

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'étude

En vue de l'obtention du diplôme de Master

En sciences biologiques

Option : Microbiologie –Bactériologie

### Thème

Identification et résistance aux antibiotiques des bactéries  
responsables du pied diabétique

Présenté par :

Ameur Mounira

Hocine Sarah

Date de soutenance : 29-06-2015.

Devant le jury composé de :

Mr Ben Yahia. N.	M.A.A	USDB 1	Président.
M <sup>me</sup> khaldoun. H.	M.A.A	USDB 1	Examinatrice.
M <sup>me</sup> Boudjema. N.	M.C.B	USDB 1	promotrice.

Promotion 2014/2015.

## *Remerciements*

*Dans le cadre de la réalisation de ce mémoire de fin d'étude nous remercions :*

*Tout d'abord Dieu, le tout puissant et Miséricordieux, pour nous avoir donné la force, le courage et surtout la patience pour bien accomplir ce travail.*

*Nos profonds remerciements sont adressés à notre promotrice Mme Boudjema. N. Pour avoir été disponible toute au long de la réalisation de ce mémoire, pour son aide, son soutien, son orientation et ses conseils.*

*Nous adressons nos sincères remerciements à Mr Ben yahia de nous avoir fait l'honneur de présider le jury examinant ce travail.*

*Nous tenons à adresser nos vifs remerciements à Mme Khaldoun pour l'honneur d'examiner ce travail.*

*Nos remerciements s'adressent également à 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 ainsi qu'à tous ceux qui ont collaboré d'une façon ou d'une autre à notre formation.*

*Nous remercions infiniment Mr Tafahi 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 ainsi nous avons eu la chance et le plaisir de travailler en collaboration avec Mlle Nekkab selma et acquérir de son expérience et d'être parmi le bon personnel du laboratoire d'hygiène de Blida.*

*Notre profonde reconnaissance à l'équipe du laboratoire d'analyses médicales et à l'ensemble du personnel de l'EPH Blida.*

*Ainsi la réussite de notre stage repose sur l'aide du personnel de l'EPH et la bienveillance de Aami Rabah au niveau de l'unité des soins du pied diabétique de Boufarik toutes en les remercions.*

*Nous remercions aussi tout ce qui ont contribué de près au de loin à l'élaboration de ce travail.*



## *Dédicaces*

Je dédie ce travail :

*A mes très chers parents*

*A la source duquel j'ai toujours puisé courage, confiance et persévérance. J'espère que j'ai été à la hauteur de vos espérances.*

*C'est avec beaucoup d'affection et de respect que je vous écris ces quelques mots, tout en sachant que jamais je ne pourrai vous remercier assez pour tout ce que vous avez sacrifié pour moi.*

*Je vous dédie ce travail en témoignage de mon respect et de ma gratitude pour votre soutien constant et sans limite. Puisse Dieu, le tout puissant, vous combler de santé, de bonheur et vous procurer longue vie.*

*A ma très chère sœur*

*A ma très chère grande mère*

*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 la mémoire de ma grande mère et ma tante.*

*Même si corporellement absentes, vous êtes et vous serez toujours présentes dans mon cœur. J'espère que vous êtes fières de ce que je suis devenue.*

*J'aurais tant aimé que vous soyez à mes côtés ce jour.*

*Aucune dédicace ne serait exprimer mon amour éternel.*

*Ni la mort ni le temps vous ferons oublier.*

*Que votre âme repose en paix.*

*A la mémoire de mon grand père*

*Je n'oublier jamais tes prières pour moi.*

*Que votre âme reposée en paix,*

*A Mes chères tantes et mes chers oncles.*

*A Mes chères cousines et mes chers cousins*

*A Mes chères amies et mes chers amis.*

sarah





## Dédicace

*Je dédie ce modeste travail à :*

*A mes très chers parents, Pour tout l'amour qu'ils me portent et pour leurs encouragements et leurs grands sacrifices. Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mes profonds sentiments envers eux, Je leur dédie ce travail en témoignage d'un grand amour et reconnaissance infinie, Que Dieu vous protège.*

*A ma très chère sœur que j'aime, à mes deux frères, à ma nièce nounou, Je vous souhaite beaucoup de bonheur et de réussite.*

*A ma très chère amie intime Safia, qui m'a accompagné dès mon enfance J'espère de tout mon cœur que notre amitié durera éternellement.*

*A mon très cher mari, pour son soutien, ses conseils, sa tolérance, sa patience et sa confiance.*

*A toute ma famille.*

*A Ma très chère amie et binôme Sara qui m'a toujours aidé et encouragé et qui m'a accompagné durant tout ces années. Merci beaucoup Sara, et toute sa famille.*

*Aussi, je dédie ce travail à toutes mes chères amies.*

*Aux diabétiques pour lesquels nous prions dieu d'apporter soulagement et guérison.*

*A tous les membres de ma promotion.*

*A tous mes enseignants depuis mes premières années d'études.*

*Mounira*

## Résumé

Notre travail porte sur l'étude des bactéries responsables des infections du pied diabétique qui est l'une des maladies fréquentes et qui favorise l'apparition d'infection bactérienne. 70 prélèvements de pus ont été prélevés à partir des pieds des patients diabétiques hospitalisés ou externes.

Les résultats obtenus au cours de notre étude ont montré une prédominance masculine de 65,71% alors que une prévalence de 34,28% chez les femmes. Nous avons noté que la tranche d'âge 45-65 ans est la plus touchée et les patients présentant le diabète de type II étaient les plus atteints du pied diabétique. Parmi les 66 cultures positives, 45 étaient monobactériennes et 21 polybactériennes. Parmi les quatre vingt neuf germes isolés, les Entérobactéries occupent la première position (55,05%) suivi par les *Staphylocoques* 28,08% viens par la suite les *Pseudomonas* (12,35), les *Streptocoques* (3,37%) et les *Acinetobacter* avec une faible prévalence de 5,66%.

L'antibiogramme effectué a montré que les Entérobactéries ont présenté une résistance élevée vis-à-vis les  $\beta$ -lactamines testés, de même pour les *Staphylococcus aureus* envers la Pénicilline et la Tétracycline et aussi à la méticilline (MRSA). Les *Pseudomonas* aussi ont montré une résistance importante vis-à-vis les  $\beta$ -lactamines, les aminosides, et même pour les *Streptococcus* vis-à-vis les aminosides et les Tétracyclines.

L'utilisation abusive d'antibiotiques et l'émergence de l'antibiorésistance des germes responsables de l'infection du pied diabétique conduit à la recherche d'un alternatif, par l'étude de l'effet antibactérien de l'huile essentielle de *Lavandula angustifolia* qui a montré son efficacité sur les différentes souches isolées dont *Staphylococcus aureus* est l'espèce qui a exprimé une grande sensibilité contrairement aux antibiotiques testés. Par contre *Pseudomonas aeruginosa* a montré une résistance totale.

**Mots clés :** Pus, Infection bactérienne, Pied diabétique Antibiorésistance, Huile essentielle de *Lavandula angustifolia*.

## **Abstract**

Our work relies on the study of the bacteria responsible of the diabetic foot infections, which is a common disease and which promotes bacterial infections occurrence. 70 pus samples were taken from the feet of hospitalized and non-hospitalized diabetic people.

The results show a male predominance of 65.71% while a female prevalence of 34.28%. We noted that the age group 45-65 years is the most affected and that patients with type II diabetes are the most suffering from the diabetic foot. Of the 66 positive cultures, 45 were mono-bacterial and 21 were poly-bacterial. 89 germs were isolated, of which, Enterobacteriaceae takes the first place (55.05%) followed by the *Staphylococcus* (28.08%) and then comes *Pseudomonas* (12.35%), *Acinetobacter* with a low prevalence of 5.66%.

The antibiograms conducted showed that Enterobacteriaceae showed high resistance towards the tested  $\beta$ -lactamines and for *Staphylococcus aureus* to Penicillin and Tetracycline and to methicillin (MRSA). *Pseudomonas* also showed significant strength towards the  $\beta$ -lactamines, aminoglycosides, even for *Streptococcus* towards aminoglycosides and *Tetracyclines*.

The overuse of antibiotics and the emergence of antibiotic resistance of germs responsible for the infection of diabetic foot leads to the search for an alternative, The *Lavandula angustifolia* Oil have proven effectiveness on different strains, such as *Staphylococcus aureus*, which is the species that has expressed great sensitivity unlike with the tested antibiotics. On the other hand, *Pseudomonas aeruginosa* showed complete resistance.

**Keywords :** Pus, bacterial infection, diabetic foot, Antibiotic resistance, essential oil of *Lavandula angustifolia*.

## ملخص

اعتمد عملنا على دراسة البكتيريا المتسببة في تعفن القدم السكري التي تعتبر واحدة من الأمراض الأكثر انتشارا.

70 عينة قيح أخذت من رجل مرضى السكري المتواجدين في مصلحة مرض السكري على مستوى المؤسسات الاستشفائية أو خارج المؤسسات.

بينت النتائج المتحصل عليها خلال دراستنا أن أغلبية المصابين من جنس الذكور بنسبة (65.71%) بينما نسبة النساء كانت (34.28%). لاحظنا أن فئة العمر التي تتراوح ما بين (45-65 سنة) و أن مرضى السكري من النوع 2 كانوا الأكثر عرضة للإصابة بالقدم السكري. من بين 66 عينة ايجابية، 45 عينة كانت أحادية البكتيريا و 21 عينة كانت متعددة البكتيريا. من مجموع 89 بكتيريا عزلت، احتلت العصيات ذات الغرام السالب المرتبة الأولى بنسبة (55.05%) متبوعة ب *Staphylococcus aureus* (28.08%) ثم *Pseudomonas* بنسبة (12.35%) وأخيرا

*Streptococcus* (3.37%) و *Acinetobacter* (5.66%) بأقل نسبة.

