus</i> (S1) (SARM)	(FOX, P, GEN)=R
<i>Staphylococcus aureus</i> (S1) (SARM)	(VA, GEN, OX, FOX, C, E, CIP, AK)=R
<i>Staphylococcus aureus</i> (S3) (SARM)	(OX, FOX, E, P, RA, FA, VA)=R
<i>Streptococcus</i> (S1)	(E, TE, C, CTX, GEN, P, NA, IPM, FOX, RA)=R
<i>Streptococcus</i> (S2)	(VA, E, CTX, RA, TE, C)=R
<i>Proteus vulgaris</i> (S1)	(FOX, FF, AK, CT, IPM, NA, CAZ, C, GEN)=R
<i>Proteus vulgaris</i> (S2)	(NA, GEN, CTX, CIP, IPM, CAZ, AMC, FF)=R
<i>Proteus mirabilis</i> (S1)	(IPM, GEN, CT, CAZ, FF, RA, FOX, NA, C)=R
<i>Proteus penneri</i> (S1)	(AMC, NA)=R
<i>Escherichia coli</i> (S1)	(IPM, CT, CAZ, NA)=R
<i>Citrobacter koseri</i> (S1)	(CT, FF, CAZ, FOX, IPM, GEN, NA)=R
<i>Citrobacter koseri</i> (S2)	(FF, CIP, NA, CTX, CAZ, AMC, IPM)=R
<i>Citrobacter freundii</i> (S1)	(FF, CIP, NA, CTX, CAZ, FOX, C, IPM, AMC, GEN, ATM, AK)=R
<i>Citrobacter braakii</i> (S1)	(GEN, NA, CTX, FF, AMC, GEN, AK)=R
<i>Enterobacter sakazakii</i> (S1)	(NA, AMC, AK)=R

<i>Providencia rettgeri</i> (S1)	(ATM, CAZ, NA, FF, CIP)=R
<i>Serratia odorifera</i> (S1)	(CTX, GEN, AK, AMC)=R
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (S1)	(GEN, ATM, FF, AK, CIP, IPM, TOB)=S
<i>Orchobacterium anthropi</i> (S1)	(ATM, AMC, CTX, NA)=R

Les résultats de l'aromatogramme obtenus par l'utilisation des huiles essentielles (HE) de la *Lavandula angustifolia* et *Salvia officinalis* sur les 22 souches isolées (tableau 3), ont montré une grande sensibilité à la plus faible dose (20µl) d'HE de la lavande pour *Staphylococcus aureus* (S1), dont le diamètre de la zone d'inhibition (DZI) est de 45mm, suivi par *Proteus mirabilis* (S1) avec un diamètre de 40mm. Concernant, l'HE de la sauge, une grande sensibilité à la plus faible dose (20ul) est enregistrée chez *Staphylococcus aureus* (S1) dont le diamètre est de 33,5mm, suivi par *Proteus vulgaris* (S1) d'un diamètre de 25mm.

En augmentant la dose (40µl), nous avons constaté que pour la lavande une sensibilité presque totale pour les souches de *Staphylococcus aureus*(S1) d'où le DZI augmente pour atteindre 90mm, suivi par les souches de *Proteus mirabilis*(S1) avec un diamètre de 47,5mm et *Providencia rettgeri*(S1) avec un diamètre de 41,5mm. Alors que pour la sauge une grande sensibilité à la plus grande dose (40µl) est observée chez *Providencia rettgeri* (S1) avec un diamètre de 65mm suivi par les souches de *Proteus mirabilis* (S1) d'un diamètre de 46mm puis par *Serratia odorifera* avec un diamètre de 45mm.

Ces résultats expérimentaux ont montré que l'huile essentielle de la lavande est actif sur toutes les souches étudiées à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter braakii*, *Proteus penneri*, *Orchobacterium anthropi*. Aucune zone d'inhibition pour la sauge n'a été détectée pour les deux doses testées vers : *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter braakii*, *Citrobacter freundii*.

Les résultats obtenus ont montré que l'huile essentielle de *Lavandula angustifolia* et *Salvia officinalis* présentent une activité antibactérienne plus importante vis à vis les bactéries à Gram positif par rapport aux bacilles à Gram négatif qui ont été moins sensibles.

4.2 Concentration minimale inhibitrice (CMI)

Les résultats de la CMI de l'huile essentielle de *Lavandula angustifolia* obtenus sur les bactéries à Gram (+) et à Gram (-) isolées du pied diabétique sont indiqués dans le tableau suivant :

- *Lavandula angustifolia*

Tableau 5: Résultats de la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'huile *Lavandula angustifolia*

	0,03125%	0,0625%	0,125%	0,25%	0,5%	1%	2%
<i>Streptococcus (S1)</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Citrobacter koseri(S2)</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Proteus vulgaris (S1)</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Providencia rettgeri (S1)</i>	+	+	+	+	-	-	-
<i>Enterobacter sakazakii (S1)</i>	+	+	+	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus (S1) (SARM)</i>	+	+	+	+	-	-	-
<i>Proteus mirabilis (S1)</i>	+	+	+	+	+	+	+
ATCC <i>S.aureus</i> (Témoin +) (SARM)	+	+	+	+	-	-	-

(+) : Culture positive (-): Culture négative

- *Salvia officinalis*

Tableau 6: Résultats de la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'huile *Salvia officinalis*




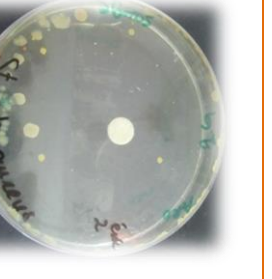







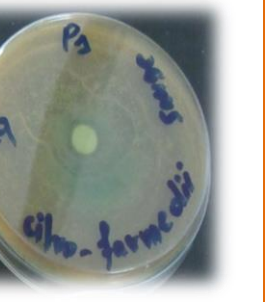
	0,03125%	0,0625%	0,125%	0,25%	0,5%	1%	2%
<i>Citrobacter koseri(S2)</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Proteus vulgaris (S1)</i>	+	+	+	+	+	+	-
<i>Providencia rettgeri (S1)</i>	+	+	+	-	+	+	+
<i>Serratia odorifera(S1)</i>	+	+	+	+	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus (S1) (SARM)</i>	+	+	+	+	-	-	-
ATCC <i>S.aureus</i> (Témoin +) (SARM)	+	+	+	+	-	-	-

(+ : Culture positive, - : Culture négative)

Les résultats de la CMI mentionnés dans le Tableau ci-dessus, montrent que l'huile essentielle de *Lavandula angustifolia* a un effet antibactérien sur les souches Gram (+) et Gram (-) avec de faibles concentrations (inférieur à 0,03%) pour les souches de

Streptocoque, *C.koseri* et une CMI de (0,25%) pour *E.sakazakii*. Par contre un effet efficace a été observé sur les souches de *S.aureus*, *P.rettgeri* et *P.mirabilis* avec une concentration de (0,5%). Tandis que la CMI de *P.vulgaris* est supérieur à 2%.

L'huile essentielle de *Salvia officinalis* a montré les CMI suivantes ; Pour *C.koseri* est inférieure à (0,03%). *P.rettgeri* est de (0,25%), (0,5%) pour *S.odorifera* et *S.aureus*, (2%) pour *P.vulgaris*.

	<i>Lavandula angustifolia</i>		<i>Salvia officinalis</i>	
	(20ul)	(40ul)	(20ul)	(40ul)
<i>S.aureus</i>				
<i>P.vulgaris</i>				
<i>C.freundii</i>				

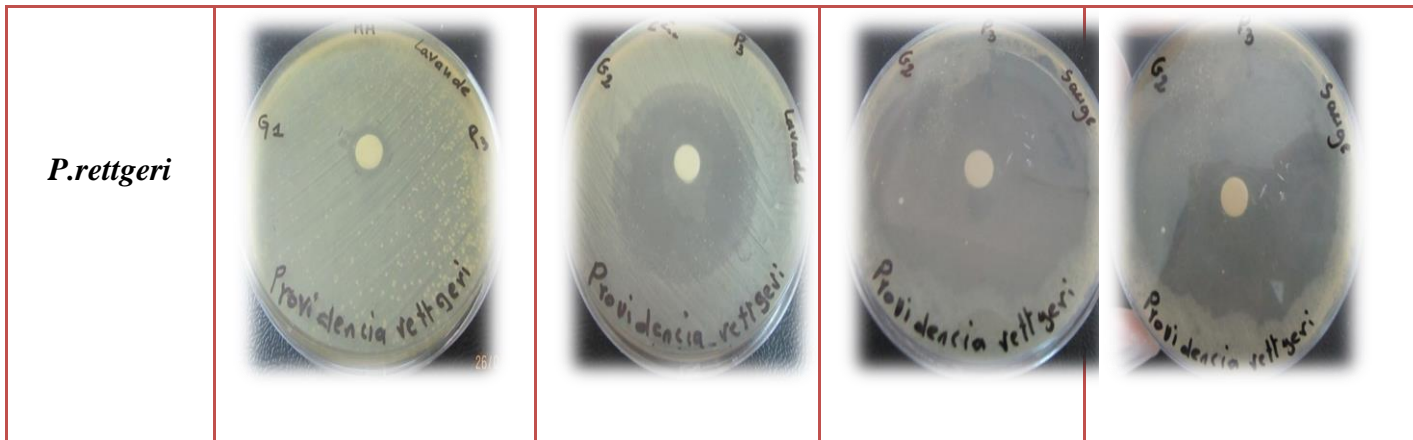


Figure 25: Activité antibactérienne des huiles essentielles de *Lavandula angustifolia* et *Salvia officinalis* (Originale).

III.2. Discussion

Durant notre stage, nous avons collecté 65 prélèvements du pus, dont 56 cas se sont révélés positifs avec un taux de 86,15% et 9 prélèvements restant sont négatifs avec un taux de 13,84%. Ce taux est presque équivalent à ce obtenu par une étude précédente au niveau du CHU de Blida où elle a enregistré un taux de 82,85% (cas positif) et 16,86% (cas négatif) sur 70 prélèvements effectués (**Hadjer, 2016**). En général les patients diabétiques ayant des problèmes au niveau des pieds sont vulnérables aux infections nosocomiales. Cela peut être expliqué par un affaiblissement du système immunitaire dû à l'hyperglycémie chronique. Un dysfonctionnement des polynucléaires avec en particulier une diminution du chimiotactisme et de la phagocytose, responsable d'une plus grande sensibilité des diabétiques aux infections (**Regnaul, 2002 ; Grimaldi, 2005 ; Stahl et al., 2007**).

Les résultats obtenus au cours de notre étude sont probablement dus à plusieurs paramètres :

- ✓ Les conditions de recueil des prélèvements : Il faut s'assurer du délai et des conditions de transport des prélèvements. Il faut aussi prendre en considération la nature de bactéries isolées pour déterminer si elles sont responsables de l'infection (**Toumi et al., 2011**).
- ✓ Une mauvaise qualité de prélèvement : La qualité de la réalisation des prélèvements (après nettoyage de la lésion) est essentielle pour mettre en évidence les bactéries potentiellement pathogènes et pour diminuer au maximum l'isolement des bactéries cutanées commensales (**Grosjean et al., 2009**). Les prélèvements superficiels à l'écouvillon sont moins précis et souvent contaminés par une flore banale de surface (les diphtéroïdes, *Staphylococcus epidermidis*) (**HaVan, 1994**).
- ✓ La présence de pus sans germe cultivable peut être expliquée par l'antibiothérapie qui affaiblie les germes et les rend non cultivables (**Chablou, 2011**). Dans certains cas, il existe de germe exigeant, qui nécessite des milieux de culture spéciaux et une atmosphère spéciale (**Denis et al., 2007**).

Chez le diabétique, l'infection s'installe sur un pied déjà fragilisé par la neuropathie, l'artériopathie et l'ostéoarthropathie (**Dumont et Richard, 2011**). Toute plaie infectée du pied diabétique est une urgence médicale et non chirurgicale (**Grimaldi, 2005**).

La répartition de nos résultats selon le sexe a montré que le pied diabétique est plus fréquent chez les hommes avec un taux de 81,53% que chez les femmes avec un taux de 18,46%, ceci pourrait être expliqué par le fait que les femmes sont plus assidues et minutieuses dans les soins. Nos résultats concordent avec ceux de **Magalon et al. (2003)** ont noté une prédominance

masculine, car l'homme est le plus exposé à des facteurs favorisant l'apparition des ulcères : chaussures et gestes inadaptés, le manque d'hygiène, l'immunodépression, la dénutrition, la complication neuropathique et artériopathie. D'après les travaux de **Ferdenrich et al. (2004)** le tabac intervient dans l'installation et la progression de l'artériopathie des membres inférieurs. L'étude de **Richard et Schuldiner (2008)** a permis de mettre une association causale directe entre le tabagisme et les ulcères du pied ou les amputations.

D'après les études rétrospectives effectuées par plusieurs auteurs **Lecornet (2007)** ; **Berrouiguet (2008)** ; **Pedgrift-Krzywicki (2011)** ; **Nakkab (2011)** ; **Nibouche Hattab (2013)** ; **EL allali (2015)** : ont montré que le sexe masculin est le plus touché par le pied diabétique. Contrairement aux résultats de **Gangaly (2010)** en Mali, le sexe féminin est dominant avec un taux de 65%. La prédominance masculine peut être expliquée par le fait que chez les femmes après l'âge de 40 ans la ménopause entraîne la diminution des hormones sexuelles qui ont une relation avec le système nerveux, ce qui influence sur l'activité pancréatique (**Pacaude, 1995**) et que les femmes fument moins que les hommes (**Pedgrift, 2011**).

Concernant l'âge, la tranche d'âge [45-65 ans] est la plus touchée par le problème du pied diabétique avec un taux de 64,61% que ce soit chez les hommes ou les femmes. L'âge avancé est un facteur classique de risque vasculaire ou par le fait que les diabétiques âgés vivent, dans la plupart des cas, seuls et leur acuité visuelle est diminuée, ils vont être donc victimes de traumatismes au niveau des pieds (**Qassimi, 2015**). Nos résultats sont similaires avec ceux de **Lushiku (2006)** qui a annoncé que dans les pays en développement, c'est la tranche d'âge comprise entre 44 et 65 ans qui est la plus concernée. Dans les pays développés, ces augmentations concernent la population de plus de 65ans, tandis que dans les pays en développement, c'est la tranche d'âge comprise entre 44 et 65 ans qui est la plus concernée. L'étude réalisée par **Yahia-Berrouiguetal (2008)** au CHU de Tlemcen a montré que les patients diabétiques de plus de 60 ans représentent un taux de 57,54%. D'autres études prospectives effectuées en Algérie à l'EPH d'Ain Taya ont montré que la moyenne d'âge des patients présentant des lésions de pied était $53,4 \pm 8.9$.