بين الانتيبو غرام أن *Enterobacteries* تمثل نسبة مقاومة عالية للبيتا لكتامين وكذلك *Staphylococcus aureus* للبينيسيلين، التيتراسيكلين و الميثيسيلين (*Staphylococcus aureus* المقاومة للميثيسيلين).

أظهرت *Pseudomonas* مقاومة معتبرة للبيتا لكتامين ، الامينوزيد، كما أبدت *Streptococcus* مقاومة للامينوزيد و التيتراسيكلين.

قادنا الاستعمال المفرط للمضادات الحيوية و ظهور مقاومة البكتيريا المسؤولة عن التهاب القدم السكري لهذه المضادات، إلى البحث عن البديل، أين أثبتت زيت الخزامى *Lavandula angustifolia* فعاليتها على مختلف أنواع البكتيريا التي تم عزلها، حيث أظهرت *Staphylococcus aureus* أكبر نسبة حساسية خلافا للمضادات الحيوية المستعملة. على عكس *Pseudomonas* التي أظهرت مقاومة كلية.

**الكلمات المفتاحية:** قيح، تعفن بكتيري، قدم سكري، مضادات حيوية، مقاومة المضادات الحيوية، زيت أساسية *Lavandula angustifolia*.



## *Glossaire*

**Amputation** : un geste chirurgical au cours duquel s'effectue l'ablation d'un membre, d'une partie d'un membre.

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

**Coronaropathie** : Affection des artères qui vascularisent le cœur, Elle entraîne une insuffisance du sang nommée ischémie myocardique.

**Gangrène** : est le résultat d'un arrêt de la circulation sanguine au niveau d'un tissu, entraînant la nécrose (mort) de celui-ci, se localisant généralement aux membres inférieurs.

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

**Hypoxie** : désigne une diminution de la quantité d'oxygène apportée aux organes par le sang.

**Insulinodépendant** : Qualifie une forme de diabète qui ne peut être réduite que par l'administration d'insuline, l'insulinodépendance caractérise un diabète nécessitant un traitement à l'insuline

**Ischémie** : Arrêt ou insuffisance de la circulation sanguine dans une partie du corps ou un organe, qui prive les cellules d'apport d'oxygène et entraîne leur nécrose.

**Macro angiopathie** : est l'atteinte des artères de moyen et gros calibre.

**Micro angiopathie** : est l'atteinte des petits vaisseaux sanguins (artérioles, capillaires).

**Nécrose** : correspond à la mort anormale et non programmée d'une cellule ou d'un tissu.

**Néphropathie diabétique** : est l'atteinte des petits vaisseaux des reins qui participent à leur fonctionnement, entraînant à terme une insuffisance rénale et une dialyse.

**Neuropathie** : l'atteinte du système neurologique, affecte le fonctionnement du système nerveux périphérique et du système nerveux autonome ; elle est responsable de douleurs, de troubles sensitifs ou de mal perforant plantaire.

**Phlegmon** : est une inflammation grave, due à des bactéries, de tissu conjonctif, avec formation de pus, celui-ci se diffuse ne créant donc pas d'abcès, lequel peut néanmoins apparaître ensuite.

**Plaie chronique :** est une plaie dont le délai de cicatrisation est allongé. Une plaie est considérée comme chronique après 4 à 6 semaines d'évolution, selon son étiologie.

**Polynévrite :** est l'atteinte du système nerveux entraînant une dégradation de la myéline (substance grasse formant la gaine des cellules nerveuses : neurones) du système nerveux périphérique.

**Rétinopathie diabétique :** est l'atteinte de la rétine, fine membrane essentielle à la vue qui recouvre la partie arrière de l'œil, cette atteinte peut entraîner à terme une baisse de la vue.

**sepsis :** terme remplaçant septicémie est défini comme l'ensemble des symptômes générés par l'organisme en réponse à une inflammation systémique. Après une infection, la propagation de celle-ci se fait par voie sanguine et un ensemble de signes cliniques en découlent.

**Ulcération :** la perte localisée de substance des couches superficielles de la peau, ou des muqueuses particulièrement difficiles à cicatriser.

## *Liste des abréviations*

ADH : Arginine dihydrolase.

ATB : Antibiotique.

ATCC : American type culture collection.

BGN : Bacilles à Gram Négatif.

BGT : Bouillon glucosé tomponné.

BHIB : Bouillon cœur cerveau.

BMR : Bactéries multirésistantes.

CGP : Cocci à Gram Positif.

CIT : Citrate perméase.

DHB : Dermo-hypodermite bactérienne.

DHBN : Dermo-hypodermite bactérienne nécrosante.

DID : Diabète insulino-dépendant.

DNID : Diabète non insulino-dépendant.

DZI : Diamètre de la zone d'inhibition.

EPH : Etablissement Public Hospitalier.

FN : Faciite nécrosante.

GLU : Glucose.

GN : Gélose nutritive.

GSF : Gélose au sang frais.

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> : Peroxyde d'Hydrogène.

H<sub>2</sub>S : Hydrogène Sulfuré.

HAT : Hypertension artérielle.

HE : Huile Essentielle.

LDC : Lysine décarboxylase.

MAN: Manitol.

MD : Malade diabétique.

Mel : Melibiose.

MH : Muller Hinton.

MRSA : Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.

MSSA : Methicillin-sensible *Staphylococcus aureus*.

N<sub>2</sub> : Azote.

NA Cl : Chlorure de sodium.

NO<sub>2</sub> : Nitrites.

NO<sub>3</sub> : Nitrates.

ODC : Ornithine décarboxylase.

ONPG: Ortho-nitro-phenyl-galactosidase.

PLP : Proteine liant les pénicillines.

RHA : Rhamnose.

RM : Rouge de méthyle.

SAC : Saccharose.

SOR : Sorbitol.

TDA : Tryptophane désaminase.

TSI : Triple Sugar Iron.

URE : Uréase.

USB : Unité de soin Boufarik.

Vp : Réaction de Voges-Proskauer.

## Liste de Figure

<b>Figure 1</b> : Espèce de <i>lavandula angustifolia</i> .....	14.
<b>Figure 2</b> : Différents types de plaies de pied diabétiques .....	15.
<b>Figure 3</b> : Illustration de l'identification par galerie api 20 <sup>E</sup> d' <i>Enterobacter Sakazakii</i> .....	27.
<b>Figure 4</b> : Principe de la méthode de diffusion par disque.....	30.
<b>Figure 5</b> : Répartition des patients en fonction du sexe.....	32.
<b>Figure 6</b> : Répartition des patients en fonction de l'âge .....	33.
<b>Figure 7</b> : Répartition des patients en fonction de l'âge et du sexe .....	34.
<b>Figure 8</b> : Répartition des patients en fonction du type de diabète.....	34.
<b>Figure 9</b> : Répartition des patients externes et internes. ....	35.
<b>Figure 10</b> : Répartition des prélèvements positifs et négatifs.....	36.
<b>Figure 11</b> : Répartition des résultats selon la nature des cultures obtenues.....	37.
<b>Figure 12</b> : Répartition des résultats selon le groupe de germes identifiés .....	38.
<b>Figure 13</b> : Répartition des résultats selon les germes identifiés.....	39.
<b>Figure 14</b> : Répartition globale des différentes espèces isolées.....	40.
<b>Figure 15</b> : Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez Entérobactéries.....	41.
<b>Figure 16</b> : Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches de <i>Pseudomonas sp</i> .....	42.
<b>Figure 17</b> : Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches de <i>Proteus sp</i> .....	42.
<b>Figure 18</b> : Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches d' <i>E. Coli</i> ....	43.
<b>Figure 19</b> : Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches de <i>Klebsiella</i> .....	44.
<b>Figure 20</b> : Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches de	

*Morganella morganii*.....44.

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

de *Staphylococcus aureus*.....45.

**Figure 22** : Répartition des souches de *staphylococcus aureus* selon la résistance

À la méthicilline (MRSA).....46.

**Figure 23** : Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches de

*Streptococcus* ... .....47.

**Figure 24** : Etude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de

*Lavandula angustifolia*.....49.

**Figure 25** : Ordination des variables sur 70 patients étudiés le long de deux axes

Principaux après l'analyse en composante Principale.....50.

**Figure 26** : Fiche de renseignement.....Annexe II.

**Figure 27** : Diagramme de l'examen cyto bactériologique de pus .....Annexe II.

**Figure 28** : Appareillage, verreries, réactifs et solutions.....Annexe II.

**Figure 29** : Les principaux milieux de culture utilisés .....Annexe II.

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Corrélation clinico-biologique entre les types de plaies et les germes impliqués et identifiés .....	11.
<b>Tableau 2</b> : Echantillonnage de pus du pied diabétique dans les hôpitaux et unité De soins .....	16.
<b>Tableau 3</b> : Répartition des patients selon le sexe.....	32.
<b>Tableau 4</b> : Répartition des patients selon les tranches d âge.....	33.
<b>Tableau 5</b> : Répartition des patients selon le sexe et l'âge.....	33.
<b>Tableau 6</b> : Répartition des prélèvements selon le type de diabète.....	34.
<b>Tableau 7</b> : Répartition des prélèvements selon les patients hospitalisation et Non hospitalisation.....	35.
<b>Tableau 8</b> : Répartition des résultats selon la positivité et la négativité des Prélèvements De pus.....	36.
<b>Tableau 9</b> : Répartition des prélèvements selon la nature des cultures obtenus .....	36.
<b>Tableau 10</b> : Répartition des résultats selon le Groupes de germes Identifiés.....	37.
<b>Tableau 11</b> : Répartition des germes identifiés selon le groupe.....	38.
<b>Tableau 12</b> : Répartition des souches des <i>Staphylococcus aureus</i> selon la résistance à la méthiciline.....	46.
<b>Tableau 13</b> : Résultats de l'activité antibactérienne de l'essence de la <i>Lavandula angustifolia</i> sur les différentes souches isolées.....	47.
<b>Tableau 14</b> : Résultats de l'antibiorésistance sur les différentes souches isolées.....	48.
<b>Tableau 15</b> : Classification de l'infection des plaies du pied selon le consensus International sur le pied diabétique .....	Annexe I.
<b>Tableau 16</b> : Principales familles d'antibiotiques et leur mode d'action.....	Annexe I.
<b>Tableau 17</b> : Tableau de la lecture de la galerie miniaturisée Api20E... ..	Annexe II.
<b>Tableau 18</b> : Liste des antibiotiques utilise au cours de notre stage .....	Annexe II.
<b>Tableau 19</b> : Valeur critique des diamètres des zones d'inhibition et des CMI	