Selon **Perlemuter (2008)**, l'apparition des troubles trophiques des membres inférieurs est favorisée par la neuropathie diabétique, qui atteint surtout les diabétiques âgées de plus de 50 ans et/ou dont la maladie évolue depuis plus de 20 ans.

La répartition de nos prélèvements selon le type du diabète a montré que les diabétiques de type II (DNID) est le plus exposé aux infections des pieds diabétiques avec une prévalence de

95,38% que les diabétiques de type I (DND). Nos résultats sont similaires à ceux de **Grimaldi (2005)**.

Une étude réalisée en Algérie (Sétif) par **Hannat et al. (2008)** a montré que 90% des lésions du pied diabétique sont de type II. **Annek et al. (2012)** ont constaté aussi que le DNID représente 90% de l'ensemble des formes de diabète, il est lié du point de vue épidémiologique à l'obésité, au manque d'exercices physiques et à l'alimentation. Ainsi que au tabagisme (**Krzywicki, 2011**).

Au cours de notre étude sur les 65 patients étudiés, nous avons enregistré 38 patients hospitalisés soit une fréquence de 58,46%. Selon **Horde (2009)**, les lésions des pieds sont la principale cause d'admission à l'hôpital des personnes atteintes de diabète. Dans le CHU de Sétif, les diabétiques présentent 16,69% de l'ensemble des hospitalisations dont 17,11% sont admis pour des lésions trophiques du pied (**Hannat et al., 2006**). D'après la durée d'hospitalisation qui peut varier de 14 à 45 jours peut engendrer l'augmentation des lésions du pied diabétique (**Grimaldi, 2005**).

L'examen bactériologique réalisé a montré le plus souvent un polymicrobisme avec un taux de 55,35%, ce résultat est presque équivalent aux résultats de **Lushiku (2006)** qui ont montré que l'infection du pied diabétique est souvent polymicrobienne et inclut les bacilles à Gram négatif, positif et les anaérobies. Par contre ceux obtenu à l'hôpital de Blida par **Nakkab (2011)** a enregistré un taux de 59,15% des cultures mono microbiennes.

Selon le plan bactériologique, nous avons recensé 90 germes isolés, qui se répartissent entre les bacilles à Gram négatif (BGN) 58,88%, cocci à Gram positif 41,11%. Les BGN sont responsables de la majorité des infections du pied avec une prévalence de 64,4% (**Hannat et al., 2008**). Les bacilles à Gram négatif sont tous potentiellement susceptibles de coloniser ou d'infecter des lésions cutanéomuqueuses ainsi que la plupart des dispositifs médicaux. Ces résultats sont équivalents à ceux de **Nakkab (2011)** avec un taux de 57,69 % de BGN au sein d'EPH de Blida. Les bacilles à Gram négatif sont pathogènes en milieu hospitalier (**Laissine, 2000**). Les Enterobacteriaceae occupent la première place avec un taux de 56,66%. D'après **Berche et al. (1991)** les Enterobacteriaceae sont des bactéries opportunistes qui provoquent des infections cutanées chez les malades immunodéprimés ou après une intervention chirurgicale. D'autres études ont montré aussi une prédominance des Entérobactéries avec un pourcentage de 76,48% et un taux 2,22% de *Pseudomonas aeruginosa* qui a été trouvée au sein de CHU de Sétif (**Hannat et al., 2008**). Les *Pseudomonas* sont facilement retrouvées suite à des hospitalisations de longue durée (**Bernard et Chidia, 2006**). C'est une bactérie opportuniste se distingue des autres

sévissant à l'hôpital par sa pathogénicité relativement à l'égard des sujets immunodéprimés (diabète) (**Crnich et al., 2005**).

Concernant les cocci à Gram positif, qui représentent une fréquence de 41,11% sur les 65 cas prélevés dominés par *Staphylococcus aureus* avec un taux de 33,33%. D'après **Toumi et al. (2011)** lors d'infections qu'elles soient superficielles ou profondes, les cocci à Gram positif sont les plus fréquentes de façon isolée ou au sein d'une population polymicrobienne. Les *Staphylococcus* sont parmi les germes les plus fréquemment observés dans les infections du pied diabétique (**Lushiku, 2006**). Ceci peut être dû à ses caractères de virulence qui rendent ces germes résistants aux moyens de défense de l'organisme et à des multiples antibiotiques (**Ferron, 1992**).

Les *Staphylococcus* ont généralement une relation bénigne ou symbiotique avec leurs hôtes, mais ils peuvent devenir pathogéniques après avoir trouvé une porte d'entrée dans le tissu de l'hôte à travers un traumatisme de la barrière cutanée, l'inoculation d'une substance par une aiguille ou l'implantation directe d'appareils médicaux (**Irlinger, 2008**).

Les *Streptococcus* occupent la deuxième position avec un taux de 7,77%. Parmi les espèces les plus fréquentes des entérobactéries : *Proteus mirabilis* avec un taux de 23,52%. C'est un germe hospitalier responsable des infections nosocomiales. Les bacilles aérobies à Gram négatifs essentiellement de la famille des entérobactéries (*Proteus mirabilis, Escherichia coli, Klebsiella sp*) se rencontrent généralement en cas d'infections chroniques ou déjà traitées (**Bernard, 2011**).

La résistance des bactéries aux antibiotiques est devenue une véritable préoccupation (**Akoua et al., 2004 ; Guessenn et al., 2004**). Ce phénomène de résistance aux antibiotiques est général et concerne toutes les espèces bactériennes et ne cesse d'augmenter. Depuis le début des années 60, nous assistons à une augmentation du nombre de bactéries résistantes aux antibiotiques, surtout en milieu hospitalier et à l'émergence de nouvelles résistances. Il s'agit d'un problème de santé publique extrêmement préoccupant (**Ben Redjeb et al., 2000**).

Les souches d'Enterobacteriaceae isolées au cours de notre étude ont montré une résistance élevée au β -lactamines tels que la Cefotaxime (CTX) avec un taux de 76,47%, Ceftazidime (CAZ) 94,11%, l'Amoxicilline plus Acide clavulanique (AMC) 64,70%. A la faveur de l'introduction des céphalosporines de troisième génération en thérapeutique, les Entérobactéries sont devenues multirésistantes (**Maiga, 1992**). Les Entérobactéries ont la capacité de produire des bêta-lactamases, enzymes qui inactivent les antibiotiques bêta-lactamines par ouverture du cycle

bêta-lactame. Ce mécanisme fait partie des mécanismes classiques de résistance bactérienne, comme en font également partie l'imperméabilité membranaire et la modification de la molécule-cible sur laquelle se fixe l'antibiotique. Les gènes de résistance des bêta-lactamases se situent soit au niveau du chromosome bactérien, soit sur des éléments extra-chromosomiques (**Mayer et al., 2000**).

Au cours de notre étude nous avons signalé l'absence totale des BLSE, à noter que les BLSE sont des enzymes qui inactivent les bêta-lactamines, dont font partie les céphalosporines de 3^{ème} et de 4^{ème} génération. En fait, les BLSE sont responsables d'une résistance aux pénicillines, aux oxyimino-céphalosporines (ceftriaxone, cefotaxime, ceftazidime) et aux monobactames (aztreonam). En revanche, elles n'inactivent pas les céphamycines (céfoxitine, céfotetan, etc.), ni les carbapénèmes (imipénème) (**Gold et Moellering, 1996**).

Les 12 souches de *Proteus mirabilis* ont présenté une résistance très élevée à l'Amikacine 91,66%. Malgré que l'action des aminosides repose sur la capacité à inhiber la synthèse protéique en bloquant l'action ribosomale aux différents stades de la traduction, ou encore à introduisant des erreurs dans la synthèse peptidique (**Vakulenko, 2003**).

Les 6 souches de *Morganella morganii* présentent une résistance au Céfotaxime, Chloramphénicol, Céphalosporines de première génération et une sensibilité au Gentamycine, Nos résultats sont similaires avec ceux de **Sinha et al. (2006)** et de **Ndiaye et al. (2010)**.

Les 2 souches de *Pseudomonas aeruginosa* ont présenté une résistance totale vers l'Aztréonam, l'Imipénème, cette résistance aux β -lactamines est liée à une faible perméabilité membranaire aux β -lactamines, due à la taille insuffisante des porines (**Poole, 2004**). Tandis qu'une sensibilité totale de la Gentamycine. La résistance à l'imipénème est souvent liée à une perte de la porine D2 (OprD) et couplé à une faible hydrolyse par la céphalosporinase périplasmique (**Bricha et al., 2009**). Selon **Van Delden et Iglewski (1998)** la pathogénie de *Pseudomonas aéruginosa* est liée à la production de nombreux facteurs de virulence membranaires et extracellulaires. Les facteurs de virulence sont des molécules qui permettent à la bactérie de survivre et de se multiplier dans différents microenvironnements, en particulier chez l'hôte.

Les 51 souches des *Staphylococcus aureus* ont présenté une résistance à la Pénicilline. La pénicillinase plasmidique est une protéine enzymatique capable d'hydrolyser le cycle β -lactame et

donc de rendre inapte l'antibiotique. La pénicillinase staphylococcique est le produit d'expression du gène blaZ qui est porté par un plasmide ou un transposon (**Katayama et al., 2000**).

Nos souches de *Staphylococcus* sont aussi résistantes aux tétracyclines. Ces antibiotiques agissent au niveau de la sous-unité 30S du ribosome en inhibant l'élongation peptidique. Ils ont une action bactériostatique envers le *S. aureus* (**Taylor et al., 1995**).

Plusieurs facteurs expliquent la fréquence et la gravité des infections à *S. aureus*, Le caractère ubiquitaire de la bactérie, la multi résistance de certaines souches aux antibiotiques. Il s'agit des facteurs de virulence. Le staphylococcus a en effet des capacités de sécrétion de facteurs d'adhésion, d'enzymes de résistance ou encore de toxines (**Davido, 2010**). La Vancomycine, la Rifampicine, Cefoxitine, Oxacilline, Fosfomycine, Acide fucidique, Chloramphénicol, Amikacine sont les antibiotiques les plus efficaces sur les 51 souches isolées de *S.aureus* avec une sensibilité qui varie de 70 à 96,66 %.

40% de *S.aureus* sont des MRSA ((Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*), Selon **Monnier (2010)**, 20 à 30% des patients diabétiques sont porteurs des MRSA. La prévalence de colonisation des MRSA dans des centres de soins de longue durée pouvait varier de 9 à 58% (**Cretnik et al., 2005 ; Stone et al., 2012**).

Le MRSA est un *Staphylococcus aureus* résistant aux pénicillines semi-synthétiques, dont la méthicilline. Cette résistance est liée à la synthèse d'une protéine de liaison à la pénicilline, la PLP2a (**Tenover et al., 2006**) qui entraîne une résistance à l'ensemble des bêta-lactamines disponibles. PLP2a est une peptidoglycane-transpeptidase qui n'a qu'une faible affinité pour les bêta-lactamines et permet la poursuite de la synthèse de la paroi bactérienne, même lorsque les quatre PLP classiques (1, 2, 3 et 4) sont inactivées par les bêta-lactamines. La synthèse de cette PLP2a est sous le contrôle du gène *mec*, localisé sur un élément génétique mobile chromosomique, appelé *Staphylococcal* cassette chromosome *mec* (**Katayama et al., 2000**).

Les 7 souches de streptococcus ont montré une sensibilité vers la Rifampicine, la Céfotaxime, la Pénicilline, la Vancomycine, l'Érythromycine, le Chloramphénicol et l'Ofloxacine. Les streptococcus présentent une résistance naturelles aux aminosides à bas niveau (**Avril et al., 2000**). D'après **Pourriat et Martin (2005)**, la Gentamycine est préférée aux autres aminosides en raison des hauts niveaux de résistance. Selon **Moussaoui et Tis (2010)** concernant l'étude de l'antibiorésistance des Streptococcus ont remarqué la présence d'une grande sensibilité à

l'Ampicilline, Chloramphénicol, Vancomycine avec un taux de 100%. Selon **Ferron (1989)** les streptococcus présentent une résistance naturelle aux sulfamides, tétracyclines et macrolides.

2.1. Evaluation de l'activité Antibactérienne des huiles essentielles testées

L'évaluation de l'activité inhibitrice a été effectuée par la méthode de diffusion sur gélose (aromatogramme). Les mesures des diamètres des zones d'inhibition ont pour but de mettre en évidence l'action des huiles essentielles sur les souches microbiennes isolées et testées. A cet effet, une échelle de mesure de l'activité antimicrobienne émise par **Meena et Sethi (1994)** et **Ela et al. (1996)**, répartissant les diamètres des zones d'inhibition (DZI) en 4 classes : Fortement inhibitrice : $DZI > 28$, Modérément inhibitrice $DZI : [16-28]$, Légèrement inhibitrice $DZI : [10-16]$, Non inhibitrice $DZI < 10$.

2.1.1. L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Lavandula angustifolia*

D'après l'aromatogramme, les résultats obtenus ont montré une grande activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Lavandula angustifolia* vis-à-vis les souches de *Staphylococcus aureus* et *Proteus mirabilis*, par contre une activité antibactérienne modérée pour l'ensemble des Enterobacteriaceae.

Nos résultats sont similaires à ceux d'**Elharas et al. (2013)** et de **Chahboun et al. (2015)** qui ont montré une forte activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Lavandula angustifolia* sur les *Staphylococcus aureus*.

A noter également que les DZI (45mm) obtenues au cours de notre étude sont plus élevées par rapport à ceux obtenus lors des études effectuées à l'EPH de Blida (**Ameur et Hocine, 2015**) et à l'EPH de Mustapha Bacha (**Hadjer, 2016**) qui ont confirmé une grande activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Lavandula* sur les *Staphylococcus aureus* avec des DZI de 38,5mm et 34mm respectivement. Cette activité antibactérienne peut être expliquée par la présence de principe actif qui lui conféré ce pouvoir bactéricide. D'après **Maihebiau et al. (1994)** l'activité antibactérienne de cette huile essentielle est due principalement à sa richesse en constituants suivants : l'eucalyptol, le camphre, le bornéol et les esters. En effet, tous ces composés sont connus pour leurs propriétés antimicrobiennes.

Les résultats de l'aromatogramme ont montré que les bactéries à Gram négatifs apparaissent plus résistantes à celles de Gram positifs. Ceci pourrait être expliqué par le fait que les bactéries à Gram positifs possèdent des dispositifs structuraux qui sont plus susceptibles aux

huiles essentielles (**El haras et al., 2013**). Cela aussi est dû principalement à la différence de structure de leur paroi externe, ainsi que la membrane des bactéries à Gram négatifs est plus riche en lipo-polysaccharides et en protéine par rapport de celles à Gram positifs qui rendent ces bactéries plus hydrophiles, et empêchent les terpènes de s'adhérer à la structure en cause (**Marzouk et al., 2006**). Cette activité est attribuée principalement aux composants chimiques de l'huile tels que le Linalylacetate et linalol conformément aux travaux de **Pattnaik et al. (1997)** qui révèlent l'inhibition de 17 souches bactériennes testées (Gram positifs et négatifs) et 10 champignons microscopiques. Le linalol et l' α -terpinéol sont très actifs sur les bactéries à Gram positifs et même sur celles antibio-resistantes (**Kotan et al., 2007**).

Plusieurs travaux notamment ceux de **Hammer et al. (1999)**; **Souza et al. (2006)**; **Derwich et al. (2010)** et **Bari et al. (2010)** ont confirmé une grande résistance des bactéries à Gram négatifs par rapport aux Gram positifs. Ce constat peut être dû à l'action de certains composés volatiles de l'huile essentielle étudiée d'une part et à la présence d'une couche lipopolysaccharide (LPS) chez les bactéries à Gram négatif qui pourrait fonctionner comme barrière efficace contre n'importe quelle biomolécule entrant d'autre part (**Inouye et al., 2001**; **Bagamboula et al., 2004**).

Dans la présente étude, les espèces suivantes : *Pseudomonas aeruginosa* (S1), *Proteus penneri*(S1), *Citrobacter koseri* (S2), *Citrobacter freundii*(S1) *Citrobacter braakii* (S1) et *Orchobacterium anthropi* (S1) se sont avérées les plus résistantes à l'action antibactérienne de l'huile essentielle de *Lavandula angustifolia* avec des DZI qui égalent à 0mm. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par **Chahboun et al. (2015)** ont montré que l'huile essentielle de la lavande extraite est active sur toutes les souches testées à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa* d'où ils ont noté une résistance totale de ces souches (DZI= 0mm), tandis que nos résultats ne sont pas similaires à ceux obtenus par **El haras et al. (2013)** qui ont montré que les souches de *Pseudomonas aeruginosa* ont présenté une faible activité inhibitrice avec des DZI qui varient de 7,8mm à 21,8mm. Nos résultats ne ressemblent pas aussi à ceux obtenus par **Ameur et Hocine (2015)** d'où ils ont noté une forte activité antibactérienne de l'huile essentielle de la lavande vis-à-vis *Proteus penneri* avec un DZI égale à 31,5mm.

D'après l'aromatogramme *Escherichia coli* (S1), *Enterobacter sakazakii* (S1), *Proteus vulgaris* (S2) et *Serratia odorifera* (S1) se sont avérées peu sensibles, malgré qu'elles soient Gram négatifs. Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par **Chahboun et al. (2015)** ont montré que les micro-organismes étudiés n'ont pas manifesté la même sensibilité vis-à-vis de l'huile

essentielle de *Lavandula angustifolia*. Il est à noter qu'*Escherichia coli* et le genre *Enterobacter* ont présenté une vulnérabilité à cette essence d'où les DZI sont respectivement 10mm et 21mm.

Il est postulé que les différents composants chimiques des huiles essentielles montrent différents degrés d'activité contre des bactéries à Gram négatifs et Gram positifs (**Dorman et Deans, 2000**) et que la composition chimique des huiles essentielles peut varier selon plusieurs facteurs intrinsèques (liés à l'espèce, au type de clone, à l'organe concerné, à l'interaction avec l'environnement (type de sol ou climat) et au degré de maturité du végétal concerné, voire au moment de la récolte au cours de la journée), et extrinsèques (en lien avec l'origine géographique de l'espèce , la méthode d'extraction , et la durée du stockage) (**Lahlou, 2004**).

Il est connu aussi que les espèces bactériennes n'ont pas également la même sensibilité vis-à-vis d'un agent antibactérien. De même dans une population bactérienne, il peut exister des différences individuelles de sensibilité. Ainsi, l'action antibactérienne est parfois partielle et après une diminution du nombre de bactéries, il y'a une reprise de la croissance bactérienne (**Dorman et Deans, 2000**). L'activité antibactérienne peut dépendre aussi de la composition du milieu de culture (**Dorman et Deans, 2000**).

2.1.2. L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Salvia officinalis*

En comparant la susceptibilité des différentes souches vis-à-vis de l'huile essentielle de *Salvia officinalis*, nous avons constaté que l'efficacité de l'huile essentielle de la sauge diffère d'une bactérie à une autre.

Pseudomonas aeruginosa est la plus résistante (DZI= 0mm), cependant, *Staphylococcus aureus* est la plus sensible à l'huile essentielle testée avec DZI égale à 25,5 mm. Nos résultats sont en accord avec la littérature selon lesquelles les bactéries à Gram positifs ont montré la plus grande sensibilité vis-à-vis des huiles essentielles (**Russel, 1999 ; Burt, 2004 ; Holley et Patel, 2005 ; de Souza et al., 2005 ; Bakkali et al., 2008 ; Nedorostova et al., 2009**).

Nos résultats concordent aussi avec ceux obtenus par **Djabali et Grine (2016)** qui ont montré une activité antibactérienne nulle de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* sur les *Pseudomonas aeruginosa*, et une activité antibactérienne plus importante de cette essence sur les souches de *Staphylococcus aureus* d'où le DZI égale à 30mm.

La faible activité des huiles essentielles vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa* est en accord avec la littérature qui a montré que cette espèce est généralement peu sensible aux huiles essentielles et antibiotiques en général (Carson et Riley, 1995 ; Arora et al., 1999 ; Hammer et al., 1999 ; Piri, 2005). La résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux huiles essentielles a été déjà signalée par Hayouni et al. (2008) concernant l'essence de *Salvia officinalis* de Tunisie. De même pour les travaux de Delamare et al. (2007) ont montré la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux huiles essentielles de l'espèce de *Salvia officinalis* cultivées en Brésil.

Ce comportement n'est pas surprenant car les souches de *Pseudomonas aeruginosa* possèdent une résistance intrinsèque à une large gamme de biocides, associée à la nature de sa membrane externe. Cette barrière a une capacité de synthétiser et sécréter des agrégats structurés appelés biofilms ou matrice composés de polysaccharides. Ces biofilms forment une barrière physique contre l'entrée d'agents antimicrobiens et elle sécrète aussi un complexe enzymatique extracellulaire qui peuvent dégrader les huiles essentielles (Mann et al., 2000). L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* s'est montrée peu importante sur l'ensemble des bactéries isolées et testées.

D'après les données bibliographiques, les composés chimiques majoritaires (α et β pinène, 1.8 cineole, borneol, limonene, 4-terpinol, α -terpinol) sont les agents responsables de l'activité antibactérienne de *Salvia officinalis* car ils agissent comme dénaturants des protéines (Pelczar et al., 1988). Ils sont actifs sur la plupart des bactéries Gram positifs et Gram négatifs.

Le maximum de l'activité de ces alcools est représenté par 4-terpinol et l' α -terpinol. Le borneol est le moins actif (Dorman et al., 2000). L' α et β -pinène, limonène sont des hydrocarbures aliphatiques monoterpènes, qui ont une activité antimicrobienne modérée sur la plupart des bactéries telles que *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*.

L'essence de *Salvia officinalis* utilisée dans cette étude (DZI= 12mm) est moins active que celle de *Salvia officinalis* de Tunisie rapportés par Hayouni et al. (2008), des diamètres d'inhibition de 20mm sont obtenus vis-à-vis d'*Escherichia coli*, et par Djabali et Grine (2016) avec DZI égale 21mm. Il est probable que ce résultat soit dû à une différence dans la capacité de pénétration des composés actifs présents dans les huiles essentielles et aux facteurs extrinsèques (la méthode d'extraction de l'huile essentielle, et la durée du stockage). Chez les bactéries à Gram négatif, la membrane externe constitue une barrière de perméabilité efficace, le lipopolysaccharide, grâce à ses charges négatives de surface empêche la diffusion des molécules hydrophobes (Nikaido, 2003). Les bactéries à Gram positif sont moins protégées contre les agents

antimicrobiens. Le peptidoglycane n'entrave que la diffusion des poids moléculaire à 50KD (**Hogan et Kolter, 2003**).

En général, le mode d'action des HEs dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane (**Cox et al., 2000 ; Carson et al., 2002**). La principale caractéristique des molécules présentes dans les huiles essentielles est leur hydrophobicité. Elle permet leur solubilisation dans les membranes, ce qui provoque une déstabilisation de la structure et une augmentation de la perméabilité membranaire (**Sikkema et al., 1994**). Ces modifications entraînent une fuite d'ions et de composés intracellulaires (**Carson et al., 2002 ; Ultee et al., 2002**)

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des HEs, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire (**Carson et al., 2002**). De façon générale, il a été observé une diversité d'actions toxiques des HEs sur les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de force motrice de proton, fuite d'électron et la coagulation du contenu protéique des cellules (**Davidson, 1997**). Une inhibition de la décarboxylation des acides aminés chez *Enterobacter aerogenes* a aussi été rapportée par **Wendakoon et Sakaguchi (1995)**. Les HEs peuvent aussi inhiber la synthèse de l'ADN, ARN, des protéines et des polysaccharides (**Cox et al., 1991**).

2.2. La CMI des 2 huiles essentielles de *Lavandula angustifolia* et *Salvia officinalis*

Les résultats de la CMI obtenus au cours de notre étude pour l'huile essentielle de *Lavandula angustifolia* est l'huile essentielle de *Salvia officinalis* soutiennent l'étude de criblage des huiles essentielles effectuée auparavant, par la méthode de diffusion sur gélose (aromatogramme).

Nous avons noté que les valeurs de CMI obtenues par la majorité des bactéries à Gram négatif sont supérieures à 2µl/ml à l'exception d'*Enterobacter sakazakii* (S1) d'où sa CMI égale à 0,25% et *Providencia rettgeri* (S1) d'où sa CMI égale à 0,5%. Cela est dû probablement aux pertes des composés volatils de l'huile essentielle durant le stockage et/ou l'extraction et

également au cours de la période d'incubation quelques composants volatils de l'huile peuvent s'évaporer des milieux de culture, ce qui diminuerait sa concentration, et par la suite son activité antibactérienne

A signaler que les valeurs de CMI de 0,5µl/ml sont enregistrées pour les *Staphylococcus aureus* qui se sont avérées sensibles vis-à-vis à l'huile essentielle de la *lavandula angustifolia*.

Nos résultats concordent à ceux obtenus par **Chahboun et al. (2015)**, ont montré que les souches de *Staphylococcus aureus* sont les souches les plus sensibles à l'huile essentielle de *Lavandula angustifolia*, où ils ont présenté une CMI de 0,01µl/ml, par contre les souches de bactérie à Gram négatifs sont moins sensibles et leur CMI varient de 0,1 à 0,02µl/ml.

Les résultats de la présente étude sont aussi similaires à ceux obtenus par **Hadjer (2016)** qui a montré que les souches de *Staphylococcus aureus* ont été les plus sensibles à l'action de l'huile essentielle de *lavandula*, ou leur CMI est de 0,5µl/ml.

Concernant l'huile essentielle de *Salvia officinalis*, des valeurs de CMI supérieures à 2µl/ml sont enregistrées chez les bactéries à Gram négatifs, à l'exception de *Providencia rettgeri* (S1) d'où la CMI égale à 0,25%, et *Serratia odorifera* (S1). Les bactéries à Gram positifs (*Staphylococcus aureus*) sont sensibles à l'huile essentielle de *Salvia officinalis* avec une CMI de 0,5µl/ml. Nos résultats concordent à l'étude réalisée par **Bektas et al. (2005)** effectuée sur l'huile essentielle de la sauge et à celle de **Mustapha et Bektas (2008)** qui ont confirmé la résistance des bactéries à Gram négatifs vis-à-vis des espèces du genre *Salvia* par rapport aux bactéries à Gram positifs.

Généralement, les huiles essentielles sont médiocrement solubles dans l'eau, ce qui pose beaucoup de problèmes pour étudier leur activité antibactérienne (**Southwell et al., 1993 ; Griffin, 2000**). Il est utile de rappeler que le pouvoir antimicrobien d'une huile essentielle ne résulte pas nécessairement de l'action d'un constituant chimique seul, mais de l'action d'un ensemble de composés qui interagissent entre eux. Donc, des phénomènes de synergie et d'antagonisme entre les différents constituants peuvent être à l'origine d'une activité beaucoup plus prononcée que celle prévisible par les composés majoritaires (**Bouaoun et al., 2007**).

En outre, la méthode d'évaluation de l'activité antibactérienne, l'effet de la matrice biologique, le type et la structure moléculaire des composants actifs, la dose ajoutée, le type des micro-organismes ciblés sont des facteurs pouvant largement influencer l'activité antibactérienne des huiles essentielles (**Malecky, 2007**). Le mécanisme d'action des HES à l'égard des bactéries

n'est pas complètement élucidé mais en pensant qu'il provoque une rupture de la membrane par des composés lipophiles (**Cowan, 1999**).

L'évaluation de l'activité antibactérienne des 2 huiles essentielles de *Lavandula angustifolia* et de *Salvia officinalis* face aux différentes souches bactériennes isolées et étudiées à travers les tests in vitro, a montré une énorme hétérogénéité dans les résultats obtenus.

Les souches bactériennes testées ont réagi plus ou moins bien selon la concentration de l'huile essentielle étudiées. Généralement les concentrations les moins élevées ont provoqué un effet inhibiteur plus important de la majorité des souches. Ces huiles semblent être plus efficaces que les antibiotiques utilisés. Parmi toutes les concentrations utilisées, les huiles essentielles diluées à 0,25% et 0,5% semblent plus efficaces par rapport aux autres concentrations vis-à-vis quelques germes isolés et étudiés.

Conclusion

Les lésions du pied diabétique représentent un problème majeur de santé publique, non seulement à l'échelle nationale mais aussi mondiale, de part leur prévalence, morbidité et le cout économique qu'engendre leur prise en charge. L'infection du pied chez les diabétiques est non seulement à l'origine d'hospitalisations fréquentes mais peut également mettre en jeu le pronostic vital et, plus souvent, fonctionnel quand la décision d'une amputation d'un membre inférieur s'impose.