Pour Les Entérobactéries .....	Annexe II.
<b>Tableau 20</b> : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI	
Pour <i>P.aeruginosa et Acinetobacter sp</i> .....	Annexe II.
<b>Tableau 21</b> : Valeur critique des diamètres des zones d'inhibition et des CMI	
Pour <i>Staphylococcus sp (S. aureus)</i> .....	Annexe II.
<b>Tableau 22</b> : Répartition globale des germes identifiés.....	Annexe III.
<b>Tableau 23</b> : Profil de l'antibiorésistance chez les Entérobactéries .....	Annexe III.
<b>Tableau 24</b> : Profil de l'antibiorésistance chez les souches de <i>Pseudomonas</i> ...	Annexe III.
<b>Tableau 25</b> : Profil de l'antibiorésistance chez les souches de <i>proteus sp</i> .....	Annexe III.
<b>Tableau 26</b> : Profil résultats de l'antibiorésistance chez les souches <i>Escherichia coli</i> .....	Annexe III.
<b>Tableau 27</b> : Profil l'antibiorésistance chez les souches de <i>Klebsiella</i> .....	Annexe III.
<b>Tableau 28</b> : Profil de l'antibiorésistance chez les souches de <i>Morganella</i> <i>morganii</i> .....	Annexe III.
<b>Tableau 29</b> : Profil de l'antibiorésistance chez les souches des <i>staphylococcus aureus</i> .....	Annexe III.
<b>Tableau 30</b> : Profil de l'antibiorésistance chez les souches des MRSA.....	Annexe III.
<b>Tableau 30</b> : Profil de l'antibiorésistance chez les souches des <i>streptococcus</i> ..	Annexe III.



## *Sommaire*

<b>Introduction</b> .....	1
<b>Chapitre I : Revue bibliographique</b>	
<b>1. Généralités sur le diabète</b> .....	3
1.1. Définition.....	3
1.2. Types de diabète .....	3
1.2.1. Diabète de type I.....	3
1.2.2. Diabète de type II .....	3
1.3. Complication de diabète .....	4
1.3.1. Complications micro-angiopathiques .....	4
1.3.2. Complications macro-angiopathiques .....	4
<b>2. Pied diabétique</b> .....	4
2.1. Epidémiologie.....	4
2.2. Facteurs pathogéniques.....	5
2.2.1. Facteurs pathogéniques internes .....	5
2.2.1.1-Neuropathies diabétiques .....	5
2.2.1.2-Artériopathie des membres inférieurs .....	6
2.2.1.3- Infections .....	6
2.2.2. Facteurs pathogènes externes .....	8
<b>3. Infections nosocomiales</b> .....	8
3.1. Germes responsables des infections nosocomiales .....	9
<b>4. Généralités sur le pus</b> .....	9
4.1. Définition.....	9
4.2. Mécanismes de formation.....	9
4.3. Symptômes de l'infection du pied diabétique.....	10
4.4. Principaux germes responsables de l'infection du pied diabétique.....	10
<b>5. Antibiotiques et antibiorésistance</b> .....	12
5.1. Différents types de résistance bactérienne.....	12

5.2. Mécanisme de la résistance bactérienne aux antibiotiques.....	13
--	----

<b>6. La lavande et l'activité antibactérienne .....</b>	<b>14</b>
--	-----------

## **Chapitre II : Matériel et Méthodes**

### **1. Matériel**

1.1. Matériel biologique.....	16
-------------------------------	----

1.2. Matériel non biologique.....	16
-----------------------------------	----

### **2. Méthodes.....**

2.1. Prélèvement du pus.....	16
------------------------------	----

2.2. Examen cytobactériologique de pus .....	17
--	----

2.2.1. Étude cytologique .....	17
--------------------------------	----

2.2.2. Etude bactériologique .....	17
------------------------------------	----

2.3. Identification des bactéries .....	19
---	----

2.3.1. Tests biochimiques .....	20
---------------------------------	----

2.3.2. Mini galerie API 20 <sup>E</sup> .....	26
---	----

2.4. Antibiogramme par diffusion des disques .....	27
--	----

2.5. Recherche de la résistance de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	28
---	----

2.6. Etude de l'activité antibactérienne de l'huile de <i>Lavandula angustifolia</i> .....	30
--	----

3. Analyse multivariée .....	30
------------------------------	----

## **Chapitre III : Résultats et discussion**

<b>Résultats .....</b>	<b>31</b>
------------------------	-----------

1. Répartition des résultats selon le facteur étudiées .....	32
--	----

2. Résultats de l'analyse microbiologique .....	35
---	----

3. Résultats de l'antibiorésistance .....	40
---	----

4. Etude de l'effet antibactérienne de la <i>Lavandula angustifolia</i> .....	47
---	----

5. Analyse multivariée .....	50
------------------------------	----

<b>Discussion</b> .....	61
<b>Conclusion</b> .....	66
<b>Recommandations</b> .....	63
<b>Références bibliographiques</b> .....	72
<b>Annexes.</b>	

# Introduction

## *Introduction*

Le diabète est une affection chronique caractérisée par une insuffisance absolue ou relative de la sécrétion en insuline (**Kembaum, 2008**). C'est une maladie extrêmement répandue dont le pronostic est conditionné à long terme par la gravité des complications dégénératives. Parmi celles-ci, les infections bactériennes du pied sont les plus fréquentes (**Boutoille et al., 2000**).

Le diabète se complique facilement par l'atteinte vasculaire, nerveuse, et cutanée. raison pour laquelle le pied d'un diabétique peut être sujet à différentes plaies dont l'évolution peut être rapidement très grave (**Aribi, 2008**).

Les infections du pied sont l'une des plus grandes causes de morbidité et de mortalité du diabète sucré (**Boutoille et al., 2000**). Ces infections entraînent une dégradation marquée de la qualité de vie (**Morel et al., 2012**). En effet, l'infection d'une ulcération d'un pied diabétique multiplie le risque d'amputation par un facteur de 10 (**Richard et Schuldiner, 2008**).

En Algérie, Le motif d'hospitalisation au service de diabétologie pour cause d'atteinte au pied est estimé entre 10 et 20%. Selon des statistiques récentes, 50% des amputés sont des diabétiques, 50% des amputés diabétiques meurent dans les 5 ans qui suivent l'opération chirurgicale et 15% des amputés développent fatalement un ulcère du pied (**Chakib, 2011**).

La collaboration entre les différentes disciplines médicales, chirurgicales et biologiques permet d'enchaîner sans retarder les différentes étapes de la prise en charge des infections du pied diabétique, de manière coordonnée. Ce qui permet d'assurer la gestion de la lésion, des pathologies neurologiques, vasculaires et/ou infectieuses sous-jacentes, l'hyperglycémie du patient diabétique dans son ensemble (**Got, 2001**). Le but commun est d'obtenir une cicatrisation des lésions et si possible la restitution d'un pied fonctionnel en évitant l'amputation (**Got, 2001**).

Malgré une approche multidisciplinaire, le traitement de ces infections reste difficile, grevé d'obstacles, d'échecs et de récives. La microbiologie occupe une place primordiale dans la prise en charge des infections du pied diabétique. L'amputation

est souvent à visée anti-infectieuse pour éviter l'extension d'une gangrène ou d'un sepsis sévère. Il est admis que plus de la moitié de ces amputations auraient pu être évitées par un traitement précoce et adéquat (**Bakker et Riley, 2005**),

D'où l'intérêt de notre travail, réalisé au niveau du laboratoire d'hygiène de la wilaya de Blida ainsi au laboratoire de l'Etablissement public hospitalier (EPH) de Blida, dont l'objectif principal est d'identifier les étiologies bactériennes responsables de ces infections et de déterminer leur sensibilité aux antibiotiques. Nous avons structuré notre travail comme suit :

- Isolement et identification des bactéries responsables des infections du pied diabétique de différents patients.
- Antibiorésistance de l'ensemble des bactéries identifiées.
- Etude de l'effet de l'huile essentielle de la plante *Lavandula angustifolia* vis-à-vis les bactéries isolées et identifiées.

Cette étude a pour objectif d'aider les cliniciens à adapter les antibiothérapies de première intention, limiter les prescriptions abusives et l'évolution de la résistance aux antibiotiques, afin d'éviter les complications et le recours à la chirurgie mutilante. Enfin, trouver une thérapie, des soins ou un traitement efficace ralentissant la multiplication des bactéries à base de l'huile essentielle de *lavandula angustifolia*, probablement pourra éviter la propagation de la plaie nécrosée et restituera un pied diabétique en évitant l'amputation.

# Chapitre I

## Revue bibliographique

## Chapitre I

### 1. Généralités sur le diabète

#### 1.1. Définition

Le diabète est une maladie métabolique avec une hyperglycémie chronique liée à un défaut ou une insuffisance de sécrétion de l'insuline, à des anomalies d'action de l'insuline ou bien à l'association de ces deux mécanismes (**Annick et al., 2012; Yach et George, 2003**).

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

L'ancienne classification du diabète, insulino-dépendant (DID) et non insulino-dépendant (DNID) était fondée sur leur traitement plutôt que leur mécanisme causal. Depuis 1997, l'Organisation Mondiale de Santé a proposé une classification établie d'après une approche pathologique plutôt que thérapeutique (**Redier, 2001**).