D'après la présente étude, nous avons résumé les principaux facteurs agissant sur le pied diabétique :

- Les hommes sont les plus exposés aux infections du pied diabétique.
- Les patients âgés entre 45 et 65 ans sont les plus infectés.
- L'infection est plus fréquente chez les diabétiques de type II.
- D'après cette étude, les bacilles à Gram négatif sont les germes les plus responsables des infections du pied diabétiques, d'où la majorité des cultures sont de nature polymicrobienne.

L'étude du profil de la résistance des germes isolés a montré une grande résistance des Entérobactéries aux β -lactamines, des *Staphylococcus aureus* à la pénicilline et à la tétracycline. Parmi les *Staphylococcus aureus*, les MRSA (Méthicilin-resistant *Staphylococcus aureus*) sont les plus isolées.

L'évaluation qualitative et quantitative de l'activité antibactérienne, par la méthode de diffusion des disques sur gélose nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien des huiles essentielles de *Lavandula angustifolia* et *Salvia officinalis* vis-à-vis aux bactéries isolées des pieds diabétiques.

Les résultats trouvés dans cette étude sont intéressants puisqu'ils démontrent le pouvoir antibactérien des deux huiles essentielles testées et que l'effet antibactérien de l'huile essentielle de *Lavandula angustifolia* est meilleur que celui de *Salvia officinalis* sur la majorité des souches bactériennes isolées et étudiées notamment les *Staphylococcus aureus*.

Les huiles essentielles de *Lavandula angustifolia* et *Salvia officinalis* présentent une forte activité antibactérienne avec des valeurs de CMI plus faible égales à 0,5µl/ml sur les souches de *Staphylococcus aureus* par rapport à la majorité des espèces isolées du pied diabétique.

Les résultats trouvés montrent l'inefficacité de ces huiles essentielles testées sur les souches de *Pseudomonas aeruginosa*.

De l'activité antibactérienne évaluée, il ressort que les huiles essentielles testées possèdent un pouvoir antibactérien considérable sur les germes pathogènes isolés et étudiés. Cette activité antibactérienne est due à la richesse de ces huiles essentielles en substances inhibitrices. La puissance de cette activité prouve de plus en plus l'efficacité de ces substances face aux bactéries pathogènes. D'autre part, de nombreuses bactéries ont récemment développé une résistance à la plupart des antibiotiques.

Recommandations

Dans le but de rechercher de nouveaux agents naturels antibactériens aux intérêts thérapeutiques, les huiles essentielles des plantes médicinales : *Lavandula angustifolia* et *Salvia officinalis* ont une activité antibactérienne qui leurs permette de les mettre parmi les plantes qu'il faut les valoriser.

- Il sera intéressant de continuer ces travaux notamment sur d'autres bactéries pathogènes, afin de confirmer l'efficacité ou non de ces huiles essentielles.
- Il sera également souhaitable l'association de ces deux huiles essentielles dans les prochains travaux pour la mise en valeur de l'effet synergique des huiles essentielles de *Lavandula angustifolia* et *Salvia officinalis* contre les bactéries pathogènes, qui pourrait avoir une activité antibactérienne plus importante car ces deux huiles essentielles peuvent donc servir dans la prévention contre les infections profondes, le traitement de certaines maladies infectieuses, et combattre les bactéries multi-résistantes aux antibiotiques usuelles.
- Afin d'améliorer ce travail, une étude physico-chimique sera nécessaire pour déterminer le principe actif et la recherche d'autres composants chimiques de *Lavandula angustifolia* et *Salvia officinalis* et une étude statistique sera aussi recommandée.
- Il sera souhaitable également d'établir une formule biologique, une crème d'application cutanée à base de ces huiles essentielles de *Lavandula angustifolia* et *Salvia officinalis* qui sera compléter par une étude toxicologique.
- Nous recommandons de compléter cette étude par des essais d'application cutané sur des lésions du pied diabétique chez les patients atteints pour évaluer et démontrer les effets de ces huiles essentielles sur l'évolution de l'infection.

Références bibliographiques

A

Ameur M., Hocine S. (2015): Identification et résistance aux antibiotiques des bactéries responsables du pied diabétique, Université Blida -1-thèse de Master. p: 3-14.

Arora D., Kaur J. (1999): Antimicrobial activity of spices. International Journal of Antimicrobial agents, (12). p: 257-262.

Avril J-L., Dabernat H., Denis F., Monte H. (2000): Bactériologie clinique, 3^{ème} édition : Ellipses. Paris. p: 275.

B

Bagamboula C-F., Uyttendaele M., Debevere J. (2004): Inhibitory effect of thyme And basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene to ward *Shigella Sonnei* and *S. flexneri*. Food Microbiology. p: 33-42.

Bakkali F., Averbeck K., Idaomar M. (2008): Biological effects of essential oils, Food and Chemical Toxicology, (46). p: 446-475.

Baran P., Ozdemir C., Aktas K. (2010): Structural investigation of the glandular trichomes of *Salvia argentea*. Biologia , 65 (1). p: 33-38.

Bari M-A., Islam W., Khan A-R., Mandal A. (2010): Antibacterial and antifungal activity of *Solanum torvum* (Solanaceae). Int. J. Agric. Biol, p: 386-390.

Baricevic D., Bartol T. (2000): Pharmacology; The biological/pharmacological activity of the *Salviagenus*. Dans E. K. Spiridon, SAGE: The genus *Salvia* Athens, Greece: Overseas Publishers Association. p: 143-184.

Baudry C., Brézelle H. (2006) : Microbiologie-Immunologie : exercices d'application ,2^{ème} édition .p :56-58.

Beaudeau J-L., Dominique B-R. (2005): Radicaux libres et stress oxydant : Aspects biologiques et pathologiques. Edition médicales. Internationales . p: 550 .

Bektas T., Dimitra D., Atalay S., Munevver S., Moschos P. (2005): Antimicrobial and antioxidant activities of essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller. Food Chemistry, (90). p: 333-340.

Bellakhdar J. (1997) : La pharmacopée marocaine traditionnelle. p: 764.

Benjilali B., Tantaoui-Elaraki A., Ismaïli-Alaoui M., Ayadi A. (1986): Méthode d'études des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. Plant Médicinal Phytotherapy, (20). p: 155-167

Benkherara S. (2010): Activité bactéricide des huiles et des flavonoïdes isolés d'une plante médicinale du Nord-Est Algérien: La sauge officinale ou *Salvia officinalis* L. Mémoire de Magister, Laboratoire de biologie végétale et environnement .université BADJI Mokhtar -Annaba.

Ben Redjeb S., Kechrid A., Ben Hassen A., Hammami A., Mahjoubi F., Boutiba I., Jouaihia W., Thabet L., Znazen A., Kammoun A., Mezghanni S., Triki O. (2000): Antibiotic resistance among E. coli isolates from urinary tract infections (1999-2000): a multicenter study. Tunis Med.81 ,(6) .p:390-4.

Bernard L., Chidia C. (2006) : Médecine et maladies infectieuses, Edition Elsevier Masson Paris .p: 28-44.

Berrouiguet Y., Meguenni K., Brouri M. (2008): Les plaies du pied chez le diabétique : Épidémiologie et prise en charge au CHU Tlemcen, Diabetes & amp; Metabolism, Volume 34, N°3. p: 74.

Bevilacqua S. (2011): Evaluation de l'impact d'une équipe opérationnelle en infectiologie sur la consommation et le cout des antibiotiques au CHU de Nancy. Thèse pour l'obtention du titre de docteur de l'université Henri Poincare. Mention : « Science de la vie et de Santé ».

Bocq-Callberg, C-M., Dusart J. (2007): Microbiologie. Prescott., Harley et Klein, 2^{ème} édition française. p : 818.

Bondi D., Cianci P., Geraci C., Giuseppe R. (1993): Antimicrobial activity and chemical composition of essential oils from Sicilian aromatic plants. Flavour Frag J , (8). p: 331-7.

Bouaoun D., Hilan C., Garabeth F., Sfeir R. (2007): Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'une plante sauvage *Prangos asperula* Boiss. Phytothérapie ,(5). p: 129–134.

Boulton A-J., Vileikyte L., Ragnarson-Tennvall G., Apelqvist J. (2005): The global burden of diabetic foot disease. Lancet .p: 366.

Burt S. (2004): Essential oils , their antibacterial properties and potencial applications in foods- a review .International Journal Food Microbiology,(94). p: 223-253.

C

Carle S. (2009): Les résistances aux antibiotiques: Un enjeu de santé public important pharmactuel, vol 42 supplément 2 décembre 2009. p : 10.

Carson C-F., Mee B-J., Riley T-V. (2002): Mechanism of Action of *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil on *Staphylococcus aureus* Determined by Time-Kill, Lysis, Leakage, and Salt Tolerance Assays and Electron Microscopy 46 ,(6). p: 1914–1920.

Cavanagh H-M.,Wilkinson J-M. (2002): Biological activities of Lavender essential oil. Phytotherapy Research 16 ,(4). p: 301-308.

Chahboun N., Esmail A., Abed H. (2015): Evaluation de l'activité bactériostatique d'huile essentielle de la *Lavandula Officinalis* vis-à-vis des souches d'origine clinique résistantes aux antibiotiques .ISSN : 2028-2508, CODEN: JMESC� , (4). p : 1186-1191.

Chakib M. (2011): Prévalence du diabète en Algérie : La valse des chiffres Santé-Mag – magazine mensuel de la santé, N°01 31.

Chemloul F. (2014): l'étude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Lavandula angustiolia* de la région de Tlemcen. Master agronomie.Université Abou beker Belkaid,Tlemcen .

Chao S-C., Young D-G., Oberg G-J. (2000): Screening for inhibitory activity of Essential Oils on selected Bacteria, Fungi and Viruses. J, Essent OilRes , vol12. p: 639-649.

Chauchard M-C., Cousty-Pech F., Martini J., Hanaire-Broutin H. (2001) : Le pied diabétique. La Revue du Praticien, (51). p: 1788-1792.

Chu C-J., Kemper K-J., Catherine J. (2001): Lavender (*Lavandula spp.*). Longwood Herbal Task Force. Boston. p:1-32.

Clareton N. (1999) : La Lavande, *Lavandula angustifolia* Mill. Thèse de doctorat : UFR des sciences pharmaceutiques et biologiques, Université de Montpellier. p: 161.

Codjo H., Adoukonou T-A., Wanvoegbe A., Dohou H., Bankolé C., Alassani A., Dovonou C-A., Houénassi D-M. (2016) : Prévalence de l'artériopathie oblitérante des membres inférieurs et facteurs associés chez les diabétiques suivis en milieu hospitalier à Parakou en 2013, Annales de Cardiologie et d'Angéiologie , Ed. Elsevier-SAS, France. p: 2.

Cowan M- M. (1999): Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microbiol. Rev , (12). p: 564-582.

Cox S-D., Mann C-M., Markham J-L., Bell H-C., Gustafson J-F., Warmington J-R., Wyllie S-G. (2000): The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Malaleuca alternifolia* (tea tree oil). Journal of Applied Microbiology. p: 170-175.

Cretnik T-Z., Vovko P., Retelj M. (2005): Prevalence and nosocomial spread of MRSA in a long term care facility in Slovenia .Infect control Hosp epidemiol .p:184-90.

Crouzilles C. (2012) : Infectiologie et hygiène - Gestion des risques et soins infirmiers : Unités d'Enseignement ,(2). p: 4-10.

D

Danan C., Aurore P. (2006): Usage vétérinaires des antibiotiques, bactérienne et conséquence pour la santé humaine. p : 10.

Davido B. (2010) : Etude de la prise en charge ambulatoire des infections cutanées communautaires à staphylocoque doré, Université Denis Diderot (Paris VII). p :15.

Davidson P-M. (1997): Methods for testing the efficacy of food antimicrobial, Food Technology. p: 148-155.

Delamare A-P-L., Moschen-Pistorello I-T., Artico L.,Atti-Serafini L.,Echeverrigaray S. (2007) : Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L. cultivated in south Brazil , Food Chem, (100). p: 603-608.

Delarras C. (2007): microbiologie pratique pour le, laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. . Edition Lavoisier. p: 110-129.

Delarras C. (2014). Pratique en microbiologie de laboratoire Recherche de bactéries et de levures -moisissures, Éditions Lavoisier, Paris. p : 110

Denis F., Cécile M., Martin C., Bengen E., Quentin R. (2007): Bactériologie médicale Technique usuelles. Edition Masson, Paris. p: 81-65

Denis P. (2002) : Guide pratique de podologie. Annoté pour le diabétique, Presses de l'Université du Québec. p:141-142.

Derwich E., Benziane Z., Boukir A. (2010): GC/MS Analysis and antibacterial activity of the essential oil of *Mentha pulegium* grown in Morocco. Res. J. Agric. & Biol Sci. p: 191-198.

Djabali W., Grine M. (2016): Evaluation de quelques activités biologiques de l'huile essentielle et l'extrait aqueux de *Salvia officinalis* L (la sauge), Université Blida -1-, Thèse de Master .p : 32-43.

Dorman H-J- D., Deans S-G. (2000): Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. p: 308-316.

Ducel G., Fabry J., Nicole L. (2002): Prévention des infections nosocomiales Guide pratique. 2^{ème} Edition .p : 80.

Dumont I., Richard J-L. (2011) : Groupe International de Travail sur le Pied Diabétique Consensus International sur la Prise en Charge et la Prévention du Pied Diabétique. p:110.

Dupont F., Guignard J-L. (2007), systématique moléculaire, Issy-les Moulineaux: Masson. p : 285.

E

El allali B. (2015) : Prise en charge chirurgicale du pied diabétique Thèse n°55 Université Mohammed V faculté de médecine et de pharmacie Maroc. p : 257.

Ela M-A., El-shaer N-S., Ghanem N-B. (1996): Antimicrobial evaluation and chromatography analysis of some essential and fixed oils. Pharmazie, (51). p : 993-995.

Elharas K., Daagare A., Mesfioui A., Ouhssine M. (2013) : Activité antibactérienne de l'huile essentielle des inflorescences de *Laurus nobilis* et *Lavandula angustifolia*. Afrique Science 9 ,(2). p : 134-141.

Essawi T., Srour M. (2000): Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. Journal of Ethnopharmacology , (70). p: 343-349.

F

Fajans S-S. (1998):.Revisedetiologic classification of diabetes. Diabetes Care. (21). p: 466-467.

Ferreira-Maldent N., Maillot F., Guilmot J.-L. (2005) : Le pied du diabétique : attention, danger ! Podologie. , Edition Elsevier Masson. p: 800.

Ferron A. (1998): Bactériologie médicale 13^{ème} édition, Edition C et R, la Madeleine France. p: 167.

G

Game F., Jeffcoate W. (2004): MRSA and osteo myelitis of the foot in diabetes. Diabet. Med. (21). p: 255-270.

Gaw A., Murphy M-J., Cowan R-A., O'reilly D.St. J., Stewart M-J., Shepherd J. (2004): Biochimie Clinique. Ed. Elsevier-SAS, France. p: 30-58-60.

Gerding D-N. (1995): Foot infection in diabetic patients: the role of anaerobes. Clin. Infect. Dis. (20). p : 8-283.

Girault M., Bougeon J. (1971) : L'aromatogramme. Les Cahiers de biothérapie , N°29.p :110.

Goëb P. (2005) : L'aromathérapie au service de votre bien-être [54 huiles essentielles, 8huiles végétales]. éd LRK. Cugy (Suisse). p:160.

Got I. (2001): Sur la nécessité d'une approche multidisciplinaire du pied diabétique. Journal des maladies vasculaires. Vol 26, N°2. p: 130-134.

Griffin S. (2000): Aspects of antimicrobial activity of terpenoids and the relationship to Their molecular structure. Doctorante thesis.Sydney , University of Western Sydney, Australia.

Grimaldi A. (2005) : Traité de diabétologie. Ed. Flammarion, Paris. p: 1-116.

Grunfeld C. (1991): diabetic foot ulcers :etiology,treatment and prevention ,Adv Int Med 37 .p:103.

Guillausseau P-J., Michelin M-L. (2003) : Physiopathologie du diabète de type 2. La Revue de Médecine Interne (24). p: 730-737.

H

Hadjer Zineb Wassila. (2016) : Effet antibactérien de l'huile essentielle de *Lavandula Angustifolia* vis-à-vis les bactéries isolées du pied diabétique .CHU Mustafa Bacha. Université de Saad Dahleb. p: 36.

Hammer K-A., Carson C-F., Riley T-V. (1999) : Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. Journal of Applied Microbiology, 86, Issue 6. p: 985-990.

Hannat S., Khettabi S., Chermat R., Nechadi A., MalekR. (2008): lésions trophiques du pied diabétique a propos de 236 cas. Médecine Interne, Centre Hospitalier Universitaire de Sétif, Algérie. Elsevier Masson SAS.

Hartmann A., Ha Van G. (2014) : Diabétologie, Edition Elsevier Masson. p: 286.

Ha Van G. (2014) : Le pied diabétique. Revue du rhumatisme monographies, Edition Elsevier Masson volume (81).p :192-197.

Ha Van G. (2008): Le pied diabétique, Collection abrégés, Edition Elsevier Masson. p : 7.

Hayouni E-A., Chraief I., Abedrabba M., Leveau J-Y., Mohammed H., Hamdi M. (2008): Tunisian *Salvia officinalis* L. and *Schinus molle* L. essential oils: their chemical compositions and their preservative effects against Salmonella inoculated in mince dbeef meat. Int J Food Microbiol . p: 242-251.

Hellal Z. (2011): Des propriétés antibactériennes et antioxydants de certaines huiles essentielles extraites des Citrus Application sur la sardine (*Sardina Pilchardus*). Magistère, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. p: 1-8-45-78.

Hennen G. (1996) : Biochimie humaines : introduction biochimique à la médecine interne. Édition De Boeck université ; 2^{ème} édition , Paris. p: 457-475.

Hennes G. (2001) : Endocrinologie. Edition DeBoeck 1^{ère} édition. p: 128-160.

Herisson C., Simmon L. (1993): Le pied diabétique. Edition Masson. Paris. p: 14.

Hogan D., Kolter L. (2003): Why are bacteriarferactory to antimicrobials ? Current Opinion in Microbiology, (5). p: 472-477.

Holley R-A., Patel D. (2005): Improvement in shelf-life and safety of perishable compounds from leaf essential oil and smoke antimicrobials . Food Microbiol , (22) .p: 273-292.

I

I.D.F. (Fédération Internationale du Diabète). (2008): Diabetes Facts and Figures. p: 1–6.

I.D.F. (Fédération Internationale du Diabète). (2013) : Diabetes Atlas. 6ème édition . p:113-

I.D.F. (Fédération Internationale du Diabète). (2014): International Diabetes Federation. Diabetes Atlas update poster. 6th edition. Brussels, Belgium. p: 115-135.

Inouye S., Tsuruoka T., Uchida K., Yamaguchi H. (2001): Effect of sealing and Tween 80 on the antifungal susceptibility testing of essential oils, *Microbiol Immunol.* 45,(3). p: 201-8.

Institut National de Santé Publique. (2007) : Transition épidémiologique et système de santé. Enquête nationale santé. Projet TAHINA. Alger: INSP Ed 2007.

Irlinger F. (2008): Safety assessment of dairy microorganisms: coagulase-negative staphylococci. *Int. J. Food Microbiol.* (126). p: 302-10.

J

Jan volák ., jiřisoldata. (1997) : plantes médicinales, dixième édition. p : 319.

Jarlier V., Nicolas M-H., Fournier G., Philippon A. (1988): Extended broad-spectrum beta-lactamases conferring transferable resistance to newer beta-lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev. Infect, Dis* (10). p: 867–878.

Jarlier V. (2001): Bactéries multi résistantes dans les hôpitaux français: bilan en 2000 et perspectives de surveillance nationale dans le cadre du Réseau d'Alerte d'Investigation et de Surveillance des Infections Nosocomiales (RAISIN). CCLINs et enquêtes réalisées en France entre 1993 et 2000.

K

Karaman Ş., Ilcim A., çomlekçioglu N. (2007): composition of the essential oils of *Salvia aramiensis* Rech. Fil. And *Salvia cyanescens* Bois. and Bal. *Pak. J. Bot* , 39 (1). p: 169-172.

Karousou R., Hanlidou E., Kokkini S. (2000): The sage plants of greece: distribution and infra specific variation. Dans E. K. Spiridon, SAGE: The genus *Salvia Athens*, Greece: Overseas Publishers Association. p: 27-46.

Katayama Y., Ito T., Hiramatsu K. (2000): A new class of genetic element, *Staphylococcus* cassette chromosome *mec* encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* p: 1549-1555.

Kaufman M., Bowsher J. (1994): prevention diabetic foot ulcers. *Medsurg nurs* , (3). p: 10-204.

Kheyar N., Meridja D., Belhamel K. (2014): Contribution à l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne des huiles essentielles *d'Inula viscosa L, Salvia officinalis L et Laurus nobilis L* de la région de Bejaia, *Algerian Journal of Natural Products*,2,(1). p:18-26.

King H., Aubert R-E., Herman W-H. (1998): Global burden of diabetes 1992-2025: Prevalence, numerical estimation and projection, *Diabète care*, (9). p: 21.

Kivrak, I., Duru M-E., Ozturk M., Mercan N., Harmandar M., Topçu G. (2009): Antioxydant, anticholinestérase and antimicrobial constituents from essential oil and ethanol extract of *Salvia potentillifolia*. *journal Article,Food chemistry* ,Vol 116 ,N°2 ,ref 33. p: 470-479.

Kotan R., Kordali S., Cakir A. (2007): Screening of Antibacterial Activities of Twenty-One Oxygenated Monoterpenes, *Zeitschrift fur Natur forschung C, A journal of biosciences*. Volume 62, Issue 7-8. p: 507-513.

Krzywicki C. (2011): L'impact médical hospitalier de la prise en charge du pied diabétique .*MASHEM*. p:157.

L

Lahlou M. (2004): Methods to study phyto chemistry and bioactivity of essential oils.phyto therapy research. p: 435-448.

Lambert R-J-W., Skandamis P-N., Coote P-J., Nychas G-J-E. (2001): A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol .*J.Appl.Microbiol*, (91). p: 453-462.

Lamri L., Gripiotis E., Ferrario A. (2014): Diabetes in Algeria and challenges for health policy :a literature revue of prevalence, cost, management and outcomes of diabetes and its complications. *Globalization and Health*. p:10-11.

Laissine N. (2000): problème des pathogène Gram négatif résistantes aux antibiotiques en milieu hospitalier. *Laboratoire central de bactériologie, hôpital Cantonal Universitaire. Geneve*. p : 19-30.

Larpent J-P. (1970): *Microbiologie pratique*. Editions Hermann. Paris . p: 65.

Lavigne J-P., Dunyach-Rémy C., Sottoa A. (2016) : Ostéite du pied diabétique: revue francophone des laboratoires N°480 Elsevier Masson SAS . p:56.

Leclerc H. (1967) : Précis de phytothérapie par les plantes française. Ed Masson .Paris .p: 90-91

Lecornet E. (2007): Prévenir la transmission du *staphylococcus aureus* résistante à la méticilline lors de la prise en charge du pied diabétique. Thèse de doctorat en médecine. Paris. p: 1-95.

Lipsky B-A., Pecoraro R-F., Wheat L-J. (1990): The diabetic foot. Soft tissue and bone infection. Infect. Dis. Clin. North, (4). p:32-409.

Lipsky B-A., Berendt A-R., Embil J. (2004): Diagnosing and treating diabetic foot infections. Diabetes. Metab. (20). p: 56-64.

Lipsky B-A. (2008): New developments in diagnosing and treating diabetic foot infections. Diabetes Metab, Res, Rev, (24).p: 66-71.

Lis-Balchin M., Deans S. (1997): Bioactivity of selected plant essential oils against *Listeria monocytogenes*. J. Appl. Bacteriol , (82). p: 759–762.

Lubetzki J., Chanson P., Guillausseau P-J. (2000). Endocrinologie et maladies métaboliques. Flammarion, Paris. p: 334.

Lushiku E-B. (2006): Les pathologies du pied :le pied diabétique, revue Médicale Bruxelles .p :318.

Luton J-P., Thomopoulos P., Basdevant A. (1999). Endocrinologie, Nutrition et Maladies Métaboliques. Ed. Flammarion, Paris. p:178-192.

M

Madigan M., Martinko J. (2007): Brock Biologie des microorganismes. 11 édition. p : 686.

Magalon G ., Vanwijch R. (2003): guide des plaies, du pansement a la chirurgie, édition John Libbey Eurotext. p: 204 .

Maiga I. (1992) : Epidémiologie des Entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi à l'Institut Gustave Roussy. Mémoire [Diplôme interuniversitaire de spécialisation de biologie médicale]. Paris : Université René Descartes. p: 56.

- Maihebiau P. (1994) :** La nouvelle aromathérapie: biochimie aromatique et influence psychosensorielle des odeurs. Lausanne. p: 635.
- Malecky M. (2007) :** Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins. Thèse de Doctorat .Paris, Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (Agro. Paris,Tech).
- Malek R., Nechadi A. (2013):** Dépistage de masse du diabète de type 2 en Algérie : quels enseignements ? Médecine des maladies Métaboliques- Novembre -2013. Vol 7,N°6.
- Malgrange D. (2008) :** Physiopathologie du pied diabétique : La revue de médecine interne 29, Edition Elsevier Masson SAS. p: 232.
- Mann C-M., Cox S-D., Markham J-L. (2000):** The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749 contributes to its tolerance to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil).Lett Appl Microbiol (30). p: 294-297.
- Marzouk Z., Neffati A., Marzouk B., Charaif I., Khemisse F., Chekirchedira L., Boukef K. (2006):** Chemical composition and antibacterial and antimutagenic activity of Tunisian *Rosmarinus officinalis* L. oil from Kasrine. Journal of food, Agriculture and Environment ,4 (3-4). p: 61-65.
- Maude B. (2013):** Thèse de Doctorat : **Lavndula angustifolia** M, *Lavandula latifolia* M, *Lavandula X intermedia* E : études botaniques chimiques et thérapeutique, 30 aout. Université Joseph Fourier, Faculté de pharmacie de Grenoble.
- Mayer K., Opal S., Medeiros A. (2000):** Mechanisms of antibiotic resistance. In : Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, Vol 2. 5^{eme} edition, Churchill Livingstone. p: 236-253.
- Mayfield J-A., Reiber G-E., Sanders L-J., Janiessa D., Pogash L-M. (1998):** Prevention foot care in people with diabetes. Diabetes Care, 21(12). p: 2161-77.
- Meena M-R., Setid V. (1994):** Antimicrobial of essential oils from spices. J Food.SCI and tech.Mysore, (31). p: 68-70.
- Merceron A. (2002) :**Prise en charge des patients diabétiques porteurs de plaies plantaires de l'alitement à la déambulation. p: 9.
- Michelbriand K. (2012):** Aspects de la résistance bactérienne aux antibiotiques, Ed: harmattan. p: 12.

Merouane A. (2013):Caractérisation, activité antimicrobienne et antioxydants des huiles essentielles de trois espèces de sauge *Salvia algeriensis* , *Salvia argentea* et *Salvia barrelieri*. Magister en agronomie. Institut des sciences agronomiques .université Hassiba Ben Bouali, Chlef.

Mokni M., Giudice P., Dupin N. (2014): Dermatologie infectieuse, Edition Elsevier Masson. p : 327.

Monabeka H-G., Nsakala-kibango N. (2001) : Aspects épidémiologiques et cliniques du pied diabétique au CHU de Brazzaville. Bull Soc PatholExot, 94,3. p: 246-248.

Moussaoui M. (2011): Plantes Médicinales de Méditerranée et d'Orient .SABIL. Espagne. p:128

Mustafa K., Bektas T. (2008): Chemical composition, antioxydant and antimicrobial properties of essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. Bioressources technology , (99). p: 4096-4104.

N

Nauciel C. (2000) : bactériologie médicale, p : 55-69.

Nauciel C. (2000): Bactériologie médicale. Edition Masson. Paris, p: 288.

Nedorostova L., Kloucek P., Stolcova L., Pulkrabek J. (2009): Antimicrobial properties of selected essential oils in vapour phase against food borne bacteria .Food Control, 20 (2). p:157-160.

Ndiaye M. ., Sène M-S ., Sow A-D., Seck L-B., Coulibaly T., Diagne N-S ., Touré K ., Diop A-G., Ndiaye M-M.(2010) : Méningoencéphalite à *Morganella morganii* : à propos d'un cas. Société de pathologie exotique et Springer-Verlag France .Springer p: 230 -232.