#### 1.2. Types de diabète

##### 1.2.1. Diabète de type I

Le diabète insulino-dépendant (DID) ou type I ou diabète maigre, est une maladie auto-immune détruisant les cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans du pancréas, conduisant à une diminution et finalement à un arrêt de la sécrétion d'insuline. L'hyperglycémie ne se révèle que lorsque 90% des cellules sont détruites (**Marshall et Bangert, 2005 ; Buffet et Vazier, 2010**).

##### 1.2.2. Diabète de type II

Le diabète de type II ou diabète non insulino-dépendant (DNIB) est la forme la plus courante de la maladie. Il touche généralement les adultes. Dans ce type l'organisme est capable de produire de l'insuline, mais soit la quantité produite est insuffisante, soit l'organisme ne réagit pas à l'action de l'insuline, ce qui entraîne une accumulation de glucose dans le sang, ce type de diabète peut passer inaperçu et ne pas être diagnostiqué pendant des années. Contrairement aux personnes atteintes de diabète de type I, la majorité des personnes atteintes de diabète de type II n'ont pas besoin d'une dose quotidienne d'insuline pour survivre. (**Nam Han Cho et al., 2013**).



### 1.3. Complication de diabète

L'hyperglycémie est un effet fréquent de diabète non contrôlé qui conduit avec le temps à des atteintes graves de nombreux systèmes de l'organisme et plus particulièrement les nerfs et les vaisseaux sanguins. De nombreuses complications dégénératives ont été observées telles que :

#### 1.3.1. Complications micro-angiopathiques

Elle résulte avant tout de l'hyperglycémie chronique. En effet, celle-ci entraîne une glycosylation des protéines qui à son tour provoque une altération de la paroi des micro-vaisseaux et du contenu vasculaire (**Perlemuter et Morin, 2004**). Les complications de la micro-angiopathie sont : la rétinopathie diabétique, la néphropathie diabétique et la neuropathie diabétique (**Ondoua, 2012**).

#### 1.3.2. Complications macro-angiopathiques

Ce type de complication regroupe la coronaropathie (atteinte cardiaque) et les pieds diabétiques et les infections qui aboutissent à des troubles trophiques (**khalfa, 2001**).

## 2. Pied diabétique

Le terme pied diabétique regroupe l'ensemble des infections du pied, directement liées aux répercussions du diabète (**Grimaldi, 2005**). En 2007, le consensus international sur le pied diabétique a donné la définition suivante du pied diabétique : infection, ulcération ou artériopathie périphérique des membres inférieurs chez le diabétique (**Ha van, 2008**).

### 2.1. Epidémiologie

Les études statistiques réalisées montrent qu'il ya 250 millions de malades diabétiques (MD) dans le monde et qu'il aura probablement 366 millions en 2030, Parmi ces diabétiques 15 à 25% développeront un ulcère de pied (**Lavery et al., 2003 ; Montequin et al. 2007 ; Vuorisalo et al. 2009** ).

Un diabétique avec une lésion trophique du pied à 10 à 20 fois plus de risques de subir une amputation majeure qu'un non diabétique (**Pariollet, 2004**).

Plus d'un million d'amputations sont réalisées en une année dans le monde chez les malades diabétiques dont 50% à 85 % de ces amputations peuvent être prévenues par un diagnostic précoce et un traitement approprié (**Amstrong et al., 1998 ; Vuorisalo et al., 2009**).

## 2.2. Facteurs pathogéniques

Le pied du patient diabétique devient pathologique s'il présente une plaie chronique qui dure plus de deux mois, cependant tous les diabétiques ne sont donc pas concernés par ce risque (**Grimaldi, 2005**). Les plaies chroniques du pied diabétique résultent fréquemment une combinaison des facteurs internes et externes (**Herisson et Simon, 1993 ; Grumbatch et Jean, 2005**).

### 2.2.1. Facteurs pathogéniques internes

Trois mécanismes diversement associés peuvent être impliqués.

#### 2.2.1.1-Neuropathies diabétiques

La neuropathie diabétique est due à l'atteinte micro-angiopathique des nerfs des membres inférieures. Elle se traduit cliniquement par une polynévrite des membres inférieurs. Parfois douloureuse, elle est le plus souvent asymptomatique et induit une perte de sensibilité distale progressive et insidieuse (**Félix, 2001 ; Benba et Braun, 2008**).

##### ➤ Neuropathie sensitive

La neuropathie sensorielle et les troubles de sensibilité (thermique, tactile, allergique et profonde) constituent le facteur le plus important dans l'apparition des complications au pied chez le diabétique. La diminution de la perception du chaud est souvent l'atteinte nerveuse la plus précoce puis apparaît la diminution de la perception du froid. Le patient diabétique ne se rend souvent pas compte de cette conséquence de cette anomalie est la brûlure par contact de source de chaleur mal évaluée (**Rovan et Rigalleau, 2005**).

##### ➤ Neuropathie motrice

La neuropathie motrice est le déficit moteur se remarque par l'atrophie des muscles intrinsèques, la faiblesse, le déséquilibre entre les muscles fléchisseurs et extenseurs du pied et les contractures. Tout ceci conduit à la déformation du pied est aux troubles statiques (**Gin et Rigalleau, 2005 ; Lushiku, 2006**).

➤ **Neuropathie végétative**

La neuropathie végétative est responsable d'une sécheresse cutanée anormale et d'une hyperkératose favorisant le développement des durillons et des callosités (Daubechies, 2011). L'atteinte autonome est vue tardivement, mais elle peut parfois apparaître avant les autres complications. Les os fragiles peuvent facilement se déformer, se casser ou entraîner des anomalies de la surface d'appui du pied au sol (Medart, 2009).

**2.2.1.2-Artériopathie des membres inférieurs**

Le diabète est un facteur de risque vasculaire qui touche les vaisseaux de tout calibre. Chez le patient diabétique, les lésions oblitérantes sont plus fréquentes au niveau jambier, sur les artères de moyen et petit calibre, que les lésions aorto-iliaques. La localisation des lésions artérielles ne dépend pas que du diabète, mais également des autres facteurs de risque vasculaire qui peuvent lui être associés. Des artériopathies proximaux, distaux ou mixtes ont ainsi été décrits. Les artériopathies proximaux correspondent à des lésions iliaques et/ou fémorales. Les artériopathies distales concernent les axes jambiers et sont dans la majorité des cas bilatéraux et relativement symétriques (Got et al., 1996).

➤ **Lésions du pied ischémique**

Les lésions sur pied ischémique se présentent sous forme d'une nécrose localisée. Il peut s'agir d'une petite zone de gangrène sèche siégeant sur un orteil et favorisée par un microtraumatisme local. La lésion initiale est superficielle, indolore et violacée. Elle est remplacée par une nécrose qui s'étend en surface et creuse en profondeur. L'extension peut être rapide et grave, avec une surinfection des tissus hypoxiques, se traduisant par des phénomènes inflammatoires locaux (rougeur, œdème, lymphangite), plus rarement une gangrène massive. L'évolution est rarement spontanément favorable, avec constitution d'un sillon en périphérie de la lésion et "perte sèche" d'une phalange ou d'un orteil (Got et al., 1996).

**2.2.1.3-Infections**

Est définie par une invasion tissulaire avec multiplication de micro-organismes entraînant des dégâts tissulaires avec ou sans réponse inflammatoire de l'organisme.

Dans le cas du pied diabétique, cette infection est en règle secondaire à une plaie cutanée (**Lipsky et al., 2004**).

#### a) Infections superficielles

Concernent les couches tissulaires au-dessus de l'aponévrose superficielle, séparant l'hypoderme de la couche musculaire sous-jacente, réalisant des tableaux de dermo-hypodermite bactérienne aiguë (**Ha van, 2008**).

- **La dermo-hypodermite bactérienne (DHB)** : C'est défini par l'atteinte de l'hypoderme correspondant à la couche tissulaire située entre l'épiderme et l'aponévrose superficielle (**Lipsky, 2008**).
- **La dermo-hypodermite bactérienne nécrosante (DHBN)** : le terme dermo-hypodermite bactérienne nécrosante été proposé pour regrouper les formes touchant les tissus cellulaires cutanés et sous-cutanés correspondant aux tableaux classiques de l'érysipèle et de cellulite bactérienne superficielle (**Bernard et al., 1995**).
- **La fasciite nécrosante (DHBN-FN)** : C'est l'atteinte de l'aponévrose superficielle. Elle se traduit par les décollements cutanés et la coloration rapidement violacée des téguments sans ni pus ni abcès (**Lipsky, 2008**).

#### b) Infections profondes

Elles touchent l'aponévrose superficielle, les muscles ou les structures ostéo-articulaires (**Ha van, 2008**). Trois formes d'infections sont décrites :

- **La gangrène humide** : Est définie par la présence de tissus nécrotiques noirâtres. Les lésions sont rapidement évolutives avec décollement et pus grisâtre d'odeur nauséabonde, pouvant aboutir à une dégradation rapide de l'état général avec sepsis, déséquilibre métabolique et insuffisance rénale.
- **Les collections purulentes** : Peuvent se présenter sous la forme d'abcès (forme collectée) ou de phlegmon (forme circonscrite par les structures tissulaires) dans les parties molles du pied, voire de la jambe, parfois difficile à mettre en évidence cliniquement et pouvant nécessiter le recours à des examens d'imagerie (**Richard et al., 2007**).
- **L'ostéite et l'ostéo -arthrite** : L'atteinte l'ostéo-arthrite est une complication potentielle de toute plaie infectée du pied diabétique. En effet, l'ostéite du pied diabétique touche de 30% à plus de 60% des patients. Elle doit être recherchée

systématiquement (**Senneville, 2007**). L'ostéite survient en présence d'une ulcération du pied, elle correspond à l'extension d'une infection des tissus mous aux structures osseuses sous-jacentes à travers la corticale puis jusqu'au canal médullaire (**Hartemann, 2008**).