Nicolette P., Melaine-Jayne H., Houghton P.,Elaine P. (2000) :Why sage maybe a wiseremedy: effects of salvia on the nervous system. Dans E. K. Spiridon, Sage: The genus*Salvia* Athens, Greece: OverseasPublishers Association. p: 207-223.

Nikaido H. (2003): Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. Microbiology and Molecular Biology Reviews ,67 (4) . p: 593-656.

O

Ozkan G., Sagdic O., Baydar N-G., Baydar H. (2003): Inhibition of pathogenic Bacteria by essential oils at different concentrations. Food science and technology International, vol 9, N°2. p:85-88.

P

Pacaude G. (1995): Le diabète et ses complications. Edition Albim Michel S.A. Paris. p: 82.

Pattnaik S., Subramanyam V-R., Bapaji M., Kole C-R. (1997): Antibacterial and antifungal activity of aromatic constituents of essential oils. *Microbios*, (89). p: 39-46.

Portha B. (2003): Anomalies programmées de la sécrétion d'insuline dans le Diabète de type 2: le paradigme du rat GK. *Médecine Sciences*, (19). p: 847-853.

Pebert F. (2003): Maladies infectieuses. Edition heures de France. Paris, p : 144-150.

Pedgrift- Krzywicki C. (2011) : L'impact médical hospitalier de la prise en charge du pied diabétique. p: 24.

Pelczar M-J., Chan C-S., Krieg N-R. (1988): Control of microorganisms, the control of microorganisms by physical agents. In *Microbiology*. New York: McGraw-Hill International. p: 469 -509.

Perlemuter L., SélamJ-L., Collin de L'hortet G. (2003): Diabète et maladies métaboliques, Collection : pratique. Édition Elsevier Masson. p: 237.

Perruci S., Mancianti F., Cioni P-L., Famini G., Morelli I., Macchioni G. (1994): In vitro antifungal activity of essential oils against some isolates of *microsporumcanis* and *microsporumgypseum*. *Planta Med*, (60). p: 184-187.

Pourriat J-L ., Martin C. (2005): Principes de réanimation chirurgicale, 2^{ème} édition. p: 1115.

Prompers L., Huijberts M., Apelqvist J., Jude E., Piaggese A., Bakker K., Edmonds M., Holstein P., Jirkovska A., Mauricio D., Ragnarson Tennvall G., Reike H., Spraul M., Uccioli L., Urbancic V., Van Acker K., van Baal J., van Merode F., Schaper N. (2007): High prevalence of ischaemia, infection and serious comorbidity in patients with diabetic foot disease in Europe. Baseline results from the Eurodiale study. p:18-25.

Pistelli, L. (2006): Photochemicals from lamiaceae: from nutraceuticals to Hallucinogens. International symposium The Labiatae: Advances in Production, Biotechnology and Utilization, Sanremo, Italy February 2006. p: 22-25.

Q

Qassimi F. (2015) : le pied diabétique expérience du service de dermatologie a l'hôpital militaire Moulay Ismail Meknès. Thèse N° 097/15.

R

Rahal (2010) : Standardisation de l'antibiogramme a l'échelle nationale en médecine humaine et vétérinaire.

Ramdani Bouguessa N.,Seghier M., Belouni R., Benslimani A.(2009): Manuel de microbiologie. Ed office des publications universitaires. p:175-178.

Ramsey S-D., Newton K., Blough D., McCulloch D-K ., Sandhu N., ReiberG-E .(1999) : Incidence, outcomes, and cost of foot ulcers in patients with diabetes. Diabetes Care, (22). p: 7–382.

Recommendation d'OMS. (2005) : Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine a l'échelle nationale. 4^{ème} édition, ALGER. ins. Pas, p: 95.

Rodier M. (2001). Définition et classification du diabète, Médecine Nucléaire - Imagerie fonctionnelle et métabolique, Vol 25 , N°2 .p: 91-92.

Richard J-L., Schuldiner S. (2008): Epidémiologie du pied diabétique. La revue de médecine interne, Edition Elsevier Masson. p: 222-230.

Richard J.-L., Parer-Richard C. (2002) : Le pied diabétique. Le traitement de la plaie, numéro spécial pied diabétique (journal de Johnson & Johnson Wound Management Worldwide).

Riegel P., Archambaud M., Clavé D.,Vergnaud M.,Muller B.,Auzou M .(2006) :Bactéries de culture et d'identification difficiles , Editions BioMérieux.p :107.

Russel A-D. (1991): Mechanisms of bacterial resistance to non-antibiotics : food additives and pharmaceutical preservatives. Journal of Applied Bacteriology ,(71). p: 191-201.

S

Saadatian M., Aghaei M., Sarahpour M., Balouchi Z. (2013): Global Journal of Medicinal Plant Research, 1 “Chemical composition of lavender (*Lavandula officinalis* L.) Extraction extracted by two solvent concentrations”,(2). p: 214-217.

Sallé J. (1991) : Les huiles essentielles. Frison- Roche Paris. p:19-23-167.

Sallé J. (1991) : le totum en phytothérapie : Approche de phyto-biothérapie .Frison-Roche.Paris .p :17- 234.

Satrani B., Ghanmi M., Farah A., Aafi A., Fougrach H., Bourkhiss B., Bousta D., Talbi. (2007): Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Cladanthusmixtus*. Bulletin de la société de pharmacie de Bordeaux. (146). p: 85-96.

Saxena K. (1997): Antimicrobial Screening of Selected Medicinal Plants from India. Journal of Ethno pharmacology, 58, (2). p: 75-83.

SFM (société française de microbiologie). (2015) :Remic ;référentiel en microbiologie médicale ,société Française de microbiologie 5^{ème} édition ,Tome 1. p: 295.

Shankar E-M., Mohan V., Premalantha G., Srinivassan R-S., Usha A-R. (2005): Bacteria letiology of diabetic foot infections in South India. Eur. J. Intern. Med. 16.p: 70-567.

Sharma B., ViswanathG., Salunke R., Roy P. (2008): Effects of flavonoid-rich extract from seeds of *Eugenia jambolana* (L.) on carbohydrate and lipid metabolism in diabetic mice. Food Chemistry 110. p: 697–705,907-913.

Sikkema J., dseBont M J- A., Poolman B. (1994): Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. J. Biol. Chem , (269). p: 8022-8028.

Singh N.,Armstrong D-G.,Lipsky B-A. (2005): Preventing foot ulcers in patient with diabetes. Jama, 293,(2). p: 217-28-293.

Singh J., Kakkar P. (2009): Anti hyperglycemic and antioxidant effect of Berberisaristataroot extract and its role in regulating carbohydrate metabolism in diabetic rats. J. Ethnopharmacol , 123,(1). p: 22-6.

Sinha AK., Kempley S-T., Price E. (2006): Early onset *Morganella morganii* sepsis in a newborn infant with emergence of cephalosporin resistance caused by depression of AMPC beta-lactamase production. Pediatr Infect Dis J 25. p: 7-376.

Small E., Deutsch G. (2001): Herbes culinaires pour nos jardins de pays froid, Ed.CNRC. p:115.

Sosa S., Altinier G. (2005) : "Extracts and constituents of *Lavandula multifida* with topical anti-inflammatory activity." Phytomedicine 12 ,(4). p: 271-277.

Souza E-L., Guerr N-B., Stamford T-L-M., Lima E-O. (2006): Spices: alternative sources of antimicrobial compounds to use in food conservation. Rev. Bras. Farm. p: 22-25.

Souza, E-L., Stamford T-L-M., Lima E-O., Trajano V-N., Fitho J-M-B. (2005): Antimicrobial effectiveness of spices: an approach for use in food conservation systems. *Braz. Arch. Biol. Technol*, 48, (4). p: 1516-8913.

Stanley G., Simpson E- J. (2000): Antioxidants from *Salvia officinalis*. Dans E. K. Spiridon, SAGE: The genus *Salvia Athens*, Greece: Overseas Publishers Association. p: 185-192.

Stone N-D., Lewis D-R., Jhonson T-M. (2012): Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* nasal carriage in residents of veterans affairs long term care facilities :role of antimicrobial exposure and MRSA acquisition. p: 7-551.

Summers A-O. (2006): Genetic linkage and horizontal gene transfer, the roots of the antibiotics multi resistance problem. *Animal Biotechnology*, (17). p: 125-135.

T

Tattevin P. (2011) : Les infections à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) d'acquisition communautaire. *Médecine et maladies infectieuses* 4. Edition Elsevier Masson. p: 167–175.

Taudou A. (1990) : Activité antifongique des labiatae. Données bibliographiques. Etudes in vitro de treize huiles essentielles (intérêt de la microémulsion). Doctorat d'état en sciences pharmaceutiques. Université Paul Sabatier, Toulouse, France.

Taylor D., Jeromel., Jaswinder G., Chang N. (1995): protein that mediates ribosomal protection to tetracycline, binds, and hydrolyses GTP. *Can J Microbio*. p: 965-970.

Toumi A., Bernard L., Chakroun M. (2011) : Antibiothérapie des infections du pied diabétique *Revue Tunisienne d'Infectiologie*. Vol 5, N°2 .p :61 – 67.

Timsit J., Dubois-Laforgue D. (2000): Diabète de type 1 et environnement. *Médecine Sciences*, (16).p: 1045-50.

Traoré O., Souweine B. (2002) : Dans quelles situations instituer des précautions de type «contact» chez les patients porteurs de bactéries multirésistantes *Réanimation*, (11). p: 63-451.

U

Ulubelen A. (2000): Chemical constituents: Terpenoids in the genus *Salvia*. Dans E. K. Spiridon, SAGE: The genus *Salvia Athens*, Greece: Overseas Publishers Association. p: 55-68.

Ultee A., Bennik M-H., Moezelaar R. (2002): The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl Environ Microbiol*, (68). p: 1561–1568.

V

Vincent J-I. (2009) : Le manuel de réanimation, soins intensifs et médecine d'urgence édition Springer-Verlag France, Paris, 3^{ème} éd. p : 205.

Vaubourdolle M. (2013): infectiologie, Editions Walters Kluwer SA 4^{ème} édition, tome 3. p: 915.

W

Walker J-B., Kenneth J., Treutlein J., Wink M. (2004) : *Salvia* (Lamiaceae) is not monophyletic: Implications for the systematics, radiation, and ecological specializations of *Salvia* and tribe Menthae. *American Journal of Botany* 91 ,(7). p:1115–1125.

Walter S- J., Christopher S- C., Elizabeth A- K., Peter S. (2002) : Botanique systématique: une perspective phylogénétique (éd. traduite). Paris, France: De Boeck Université.

Weber G. (2007) : Diabétologie expérimentale. *Revue médicale de la Suisse Romande*, (120).p: 907-913.

Wendakoon C-N., Sakaguchi M. (1995): Inhibition of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active components in spices. *Journal of Food Protection*, (58). p: 280-283.

Willey J-M., Linda M-S. (2008): Prescott, Harley, and Klein's Microbiology Seventh Edition. p: 337-853.

Wilson M., Girard G. (2007) : Fleurs comestibles du jardin à la table, Ed. Fides.

Wright G-D. (2007): The antibiotic resistance: the nexus of chemical and genetic diversity. *Nature Rev. Microbiol*, (5). p: 175-186

Y

Yahia-Berrouiguet A. (2008) : Les plaies du pied chez le diabétique: Épidémiologie et prise en charge au CHU Tlemcen Service de Médecine Interne, Centre Hospitalier et Universitaire de Tlemcen, Tlemcen, Algérie. Volume 34, Supplément 3.

Yala D., Merad A- S., Mohamed D., Ouarkorich M- N. (2001):Classification et mode d'action des antibiotiques. Médecine de Maghreb. N° 91.

Young jacques. (2016) : Endocrinologie, **diabétologie** et maladies métaboliques, Edition Elsevier Masson ,3^{ème} édition. p: 323-377.

Z

Zaika L-L. (1988): Spices and herbs: their antimicrobial activity and its determination1. Journal of Food Safety. p: 97-118.

Zhou I., Zhou S., Tang J., Zhang K., Guang L., Huang Y., Xu Y., Ying Y., Zhang L., Li D.(2009): Protective effect of berberine on beta cells in streptozotocin- and high-carbohydrate/ high-fat diet-induced diabetic rats. European Journal of Pharmacology, (262). p: 606 .

Annexe I

Tableau 7 : Corrélation clinico-biologique entre les types de plaies et les germes impliqués et identifiés (Lipsky et al., 2008).

Type de plaie	Bactéries
Plaie superficielle récente sans antibiothérapie récente	<i>S.aureus</i> ,Streptocoques β -hémolytiques.
Plaie chronique (≥ 1 mois) ou antérieurement traitée par des antibiotiques.	<i>S.aureus</i> , Streptocoques β -hémolytiques , Enterobacteries.
Plaie traitée par Céphalosporines d'évolution défavorable.	Entérocoques.
Plaie de longue durée (ulcère ≥ 6 mois), traitement antérieur par des antibiotiques à large spectre.	Polymicrobienne : cocci à Gram positif aérobie (<i>S.aureus</i> , Streptocoques β -hémolytiques, Staphylococcus aureus a coagulase négatif (SCN) , entérocoques) , Corynébactéries, Entérobactéries, Pseudomonas spp, bacilles à Gram négatif non fermentatifs \pm agents fongiques.
Odeur nauséabonde, nécrose, gangrène.	Cocci à Gram positif aérobie, Entérobactéries, <i>Pseudomonas spp</i> , bacilles à Gram négatif non fermentatifs, anaérobies strictes.

Tableau 8 : utilité du test oxydase. (Delarras, 2007)

Test oxydase	Germes bactériens
Oxydase+	<i>Aeromonas, Vibrio, Neisseria, Flavobacterium, Pseudomonas...</i>
Oxydase-	<i>Enterobacteriaceae, Acinetobacter...</i>
Oxydase variable	<i>Brucella...</i>

Annexe I

Tableau 9: Classes d'antibiotiques et leurs mécanismes d'action. (Bryskier, 1999)

Mécanismes d'action	Classes	Exemple
Inhibition de la synthèse du peptidoglycane	Béta-lactamines	Pénicilline, Ampicilline, Amoxicilline, Aztreonam, Cefotaxime, Céfazoline.
	Glycopeptides	Vancomycine
Action sur la structure de la membrane plasmique	Polypeptides basiques	Polymyxines
Inhibition de la synthèse des ADN	Quinolones	Fluoroquinolones
Inhibition de la synthèse des ARN	Rifamycines	Rifamycine
Inhibition de la synthèse protéique	Phénicoles	Chloramphénicol
	Cyclines	Tétracyclines
	Aminosides	Kanamycine
	Autres	Acide fusidique

Annexe II

Tableau 10 : Tableau de la lecture de la galerie miniaturisée Api 20^E.