### 2.2.2. Facteurs pathogènes externes

Plusieurs facteurs externes participent au développement des infections tels que :

- **Chaussures inadaptées (50%)** : Les chaussures étroites, neuves ou trop usées (par les aspérités dues au cuir ou aux coutures), la présence des corps étrangers dans les chaussures sont les principaux facteurs qui blessent le pied, les supports plantaires telles les semelles orthopédiques peuvent aussi être la cause des lésions lorsqu'elles sont déformées et durcies, ou pliées. Les chaussettes synthétiques avec d'épaisses coutures au niveau des orteils peuvent également léser le pied (**Reiber et al., 2004**).
- **Gestes inadaptés (25%)** : Les soins de pied mal faits par le patient lui-même ou par le pédicure peuvent être responsables des blessures. Lors de l'usage d'un instrument tranchant, c'est la vue qui doit guider le geste et non la perception de la douleur. Lorsque la douleur apparaît, la plaie est déjà provoquée (**Lashiku, 2006**).
- **Hygiène ou comportement inadapté (25%)** : La mycose interdigitale sur une peau qui est déjà fragilisée entrainer une infection profonde. Lorsque les ongles poussent de façon anarchique, ils peuvent léser l'orteil impliqué ou l'orteil voisin. Les bains de pieds prolongés dans le but de ramollir les callosités, créent une macération des callosités qui sont souvent fissurées, ceci favorise la pénétration profonde des germes présents dans les fissures (**Lashiku, 2006**).

## 3. Infections nosocomiales

Les patients diabétiques ayant des problèmes au niveau des pieds sont vulnérables aux infections nosocomiales (**Regnaul, 2002; Grimaldi, 2005; Stahl et al., 2007**) . Cela peut être expliqué par plusieurs facteurs :

- Longue durée de l'hospitalisation : (25%) des journées d'hospitalisation diabétologies, elle peut varier de 14 à 45 jours.

- 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.
- Manipulation d'actes chirurgicaux : amputation et débridement (excision des parties molles nécrosées, les tissus dévitalisés contaminés et les tissus fibreux).
- Désinfection inadéquate de la peau avant l'intervention chirurgicale ou l'emploi d'antiseptiques contaminés.
- Absence de mesures aseptiques au cours du changement de pansement du pied.
- Chronicité de la lésion et la lenteur de la cicatrisation.
- Administration d'antibiothérapie probabiliste large.

### 3.1. Germes responsables des infections nosocomiales

Les infections nosocomiales sont dues à des bactéries telles que (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Entérocoques*, *Proteus mirabilis*) considérées comme des agents non pathogènes (**Regnau, 2002**). Ils ont la particularité d'être souvent multi-résistants aux antibiotiques (**Epelboin et Macey, 2009**), Ce qui nécessitent une surveillance épidémiologique rigoureuse (**Eyquem et al., 2000**).

## 4. Généralités sur le pus

### 4.1. Définition

Le pus est liquide pathologique plus ou moins épais, opaque, souvent jaunâtre, qui se forme sur le site de l'infection en particulier à la suite des blessures. Il est formé des bactéries mortes ou vivantes, des globules blancs morts ou affaiblis et de fibrine (**Bognaul, 2003**). Si l'infection est superficielle, le pus formé s'écoule spontanément à l'extérieur, si elle a lieu dans les tissus profonds le pus reste emprisonné et forme un abcès (**Regnau, 2002**).

### 4.2. Mécanismes de formation

La manifestation le plus général d'une infection locale ou régionale est la réaction inflammatoire (**Regnau, 2002**) qui a pour objet de diriger les molécules sériques et les cellules du système immunitaire vers le site de la lésion tissulaire (**Male, 2005**). La réaction inflammatoire joue à la fois un rôle bénéfique et un rôle néfaste :

- Son rôle bénéfique est dû au fait que la réaction d'inflammation agit comme un signal d'alerte permettant à l'organisme de mobiliser très rapidement les cellules phagocytaires.
- L'aspect néfaste se traduit par une destruction tissulaire locale. L'expulsion dans le milieu extracellulaire du contenu très acide et riche en enzymes des vacuoles de digestion entraîne la destruction des phagocytes eux-mêmes, et des cellules environnantes, avec formation de pus et d'une lésion tissulaire plus ou moins importante allant jusqu'à la nécrose (Canu et Francois, 2001).

### 4.3. Symptômes de l'infection du pied diabétique

Le diagnostic d'infection du pied chez le diabétique repose sur la présence d'au moins deux des signes suivants : augmentation de volume, induration, érythème, sensibilité locale ou douleur, chaleur locale ou présence de pus (Stahl et al., 2007). La sévérité de l'infection sera jugée d'après la classification du consensus international sur le pied diabétique (Tableau 14, Annexe I).

Les signes classiques comme un tissu friable, un décollement profond ou une odeur nauséabonde sont également en faveur d'une infection. La réapparition d'une douleur est un signe de gravité (Stahl et al., 2007). Dans certains cas, l'infection est suspectée devant un déséquilibre glycémique brutal du diabète ou en raison d'une évolution défavorable de la cicatrisation sans autre cause évidente (Senneville, 2008).

### 4.4. Principaux germes responsables 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 Streptocoques  $\beta$ -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 (Tableau1).

**Tableau 1** : 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 $\beta$ -hémolytiques.
Plaie chronique ( $\geq 1$ mois) ou antérieurement traitée par des antibiotiques.	<i>S. aureus</i> , streptocoques $\beta$ -hémolytiques, entérobactéries.
Plaie traitée par céphalosporines d'évolution défavorable.	Entérocoques.
Plaie de longue durée (ulcère $\geq 6$ mois), traitement antérieur par des antibiotiques à large spectre.	Polymicrobienne : cocci à Gram positif aérobie ( <i>S. aureus</i> , streptocoques $\beta$ hémolytiques, <i>staphylococcus aureus</i> a coagulase négatif (SCN), entérocoques), corynébactéries, entérobactéries, <i>Pseudomonas spp</i> , 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 stricts.



## 5. Antibiotiques et antibiorésistance

Les antibiotiques (ATB) sont des substances naturelles produites par certains micro-organismes, elles sont actives sur d'autres bactéries. Aujourd'hui, les antibiotiques sont produits par synthèse chimique (**Rémy, 2010**). 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 supérieur (**Danan et Aurore, 2006 ; Rémy, 2010**).

La résistance aux antibiotiques apparaît comme un événement normal de l'évolution des micro-organismes (Tableau 16, Annexe I) (**Van Bambeke et al., 2008**). Elles sont capables de supporter sans dommage une concentration de l'antibiotique supérieur à celle que l'on peut réaliser dans l'organisme (**Charpentier et al., 2001**). Donc elle ne pourra être atteinte en utilisant cet antibiotique comme traitement (**Bergman et al., 2001**).

### 5.1. Différents types de résistance bactérienne

On distingue deux types de résistance selon leur origine. Elle peut être naturelle ou acquise (**Vaubourdolle, 2007**).

#### a) Résistance naturelle

La résistance naturelle est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce, elle peut être due à l'inaccessibilité de la cible pour l'ATB qu'est une conséquence des différences existant entre les structures pariétales bactérienne, à une faible affinité de la cible pour l'ATB, ou encore à l'absence de la cible (**Poyart, 2003**).

#### b) Résistance acquise

C'est l'acquisition de nouveaux gènes capables de rendre la bactérie insensible à un antibiotique ou à un groupe d'antibiotique. Ce nouveau gène peut être obtenu soit par mutation au niveau du chromosome qui est un phénomène rare soit par transfère

d'ADN de plasmides conjugatifs ou de transposons (mécanisme le plus fréquent) (Yala *et al.*, 2001).

## 5.2. Mécanisme de la résistance bactérienne aux antibiotiques

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

### a) 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  $\beta$ -lactamine, les aminosides et les phénicoles (Bevilacqua, 2011).

### b) 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).

### c) Diminution de la perméabilité

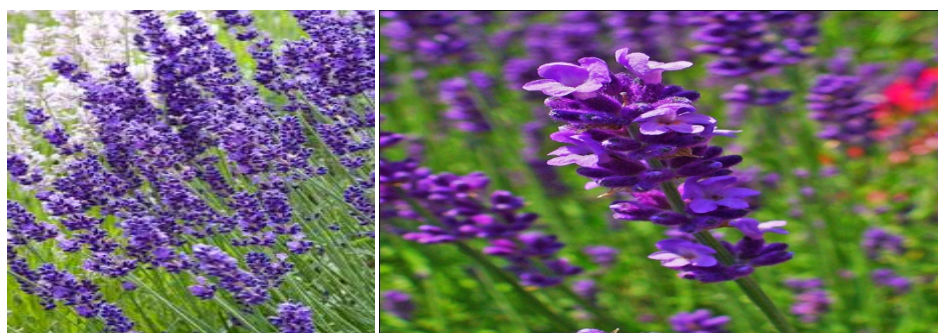
Les porines sont des protéines formant des pores dans la membrane externe des bactéries à Gram négatif et permettant le passage de certaines molécules hydrophiles. Des mutations peuvent entraîner une perte de certaines porines et de ce fait entraver la pénétration de certains antibiotiques. Ces mutations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

### d) 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).

## 6. La lavande et l'activité antibactérienne

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). La lavande est employé comme expectorant, antispasmodique, désinfectant des plaies, contre les problèmes dermiques, possède des propriétés antimicrobiennes et anti-carcinogènes, antioxydants, anti-inflammatoires et insecticides (Goren et al., 1988 ; Chu et al., 2001) et aussi bien dans l'aromathérapie (Lazarin et al., 2010). La systématique de la lavande est comme suit :



**Figure 1 :** Espèce de *Lavandula angustifolia*.

Sous classe : Astéridée  
Classe : Euastéridées.

Ordre : Lamiales.

Famille : Lamiaceae.

Genre : *Lavandula*

Espèce : *Lavandula angustifolia*.

L'huile essentielle de la lavande est l'une des plus puissantes huiles antiseptiques, elle est très efficace dans la prévention des infections, car elle possède d'incontestable vertu antiseptique connue de façon empirique depuis des siècles. Cette importante propriété a été scientifiquement démontrée in vitro et in vivo.

En application externe elles détruisent les bactéries qui sont généralement à l'origine des complications des plaies, il semblerait que cette propriété soit en lien avec le pH plutôt acide des huiles essentielles. Grâce à ces propriétés antiseptiques, la lavande permet une cicatrisation optimale et rapide. En effet, elle stimulerait la régénération cellulaire (Lazarin et al., 2010).

## Chapitre II

### Matériel et méthodes

**Chapitre II : Matériel et méthodes****1. Matériel****1.1. Matériel biologique**

Notre travail est basé sur l'étude du pus prélevé à partir de 70 patients diabétiques souffrant des plaies du pied provenant de 02 hôpitaux (EPH de Blida et EPH de Boufarik) et de l'unité de soins de Boufarik de (USB) (Tableau 2). Pour une durée de stage de trois mois. En tenant compte des facteurs suivants : âge, sexe, type de diabète et l'hospitalisation (interne ou externe).

Tableau 2 : Echantillonnage de pus du pied diabétique dans les hôpitaux et unité de soins.

Etablissement	EPH Boufarik	EPH Blida	USB
Nombre de prélèvement	50	14	6
Total	70		

**1.2. Matériel non biologique**

Le matériel non biologique est représenté par les verreries, les appareillages, les réactifs, les milieux de cultures, et les disques d'antibiotiques utilisés (Figure 25, 26, Annexe II).

**2. Méthodes****2.1. Prélèvement du pus**

Le prélèvement est une étape essentielle du diagnostic qui doit répondre aux meilleures conditions d'asepsie avant toute antibiothérapie. Plusieurs méthodes de prélèvement peuvent être conseillées et la méthode que nous avons utilisée est :

➤ **L'écouvillonnage**

Avant tout prélèvement, la plaie doit être nettoyée par l'eau physiologie, ensuite le pus est prélevé à l'aide d'un écouvillon en passant sur une surface de 1cm<sup>2</sup> de la plaie, dans un mouvement de zigzag combiné d'une rotation.

Ce prélèvement doit effectuer sur deux écouvillons l'un pour l'examen direct (cytologie) et l'autre pour la culture (microbiologie).

➤ **Conservation et transport**

Le prélèvement est transporté à la température ambiante (25°C) et dont la durée ne dépasse pas les deux heures et il est analysé très rapidement (**Dieusaert, 1996**). En cas de transport long, les prélèvements seront conservés dans une glacière à 4°C.

➤ **Fiche de renseignements**

Chaque prélèvement a été accompagné d'une fiche de renseignements clinique comportant : le sexe, l'âge, la date de prélèvement, le service d'origine et le traitement antibiotique déjà administré (Figure 25, Annexe II).

## **2.2. Examen cytobactériologique de pus**

Les prélèvements réalisés ont fait l'objet d'une étude cytologique pour la recherche des leucocytes et des hématies dans le pus, et d'une étude bactériologique pour la recherche des germes présents.

### **2.2.1. Étude cytologique**

Cette étude est basée sur la recherche des leucocytes et des hématies, à l'aide d'une observation macroscopique et microscopique. Cet examen cytologique doit être réalisé rapidement puisqu'on considère que les polynucléaires neutrophiles sont lysés à 32%, une heure après leur prélèvement (**Carbonnel et al., 1987**).

### **2.2.2. Etude bactériologique**

Cette étude a pour objectif de rechercher et d'isoler les bactéries présentes dans le pus. Une observation macroscopique et microscopique de pus est primordiale dans l'étude bactériologique avant de passer à l'isolement et l'identification des bactéries.

#### **a) Examen macroscopique**

Cet examen nous renseigne sur la couleur, la consistance (peut aller d'un liquide trouble à une matière épaisse collante) et l'odeur (odeur fétide est l'une des caractéristiques principales de l'infection anaérobie ou mixte aero-anaérobie).

- Un pus jaune, épais bien lié, probablement orienté vers le Staphylocoque.
- Un pus clair, séreux et blanchâtre probablement orienté vers le Streptocoque.
- Un pus verdâtre ou bleuâtre d'odeur aromatique probablement orienté vers le bacille pyocyanique.
- Un pus grisâtre et généralement fétide probablement orienté vers les germes anaérobiques.
- Un pus bleu vert témoignerait de la présence de *Pseudomonas* (Carbonnel et al., 1987).

### b) Examen microscopique

L'examen microscopique peut être effectué en deux états : état frais (sans coloration de l'échantillon) et état fixé (avec coloration au bleu de méthylène), cet examen renseigne sur la présence de bactéries, leur forme et leur disposition ainsi sur la présence d'éléments cellulaires (Denis et al., 2007).

#### b.1) Etat frais

Cette technique correspond à l'observation directe du pus entre lame et lamelle sans fixation préalable du matériel par la chaleur ou l'alcool.

**Principe :** elle permet l'observation des bactéries vivantes et la détermination de leur morphologie, de leur groupement, de leur mobilité éventuelle, et de la quantité approximative de la bactérie (Delarras, 2014).

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

Préparation de frottis : déposer une ou deux gouttes de prélèvement bien homogène sur une lame à l'aide d'une pipette pasteur stérile. Étaler la goutte. Puis fixer l'étalement par la chaleur en flambant sur bec bunsen.

Coloration simple au bleu de méthylène est réalisée en faisant couler une solution de bleu de méthylène sur un frottis correctement fixé, laissé une minute. Sécher entre deux feuilles de papier buvard après un rinçage avec de l'eau de robinet, une observation est réalisée au microscope optique à l'objectif x10 ou x40.

**Lecture :** les bactéries apparaissent sous forme de bacille ou cocci en bleu, lymphocytes granulées avec noyau au centre coloré en bleu, polynucléaire de noyau bilobé coloré en bleu.

### **C) Recherche et isolement des bactéries**

Dans cette étude, nous avons recherché les bactéries d'intérêt médical, les plus fréquemment responsables d'infection de la plaie : les bacilles/cocci à gram négatifs et positifs, les entérobactéries, les staphylocoques, les streptocoques.

#### **C.1) Technique d'ensemencement**

Nous avons ensemencé les prélèvements (une goutte de pus est mise sur la gélose) sur les milieux de cultures (gélose nutritive (GN), Chapman, Hektoen, gélose au sang frais (GSF)), en utilisant la méthode des quadrants. Ce mode d'ensemencement permet d'isoler les différentes bactéries contenues dans un mélange. A l'aide d'une pipette pasteur stérile boutonnée, nous avons déposé un échantillon du pus près d'un bord de la boîte de pétri ou en une strie dans un quart de la boîte qui constituera le premier quadrant, un isolement est effectué.

#### **C.2) Enrichissement des prélèvements**

Après avoir ensemencé les prélèvements sur les milieux cités ci-dessus, ces derniers sont transposés dans un milieu d'enrichissement qui peut être soit du bouillon gélosés tamponné (BGT) ou bouillon cœur cerveau (BHIB) pour favoriser la croissance des bactéries très faible ou fragile pour pouvoir ainsi les réensemencer après une incubation de 24h si la culture d'origine est faible ou absente.

### **d) Identification des bactéries**

Les cultures positives ont fait l'objet d'une identification bactérienne par une étude biochimique et d'autres tests spécifiques (galerie classique et la mini galerie API 20E), qui est précédée par l'étape de la coloration de Gram.

#### **d.1) Coloration de Gram (Double coloration)**

Cette coloration permet de diviser le monde bactérien en deux groupes distincts (Gram+, Gram-). Cette division est principalement liée à une différence de structures chimiques de la paroi cellulaires bactériennes (**Delarras et al., 2007**).



**Technique :**

D'abord nous possédons à la préparation d'un frottis : Déposer sur une lame propre une goutte d'eau physiologique stérile et à l'aide d'une pipette pasteur stérile, nous avons prélevé une colonie bien isolée à partir de la culture bactérienne de 24 heures, en étalant bien la goutte sur la lame par un mouvement régulier et circulaire, laissant sécher le frottis en flambant sur bec bunsen.

Sur le frottis fixé :

- Recouvrir la lame de violet de Gentiane : 1minute.
- Recouvrir de Lugol : 1minute.
- Déclore à l'alcool, la lame est tenue inclinée. La durée de décoloration à l'alcool est variable selon l'épaisseur de frottis.
- Stopper la décoloration par un nouveau lavage à l'eau.
- Recouvrir la lame de fuchsine 30 secondes à 1 minute.
- Laver à l'eau. Sécher entre deux feuilles de papier filtre, puis à la chaleur (**Denis et al., 2007**).

**Lecture :** Au microscope optique ; les bactéries (Gram+) apparaissent en violet foncé tandis que les bactéries (Gram-) sont colorés en rose ou en rouge.

**2.3. Identification des bactéries**

L'identification des bactéries à Gram négatif et à Gram positif a été effectuée par les tests biochimiques (galerie classique) et la mini galerie API 20<sup>E</sup>.

**2.3.1 Tests biochimiques (Galerie classique)**

Des tests biochimiques conventionnels du métabolisme respiratoire, glucidique ou protéique, ont été utilisés pour la différenciation de bactéries (entre familles, entre genres) ou pour leur identification.

**a) Etude de type respiratoire****\*Test d'oxydase**

**Principe :** Les bactéries possèdent une chaîne respiratoire complète sont dotées d'une cytochrome oxydase (**Denis et al., 2007**). En présence d'oxygène atmosphérique et de cytochrome C, cette enzyme oxyde le réactif pour former un composé coloré en

violet, l'indophénol. L'acide ascorbique incorporé dans le réactif « Oxydase Reagent », agit en tant qu'agent producteur pour limiter l'auto-oxydation du réactif et améliorer la stabilité du réactif (Delarras, 2014).