Tests	Substrat	Caractère recherché	Résultats	
			Négatif	Positif
ONPG	Ortho-nitro-phenyl-galactosidase	Beta-galactosidase	Incolore	Jaune
ADH	Arginine	Arginine dé hydrolase	Jaune	Rouge/orange
LDC	Lysine	Lysine décarboxylase		
ODC	Ornithine	Ornithine décarboxylase		
CIT	Citrate de sodium	Utilisation de citrate	Vert pale /jaune	Bleu-vert/vert
H2S	Thiosulfate de sodium	Production de H2S	Incolore/grisâtre	Dépôt noir
URE	Urée	uréase	Jaune	Rouge/orange
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	Réactif TDA	
			Jaune	Marron foncé
IND	Tryptophane	Production d indole	Réactif de KOVACS	
			Jaune	Anneau rouge
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	VP1+VP2/10min	
			Incolore	Rose/Rouge
GEL	Gélatine de Kohn	Gélatinase	Non diffusion	Diffusion de pigment noir
GLU	Glucose	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MAN	Mannitol			
INO	Inositol			
SOR	Sorbitol			
RHA	Rhamanose			
SAC	Saccharose			
MEL	Melibiose			
AMY	Amyglaline			

Annexe II

Tableau 11: Noms, abréviations et charge des disques d'antibiotiques utilisés durant notre étude

Familles d'antibiotiques	Antibiotique	Abréviation	Charge du disque
Béta-lactamines	Pénicilline	P	10µg
	Amoxicilline+ acide clavulanique	AMC	20-10µg
	Oxacilline	OX	1µg
	Imipenème	IMP	10µg
	Céftazidime	CAZ	30µg
	Céfotaxime	CTX	30µg
	Aztreonam	ATM	30µg
	Céfoxitine	FOX	30µg
Polymixines	Rifampicine	RA	5µg
Quinolones	Ciprofloxacine	CIP	5µg
	Acide nalidixique	NA	30µg
Phénicoles	Chloramphénicol	C	30µg
Cyclines	Tétracycline	TE	30 µg
Aminosides	Amikacine	AK	30 µg
	Tobramycine	TOB	10 µg
	Gentamicine	GEN	10 µg
	Vancomycine	VA	30 µg
Autres	Fosfomycine	FF	200µg

Annexe II

Tableau 12: Les valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour les Entérobactéries.

Antibiotiques testés	Signes	Charge des Disques μg	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques ($\mu\text{g/ml}$)		
			R	I	S	R	I	S
β-Lactamines								
Aztréonam	ATM	30	≤ 17	18-20	≥ 21	≥ 16	8	≥ 4
Amoxicilline +Ac.clavulanique	AMC	20/10	≤ 13	14 – 17	≥ 18	$\geq 32/16$	16/8	$\leq 8/4$
Cefoxitine	FOX	30	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Imipénème	IPM	10	≤ 19	20 - 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1
Céfotaxime	CTX	30	≤ 22	23 – 25	≥ 26	≥ 4	2	≤ 1
Céftazidime	CAZ	30	≤ 17	18-20	≥ 21	≥ 16	8	≤ 4
Aminosides								
Amikacine	AK	30	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 64	32	16
Gentamicine	GEN	10	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4
Quinolones								
Ciprofloxacine	CIP	5	≤ 15	16-20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1
Acide nalidixique	NA	30	≤ 13	14 – 18	≥ 19	≥ 32	-----	≤ 16
Phénicoles								
Chloramphénicol	C	30	≤ 12	13 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Autres								
Fosfomycine	FF	200	≤ 12	13 – 15	≥ 16	≥ 256	128	≤ 64

Annexe II

Tableau 13 : Les valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *P.aeruginosa*.

Antibiotiques testés	Signes	Charge des Disques μg	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques ($\mu\text{g/ml}$)		
			R	I	S	R	I	S
β-Lactamines								
Aztréonam	ATM	30	≤ 15	16-21	≥ 22	≥ 32	16	≤ 8
Imipénème	IPM	10	≤ 15	16- 18	≥ 19	≥ 8	4	≤ 2
Aminosides								
Amikacine	AK	30	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16
Gentamicine	GEN	10	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4
Tobramycine	TOB	10	≤ 12	13-14	≥ 15	≥ 16	≥ 8	≤ 4
Quinolones								
Ciprofloxacine	CIP	5	≤ 15	16-20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1
Autres								
Fosfomycine	FF	50	≤ 14	-----	≥ 14	≥ 32	-----	≤ 32

Annexe II

Tableau 14 : Les valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Staphylococcus aureus*

Antibiotiques testés	Signes	Charge des Disques μg	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques ($\mu\text{g/ml}$)		
			R	I	S	R	I	S
β-Lactamines								
Aztréonam	ATM	30	≤ 17	18-20	≥ 21	≥ 16	8	≥ 4
Amoxicilline +Ac.clavulanique	AMC	20/10	≤ 13	14 – 17	≥ 18	$\geq 32/16$	16/8	$\leq 8/4$
Cefoxitine	FOX	30	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Imipénème	IPM	10	≤ 19	20 - 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1
Céfotaxime	CTX	30	≤ 22	23 – 25	≥ 26	≥ 4	2	≤ 1
Céftazidime	CAZ	30	≤ 17	18-20	≥ 21	≥ 16	8	≤ 4
Pénicilline	P	10	≤ 28	-----	≥ 29	$\geq 0,25$	-----	$\leq 0,12$
Oxacilline	OX	1	≤ 10	11 – 12	≥ 13	≥ 4	-----	≤ 2
Aminosides								
Amikacine	AK	30	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 64	32	16
Gentamicine	GEN	10	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4
Vancomycine	VA	30	-----	-----	≥ 15	≥ 16	4-8	≤ 2
Quinolones								
Ciprofloxacine	CIP	5	≤ 15	16-20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1
Acide nalidixique	NA	30	≤ 13	14 – 18	≥ 19	≥ 32	-----	≤ 16
Phénicoles								
Chloramphénicol	C	30	≤ 12	13 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Polymyxine								







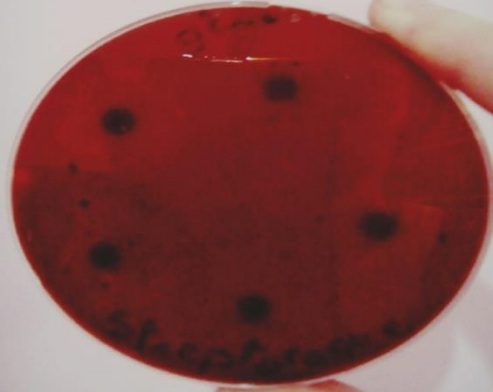

Annexe II

Rifampicine	RA	5	≤ 16	17-19	≥ 20	≥ 4	2	≤ 1
Autres								
Fosfomycine	FF	200	≤ 12	13 – 15	≥ 16	≥ 256	128	≤ 64
Tétracycline	TE	30	≤ 14	15 – 18	≥ 19	≥ 16	8	≤ 4

Annexe II

			
<p style="text-align: center;">Boîtes Pétri</p>	<p style="text-align: center;">Tubes stériles</p>	<p style="text-align: center;">Ecouvillon stérile</p>	<p style="text-align: center;">seringue</p>
			
<p style="text-align: center;">Pince métallique</p>	<p style="text-align: center;">Disques d'antibiotiques vierges</p>	<p style="text-align: center;">Disques d'antibiotiques</p>	
			
<p style="text-align: center;">Eau de javel</p>	<p style="text-align: center;">Huile essentielle « sauge »</p>	<p style="text-align: center;">Huile essentielle « Lavande »</p>	<p style="text-align: center;">Api 20E</p>
			
<p style="text-align: center;">Coloration de Gram</p>	<p style="text-align: center;">Bec Bensen</p>	<p style="text-align: center;">Etuve d'incubation à 37c°</p>	
			
<p style="text-align: center;">Microscope optique</p>	<p style="text-align: center;">Lame et lamelle</p>	<p style="text-align: center;">Les acides aminés</p>	<p style="text-align: center;">Indole</p>

Annexe II

<p>Milieux d'isolement</p>	 <p style="text-align: center;">Gélose Hektoen</p>	 <p style="text-align: center;">Gélose au sang frais</p>	 <p style="text-align: center;">Gélose Chapman</p>
<p>Milieux d'enrichissement</p>	 <p style="text-align: center;">Milieu bouillon glucosé tomponné (BGT)</p>	 <p style="text-align: center;">Bouillon coeur cerveau (BHIB)</p>	
<p>Milieux d'antibiogramme</p>	 <p style="text-align: center;">Gélose Muller Hinton</p>	 <p style="text-align: center;">Gélose Muller Hinton+sang</p>	
<p>Milieux de conservation</p>			

Annexe II

Citrate de Simmons



Virage de l'indicateur de pH au bleu : il y a eu alcalinisation du milieu et la souche est citrate de Simmons +.

Mannitol mobilité



Virage du milieu au jaune: Mannitol +
Les bactéries mobiles diffusent a partir de la ligne d'ensemencement en créant un tour billant.

TSI ((Triple Sugar Iron)



- Culture glucose(+) : culot de couleur jaune.
- Culture glucose(-) : culot inchangé.
- Culture lactose saccharose(+) : pente virant au jaune.
- Culture lactose saccharose(-) : pente inchangée.
- H₂S(+) : noircissement
- H₂S(-) : pas de noircissement
- Gaz(+) : bulles d'air +découlement de la gélose dans la masse du milieu vers le haut du tube.

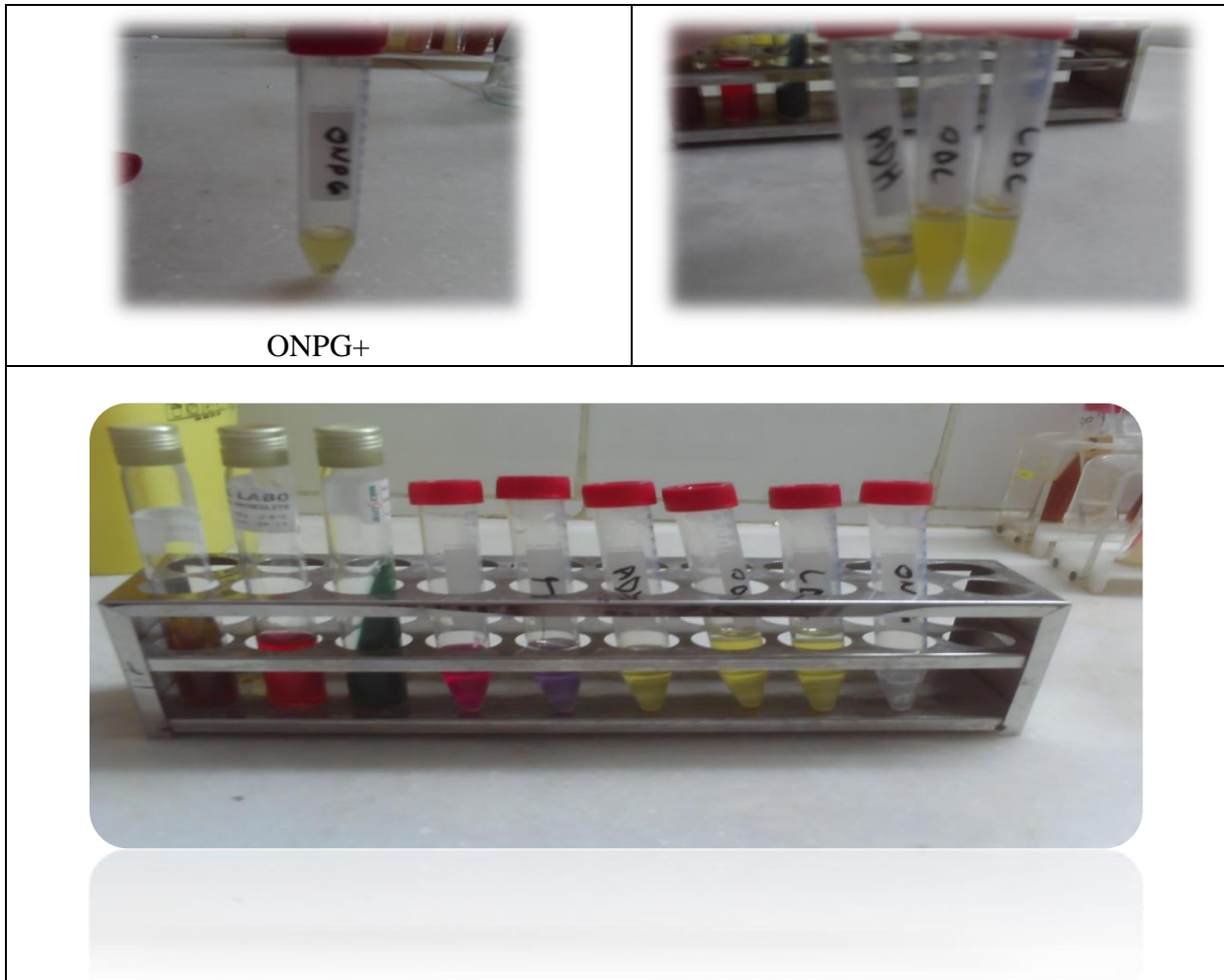


Figure 26 : Appareillage, verreries, réactifs et principaux milieux de culture utilisés. (Original)