**Technique :** La mise en évidence de cette oxydase est effectuée à l'aide d'un disque imprégné d'une solution aqueuse à 1% de chlorhydrate de diméthyle paraphénylène diamine sur lequel les colonies sont déposées à l'aide d'une pipette pasteur (Denis et al., 2007).

**Lecture :** La réaction est instantané formation d'un complexe violet au contact de cette enzyme indique un test positif. La bactérie est dite oxydase positive. La réaction tardive ou absence de couleur indique un test négatif (Denis et al., 2007).

### b) Etudes de l'accepteur de minéraux

#### \*Recherche d'une nitrate réductase

**Principe :** Les bactéries qui possèdent une nitrate réductase sont capables de transformer les nitrates ( $\text{NO}_3$ ) en nitrites ( $\text{NO}_2$ ) et éventuellement en azote ( $\text{N}_2$ ) (Denis et al., 2007).

**Technique :** Un bouillon nitraté estensemencé avec la bactérie à étudier et incubé 18 heures à 37°C. Après incubation, 3 gouttes d'une solution sulfanilique (Griess A) et 3 gouttes d'une solution de naphtylamine (Griess B) ont été ajoutées au bouillon (Denis et al., 2007).

**Lecture :** Si une coloration rouge fugace apparaît les nitrates ont été réduits au stade nitrites.

En absence de coloration soit les nitrates sont réduits au stade azote soit la bactérie ne possède pas la nitrate réductase. Pour trancher, l'addition de la poudre de zinc est nécessaire (Réactif Zobell qui va réduire les nitrates en nitrites).

-Si une coloration rose apparaît alors la bactérie ne possède pas de nitrate réductase.  
-Si aucune modification de coloration n'est visible après ajout de zinc, alors les nitrates avaient été réduits au stade azote (Denis et al., 2007).

**c) Etude du métabolisme glucidique****\*Milieu mannitol- mobilité**

Il s'agit d'un milieu semi-solide contenant entre autres du mannitol, du rouge de phénol comme indicateur du pH. Le milieu est ensemencé par piqure centrale, lorsque l'indicateur passe du rouge au jaune ce qui correspond à l'acidification du milieu, le mannitol a été utilisé. Le caractère mobile est défini dans ce milieu par un trouble qui envahissant toute la largeur de la gélose de part et d'autres de la piqure centrale, alors qu'une bactérie immobile ne se développe que le long de la piqure centrale (**Denis et al., 2007**).

**\*Milieu TSI**

**Principe :** La gélose TSI ou Triple-Sugar-Iron Bio-Radest un milieu de culture, principalement utilisé pour la caractérisation biochimique des entérobactéries. Il permet de mettre en évidence l'attaque du glucose, du lactose et /ou du saccharose ainsi que la production d'hydrogène sulfuré et du gaz (**Delarras, 2007**). La fermentation d'un sucre par les entérobactéries produit des acides qui font virer le rouge de phénol (indicateur de pH) au jaune. Le thiosulfate de sodum et éventuellement la peptone constituent des sources de soufre pour certaines entérobactéries qui produisent du sulfure de fer en présence du sulfate ferreux ammoniacal : le test H<sub>2</sub>S est alors positif.

**Technique :** A partir de la culture pure sur gélose nutritive, ensemencer la pente du milieu par des stries et le culot par piqure à l'aide d'une pipette Pasteur ou d'une anse bouclée préalablement stérilisée à la flamme, puis incuber à 37°C pendant 24h (**Delarras, 2014**).

**Lecture :** La lecture de ce milieu se fait au niveau du culot pour le glucose et au niveau de la pente pour le lactose et/ou le saccharose. Au niveau du culot, le culot est obligatoirement jaune (sauf en cas où le dégagement d'H<sub>2</sub>S provoquer un noircissement intense) puisque les entérobactéries fermentent en général le glucose. Au niveau de la pente, la fermentation du lactose et/ou du saccharose entraîne une acidification et un virage au jaune du rouge de phénol.

**\*Etude de la dégradation du lactose (test d'ONPG)**

**Principe :** L'orthonitrophényl- $\beta$ -D-galactopyranoside (ONPG) est un analogue structural du lactose. Ce substrat synthétique incolore peut être scindé en galactose et en orthonitrophénol (composé soluble jaune) en présence d'une des enzymes appelées ONPG hydrolase. En effet, ses enzymes correspondent :

-soit à la  $\beta$ -galactosidase, ONPG-hydrolase qui catalyse la réaction d'hydrolyse de l'ONPG.

-soit à d'autres enzymes bactériennes, désignées ONPG-hydrolase qui hydrolysent également l'ONPG, mais pas le lactose ; elles sont différentes de la  $\beta$ -galactosidase (Delarras, 2014).

**Technique :** Prélever une colonie à partir d'une culture bactérienne pour faire une suspension dense d'eau déminéralisée stérile et homogène. La réaction est d'autant plus rapide qu'il y a plus de bactéries, donc d'enzymes. Le disque d'ONPG (disque de papier filtre stérile imprégné de tampon et d'ONPG) est placé avec la suspension. Après mise à l'étuve à 37°C pendant 24h (Delarras, 2014).

**Lecture :** L'apparition d'une coloration jaune indique un test positif : la bactérie est dite ONPG positive. Absence de coloration indique un test négatif : la bactérie est dite ONPG négative.

**\*Utilisation de citrate comme source de carbone**

**Principe :** L'utilisation de citrate se traduit par une culture sur la gélose et plus souvent cette croissance s'accompagne d'une libération d'ammoniaque à partir des sels d'ammonium ce qui traduit par un virage du bleu de bromothymol au bleu (Denis et al., 2007).

**Technique :** Ensemencer le milieu gélosé de citrate de Simmons de coloration verdâtre, par la souche à étudier par une strie sur la partie inférieure, la partie supérieure servira de témoin (Labres, 2002).

**Lecture :** S'il y a un virage de couleur de la partie ensemencée au bleu, se traduit par l'utilisation du substrat comme source de carbone.

**d) Etude de métabolisme protéique****\*Recherche de décarboxylases**

**Principe :** Les décarboxylases bactériennes sont des enzymes qui catalysent les réactions de décarboxylation des acides aminés. Trois décarboxylases sont fréquemment recherchées :

La lysine décarboxylase (LDC), l'Ornithine Décarboxylase (ODC) et l'Arginine Dihydrolase (ADH) (**Denis et al., 2007**).

**Technique :** Une suspension bactérienne est préparée en eau physiologique stérile à partir d'une culture de la souche à étudier. Le test est réalisé dans 4 tubes différents : Le premier constitue le témoin. Les autres tubes contiennent l'un des trois acides aminés suivant : Arginine, Lysine ou Ornithine. Après ensemencement, quelques gouttes d'huile de vaseline sont ajoutées dans chaque tube et le tout sera incubé à 37 pendant 24h (**Lebres, 2002**).

**Lecture :** La réaction est positive lorsque le témoin vire au jaune (acidification du milieu est due à l'utilisation du glucose). Les tubes contenant l'acide aminé restent violet (phénomène due à l'alcalinisation). La réaction est négative lorsque les tubes contenant l'acide aminé et le témoin virent au jaune (acidification).

**\*Recherche de tryptophane désaminase (TDA)**

À partir de milieu urée-indole, il est possible de mettre en évidence une activité tryptophane désaminase (TDA).

**Technique :** Le réactif chlorure de fer III est ajouté dans un aliquote du milieu Urée-Tryptophane ensemencé et incubé. En présence d'acide indole-pyruvique il y a formation d'un complexe acide indole- pyruvique/fer III qui précipite.

**Lecture :** La lecture est immédiate. L'obtention d'un précipité brun foncé : TDA<sup>+</sup>.  
Absence de précipité : TDA<sup>-</sup>.

**\*Recherche de tryptophanase (Test indole)**

Le tryptophane (acide aminé) est directement apporté dans le milieu de culture ou contenu dans une peptone à teneur élevée en tryptophane qui doit être exempté d'indole (**Delarras et al., 2007**).

**Principe :** Par une réaction complexe, le tryptophane est décomposé en présence d'une tryptophanase en indole et d'autre produit. Après incubation, l'ajout de réactif de Kovacs permet de mettre en évidence l'indole formé (**Delarras et al., 2014**).

**Technique :** La production d'indole par l'hydrolyse de tryptophane peut être recherchée à partir d'une culture de 24h de la souche à étudier en eau peptone dépourvu d'indole (**Denis et al., 2007**).

**Lecture :** La couche alcoolique se sépare de la couche aqueuse et se colore alors en rouge (anneau rouge) : le test est indole positif. Si non elle est de couleur jaune (couleur de réactif) : le test est indole négatif.

#### **\*Recherche d'une uréase**

**Principe :** L'urée, sous l'action d'une uréase bactérienne va être transformée en carbonate d'ammonium entraînant une coloration rouge de milieu (**Denis et al., 2007**).

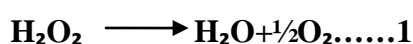
**Technique :** La recherche d'une uréase s'effectue en milieu urée-tryptophane (urée-indole). Ce milieu contient du tryptophane de l'urée et du rouge de phénol comme indicateur de pH (**Denis et al., 2007**).

**Lecture :** Coloration rouge de milieu traduit uréase positif.

#### **\*Recherche de la catalase**

Ce test est réalisé pour compléter l'identification des bactéries cocci à gram positifs

**Principe :** Certaines bactéries ont la faculté de dégrader le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ). En présence d'une bactérie productrice de catalase, nous observons à partir de  $H_2O_2$  une libération d'oxygène gazeux selon la réaction suivante (Eq : 1), (**Denis et al., 2007**)



**Technique :** Déposer une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes et émulsionner un peu de la colonie suspecte ou de la culture obtenue sur gélose (**Delarras, 2014**).