Annexe II

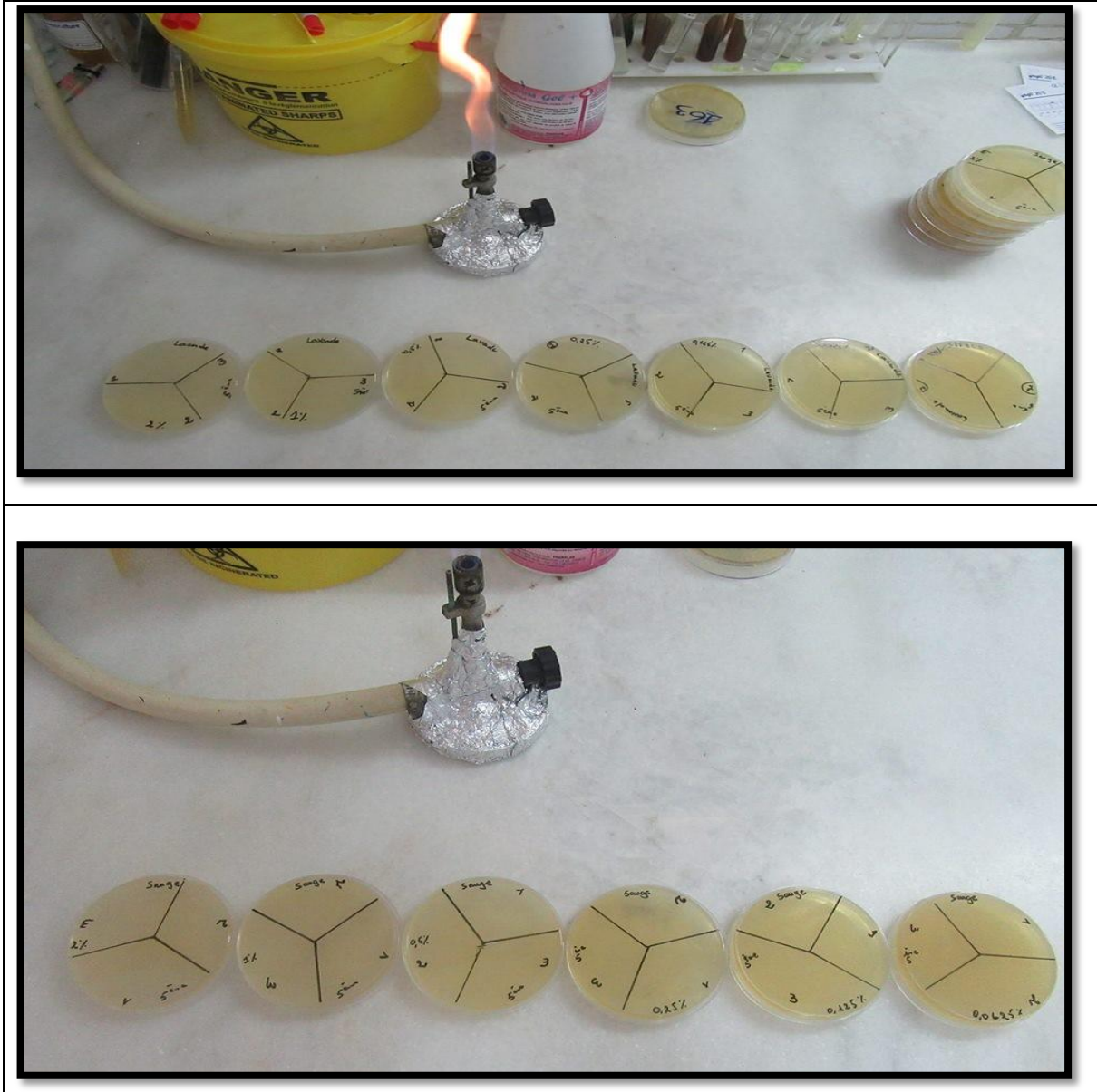
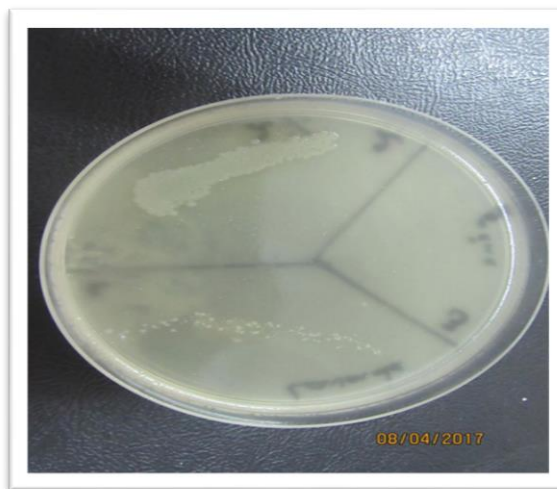


Figure 27 : Préparation des concentrations pour la CMI : 1, 2, 3 : les souches bactériennes.
(Original)



Exemple de CMI pour *Lavandula angustifolia* . (Originale)

Annexe III

Tableau 15 : Répartition des patients en fonction du sexe.

Sexe	Homme	Femme	Total
Nombre	53	12	65
Pourcentage	81,53%	18,46%	100%

Tableau 16: Répartition des patients en fonction de l'âge.

Age	[25-45]	[45-65]	[65-85]
Nombre de patients	2	42	22
Pourcentage	3,07%	64,61%	33,84%

Tableau 17 : Répartition des patients selon le sexe et l'âge.

Age	[25-45]	[45-65]	[65-85]
Homme	2	34	18
Pourcentage	3,07%	52,30%	27,69%
Femme	0	8	4
Pourcentage	0%	12,30%	6,15%
Total	2	42	22
Pourcentage	3,07%	64,61%	33,84%

Tableau 18 : Répartition des prélèvements selon le type de diabète.

Type de diabète	Type I	Type II	Total
Nombre	3	62	65
Pourcentage (%)	4.61%	95.38%	100%

Tableau 19: Répartition des prélèvements selon les patients hospitalisés et non hospitalisés.

Patients	Hospitalisation	Non hospitalisation	Total
Nombre	38	27	65
Pourcentage	58,46%	41,53%	100%

Annexe III

Tableau 20 : Répartition des résultats selon la positivité et la négativité des prélèvements de pus.

Positivité et négativité	Prélèvement(+)	Prélèvement(-)	Total
Nombre de prélèvement	56	9	65
Pourcentage	86,15%	13,84%	100%

Tableau 21 : Répartition des prélèvements selon la nature des cultures obtenus.

Culture	Poly microbienne	Mono microbienne	Total
Nombre	31	25	56
Pourcentage (%)	55,35%	44,64%	100%

Tableau 22 : Répartition des résultats selon le Groupes de germes identifiés.

Bactéries	Bacilles à Gram négatif	Cocci à Gram positif	Total
Nombre	53	37	90
Pourcentage	58,88%	41,11%	100%

Tableau 23: Répartition des germes identifiés.

Groupes de germes	<i>Entérobactéries</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Pseudomonas</i>
Nombre	51	30	7	2
Pourcentage	56,66%	33,33%	7,77%	2,22%

Annexe III

Tableau 24: Répartition globale des germes identifiés.

Germes isolés	Nombre	Pourcentage
<i>Staphylococcus aureus</i>	30	33,33%
<i>Proteus mirabilis</i>	12	13,33%
<i>Proteus vulgaris</i>	10	11,11%
<i>Streptocoques</i>	7	7,77%
<i>Morganella morganii</i>	6	6,66%
<i>Proteus penneri</i>	3	3,33%
<i>Klebsiella ornitholytica</i>	3	3,33%
<i>Serratia odorifera</i>	3	3,33%
<i>Pseudomonas</i>	2	2,22%
<i>Citrobacter braakii</i>	2	2,22%
<i>Citrobacter freundii</i>	2	2,22%
<i>Escherichia coli</i>	1	1,11%
<i>Serratia marcescens</i>	1	1,11%
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	1	1,11%
<i>Citrobacter koseri</i>	1	1,11%
<i>Providencia stuartii</i>	1	1,11%
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	1,11%
<i>Chryseobacterium indologenes</i>	1	1,11%
<i>Chromobacterium violaceum</i>	1	1,11%
<i>Enterobacter sakazakii</i>	1	1,11%
<i>Proteus rettgeri</i>	1	1,11%

Tableau 25 : Profil de l'antibiorésistance chez les Entérobactéries.

Antibiotiques	Résistante (%)	Sensible (%)
ATM	11,76 %	88,23 %
AMC	64,70 %	35,29 %
NA	66,66 %	33,33 %
FF	17,64 %	82,35 %
FOX	11,76 %	88,23 %
CTX	76,47 %	23,52 %
GEN	41,17 %	58,82 %

Annexe III

CIP	49,01 %	50,98 %
C	13,72 %	86,27 %
IPM	49,01 %	50,98 %
AK	15,68 %	84,31 %
CAZ	94,11 %	05,88 %

Tableau 26: Profil de l'antibiorésistance chez *Pseudomonas*.

Antibiotiques	Résistante (%)	Sensible (%)
GEN	0	100
ATM	100	0
FF	50	50
AK	50	50
CIP	100	0
IPM	100	0
TOB	100	0

Tableau 27 : Profil de l'antibiorésistance chez *Proteus mirabilis*.

Antibiotiques	Résistante (%)	Sensible (%)
FF	58,33	41,66
ATM	50	50
GEN	66,66	33,33
NA	25	75
AMC	66,66	33,33
AK	91,66	08,33
CTX	16,66	83,33
CIP	25	75

Tableau 28: Profil de l'antibiorésistance chez *Morganella morganii*.

Antibiotiques	Résistante (%)	Sensible (%)
GEN	33,33	66,66
C	66,66	33,33
IPM	16,66	83,33
NA	100	0
AMC	83,33	16,66
CAZ	66,66	33,33
CT	50	50
CTX	66,66	33,33
ATM	33,33	66,66
CZ	83,33	16,66

Annexe III

Tableau 29 : Profil de l'antibioresistance chez *Klebsiella ornitholytica*.

Antibiotiques	Résistante (%)	Sensible (%)
CIP	66,66	33,33
AK	33,33	66,66
CTX	66,66	33,33
NA	33,33	66,66
ATM	66,66	33,33
AMC	66,66	33,33
GEN	33,33	66,66
FF	100	0
FOX	66,66	33,33

Tableau 30: Profil de l'antibioresistance chez *Staphylococcus aureus*.

Antibiotiques	Résistante (%)	Sensible (%)
P	90	10
RA	43,33	56,66
VA	23,33	76,66
GEN	46,66	53,33
FOX	33,33	66,66
OX	36,66	63,66
TE	90	10
E	46,66	53,33
C	3,33	96,66
FA	16,66	83,33
FF	16,66	83,33
AK	23,33	73,33

Tableau 31 : Répartition des souches de *staphylococcus aureus* selon la résistance à la méhticilline (SARM).

<i>Staphylococcus aureus</i>	MRSA	MSSA	Total
Nombre	12	18	30
Pourcentage	40%	60%	100 %

Annexe III

Tableau 32: Profil de l'antibiorésistance chez *Streptococcus*.

Antibiotiques	Résistante (%)	Sensible (%)
TE	80	20
RA	10	90
CTX	23,66	73,33
P	33,33	66,67
GEN	66,67	33,33
VA	10	90
E	16,66	83,33
DA	46,66	53,33
C	10	90
OFX	0	100

Glossaire

Amputation : est un geste chirurgicale au cours duquel s'effectue l'ablation d'un membre, d'une partie d'un membre ou d'une partie saillante.

Amyotrophie : diminution du volume des muscles striés. Cette dernière regroupe les muscles qui répondent à la volonté de l'individu, aussi appelés muscles squelettiques.

Anhidrose : l'absence de sécrétion de sueur (sécrétion sudorale).

Artériopathie : atteinte artérielle touchant les membres inférieurs et aboutissant à une diminution voire à un arrêt de la circulation dans les artères concernées.

Athérosclérose : maladie dégénérative de l'artère ayant pour origine la formation d'une plaque d'athérome (dépôt lipidique sur la paroi).

Cétose : est un état du métabolisme (pathogène chez certaines espèces) caractérisé par l'accumulation de corps cétoniques dans l'organisme, et notamment dans le sang (hypercétonémie).

Diverticulite : c'est l'inflammation des diverticules liée à une infection.

Dysesthésie : la sensibilité d'une partie du corps est altérée. Les dysesthésies incluent les fourmillements, les picotements, les sensations de brûlure et/ou d'irritation, les douleurs et les engourdissements.

Endocrinopathie : affection concernant les glandes endocrines.

Gangrène : est une affection qui correspond à une mort cellulaire (nécrose) pouvant atteindre une partie du corps comme le plus souvent un membre ou un organe. Il suffit que la circulation sanguine soit stoppée dans une zone (artère bouchée, infection) pour que la gangrène advienne : privés d'oxygène les tissus organiques se putréfient.

Gingivite : c'est l'inflammation des gencives.

Hyperglycémie : est une concentration en glucose dans le sang (glycémie) anormalement élevée. Pour un être humain, ceci correspond à une glycémie supérieure à 1,26 g/L à jeun et à 2,00 g/L le reste du temps.

Hyperkératose: affection de la peau qui se révèle par un épaissement de la couche superficielle de l'épiderme.

Hypoxie (du grec hupo : sous, et oxus : oxygène) : est la diminution de la quantité d'oxygène distribuée par le sang aux tissus.

Insulinodépendance : état d'un diabétique dont l'équilibre glucidique ne peut être assuré que par des injections d'insuline.

Insulinopénie : déficit de sécrétion d'insuline.

Ischémie : diminution de la vascularisation artérielle, donc de l'apport sanguin, au niveau d'une zone plus ou moins étendue d'un tissu ou d'un organe.

Macro angiopathie : c'est l'atteinte des gros vaisseaux par dépôts de cholestérol sur la paroi interne des artères.

Micro angiopathie : désigne une atteinte des petits vaisseaux sanguins. Elle est souvent associée au diabète et le facteur génétique est mis en cause dans certains cas.

Nécrose : terme qui désigne la mort d'un tissu de l'organisme.

Néphropathie diabétique : désigne toutes les affections qui touchent les petits vaisseaux du rein.

Neuropathie : se caractérise par l'affection d'un ou de plusieurs types de nerfs moteurs et sensitifs qui contrôlent les pieds et les mains, ainsi que les nerfs du système nerveux autonome qui contrôle les organes.

Ostéoarthropathie : une complication qui se manifeste, au stade précoce, par une inflammation localisée du pied ou de la cheville secondaire à une ostéolyse d'origine inflammatoire et neuropathique.

Paresthésie : la sensation de fourmillements, d'engourdissements ou autres picotements pouvant être ressentis dans diverses parties du corps, en particulier les membres et leurs extrémités (bras, mains, jambes, pieds).

Parodontite : inflammation du parodonte , c'est-à-dire des tissus de soutien de la dent : la gencive, le cément, le ligament alvéolo-dentaire et l'os alvéolaire, accompagnée d'une perte osseuse.

Paronychie : est l'inflammation des tissus mous qui entourent l'ongle.

Pus : exsudat pathologique de consistance liquide d'aspect louche et opaque tenant en suspension des leucocytes polynucléaires altérés et des microbes.

Rétinopathie diabétique : désigne toutes les affections qui touchent la rétine.

Sepsis: est une infection générale grave de l'organisme par des germes pathogènes.

Ulcération : perte de substances de revêtement cutané ayant peu de tendance à la cicatrisation.



Introduction



Chapitre I
Partie bibliographique



Chapitre II
Matériel et méthodes



Chapitre III
Résultats et discussion



Conclusion



Références bibliographiques



Annexes



Recommandations