**Lecture :** Le dégagement de bulles de gaz indique la présence de catalase, donc la bactérie est dite catalase positive. Par contre s'il n'y a pas de dégagement de bulle de gaz cela indique un test négatif, donc la bactérie est dite catalase négative.

#### **\*Recherche de coagulase**

Ce test permet la différenciation entre l'espèce *staphylococcus aureus* et les autres espèces de Staphylocoque. *S.aureus* possède une coagulase (enzyme) capable de coaguler le plasma humain par transformation de fibrinogène en fibrine (**Panizzi et al., 2006**).

**Technique :** Dans un tube à essai, mettre 2ml de plasma humaine, ajouter 2ml d'une suspension bactérienne, puis incuber dans l'étuve à 37°C pendant 24h. Un tube témoin va servir comme un contrôle du test et pour valider le résultat (pour confirmer que le plasma est incapable de se coaguler seule) (**Sperber et al., 1975**).

**Lecture :** Cette méthode est considérée comme la méthode de référence, elle a été interprétée après 2h, 4h et 18h d'incubation à 37°C. Si c'est négatif laisser jusqu'aux 24h, s'il y a une coagulation de plasma, le fibrinogène a été transformé en fibrine. La bactérie est dite coagulase positive. (**Sperber et al., 1975**).

#### **2. 3.2 Mini galerie API 20E**

API 20E est un système standardisé pour l'identification des Enterobacteriaceae et autres bacilles à Gram négatif, comprenant 21 tests biochimiques miniaturisés, ainsi qu'une base de données (**Appelbaum et al., 1980**).

**Principe :** La galerie API 20E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par un virage coloré spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

**Technique :** Préparation de l'inoculum : A l'aide d'une pipette une seule colonie bien isolée à partir du milieu de culture, préférentiellement des cultures jeunes (18-24 heures) a été mise dans un tube contenant 10ml d'eau physiologique stérile ou d'eau distillée stérile. Le tout est bien homogénéisé.

Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5ml d'eau distillée ou déminéralisée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide. Placer la galerie dans la boîte d'incubation. (Appelbaum et al., 1980). La suspension bactérienne est introduite dans les tubes de la galerie à l'aide de la même pipette (pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant).

Pour les tests CIT, VP et GEL, remplir tube et cupules. Pour les autres tests, remplir uniquement les tubes (et non cupules). Pour les tests : ADH, LDC, ODC, H<sub>2</sub>S, URE, crée une anaérobiose en remplissant leur cupule d'huile de paraffine. Refermer la boîte et incuber à 36±2°C pendant 18-24h (Appelbaum et al., 1980).

**Lecture :** la lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture (Tableau17, Annexe II), l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification api web <sup>TM</sup> (Brooks et al., 1974).



**Figure 3 :** Illustration de l'identification par galerie api 20E d'*Enterobacter Sakazakii* (Originale).

## 2.4. Antibiogramme par diffusion des disques

L'antibiogramme devra être réalisé obligatoirement sur milieu de Mueller-Hinton, supplémenté au sang (SAEN, 2011).

### 2.4.1. Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture pure de 18h à 24h sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. Dans le cas de *Streptococcus spp* utiliser un écouvillon pour prélever plus facilement les colonies bactériennes. Bien décharger l'anse ou l'écouvillon dans 5 à 10ml d'eau physiologique stérile. Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit



être équivalente à 0,5 MF l'utilisation d'un densitomètre est fortement souhaitable, et il doit être ensemencé dans les 15 minutes qui suivent sa préparation (SAEN, 2011).

#### 2.4.2 Ensemencement

Un écouvillon stérile est trempé dans l'inoculum et essoré en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube afin de décharger au maximum. En frottant l'écouvillon sur la totalité de la surface de gélose, et séchant de haut en bas en stries serrées. L'opération est répétée deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. Dans le cas où il y a plusieurs boîtes de Pétri à ensemencer, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois (SAEN, 2011).

#### 2.4.3 Application des disques d'antibiotiques

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. Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces stériles et ne pas déplacer les disques après application. Laisser les boîtes 20min à la température ambiante pour permettre une prédiffusion de l'antibiotique. Incuber les boîtes dans l'étuve à 37°C pendant de 18-24h (SAEN, 2011). La liste des antibiotiques à tester selon la bactérie isolée. (Tableau 18, Annexe II).

**Lecture :** Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés avec précision à l'aide d'un pied à coulisse. Pour les bactéries testées sur Mueller-Hinton simple, les mesures seront prises en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de Pétri fermée. Les bactéries testées sur Mueller-Hinton au sang, les mesures de diamètres de zones d'inhibition seront 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 (SAEN, 2011), (Tableau : 19, 20, 21 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.

### 2.5. Recherche de la résistance de *Staphylococcus aureus*

- **Confirmation de l'espèce MRSA**

La résistance des staphylocoques aux isoxazolyl pénicillines (oxacilline) est recherchée à l'aide d'un disque de cefoxitine (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 avoir fait la lecture de la zone d'inhibition aux antibiotiques. Nous avons classé les *Staphylococcus aureus* résistantes (MRSA) et sensible à la méticilline (MSSA) selon le diamètre d'inhibition. Si le diamètre de la cefoxitine est  $\leq 19$ mm et la souche elle-même résistante à l'oxacilline ( $\leq 10$ mm), la souche est dite MRSA. Si le diamètre de la cefoxitine est  $\geq 20$ mm et la souche elle-même n'est pas résistante à l'oxacilline, la souche est dite MSSA. Devant tout problème d'interprétation, faire un test de confirmation par la technique du screening à l'oxacilline (SAEN, 2011).

- **Screening test à l'oxacilline pour *staphylococcus aureus***

Ce test concerne uniquement *Staphylococcus aureus*, l'oxacilline doit être testé de façon particulière pour majorer l'expression de la résistance.

**Technique :** La préparation de la solution d'oxacilline se fait de la manière suivante : Diluer 6µg d'oxacilline (poudre injectable d'un flacon de 1g) dans 10ml d'eau distillée stérile, puis faire une dilution au dixième. Mettre 2ml de cette solution dans une boîte de 90mm de diamètre, ajouter 18ml de gélose Mueller Hinton additionnée de 4% de Na Cl. Mélanger en faisant des mouvements rotatoires. Laisser solidifier puis sécher (SAEN, 2011).

#### **Ensemencement**

L'ensemencement doit se faire dans les 15min qui suivent la préparation de l'inoculum.

L'ensemencement se fait par spot, en appliquant verticalement sur la gélose l'extrémité d'un écouvillon trempé dans la suspension bactérienne. Les souches de

référence ATCC 29213 (souche sensible à l'oxacilline) et ATCC 43300 (souche résistante à l'oxacilline) doivent être testées dans les mêmes conditions. L'incubation se fait à 35°C pendant 24h en atmosphère normale.

**Lecture :** La culture de plus d'une colonie de la souche testée, suffit pour indiquer une résistance à l'oxacilline, impliquant une résistance à toutes les  $\beta$ -lactamines.

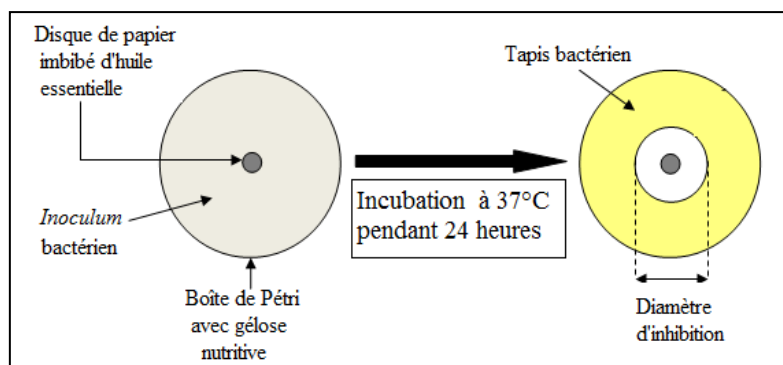
## 2.6. Etude de l'activité antibactérienne de l'huile de *Lavandula angustifolia*

Nous avons réalisé la méthode de l'aromatogramme (en milieu gélosé) afin de tester l'effet antibactérien de l'huile de la lavande (*Lavandula angustifolia*) sur les souches obtenues et isolées.

Nous avons adapté la technique utilisée par certains auteurs : **Benjlali et al. (1986)** ; **Satrani et al. (2007)** pour évaluer l'activité antibactérienne de l'huile essentielle (HE) de la lavande. Elle a l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des produits à tester, de s'appliquer à un très grand nombre d'espèces bactériennes.

Cette technique repose sur le pouvoir migratoire par diffusion des HE à l'intérieur d'une boîte de Pétri, dans un milieu nutritif solide.

Dans cette méthode, nous avons utilisé des disques de papier filtre de 9mm de diamètre, imprégnés d'une certaine quantité d'HE (1, 2 et 3 gouttes par disque séparément, ce qui correspond à 20, 40 et 60  $\mu$ L/disque) que nous déposons à la surface d'un milieu gélosé (MH pour les bactéries) préalablementensemencé en surface avec une suspension bactérienne. La boîte est ensuite fermée et incubée dans l'étuve à température adéquate.



**Figure 4 :** Principe de la méthode de diffusion par disque.

Chaque essence diffuse à partir du disque au sein de la gélose et y détermine un gradient de concentration. Les bactéries croissent sur toute la surface de la gélose sauf là où elles rencontrent une concentration d'essence suffisante qui inhibe leur croissance.

A la sortie de l'étuve, l'absence de la croissance bactérienne se traduit par un halo translucide autour du disque dont le diamètre est mesuré et exprimé en mm.

Une étude est menée afin d'évaluer l'efficacité du pouvoir antibactérien de notre échantillon d'HE et les antibiotiques testés sur les différentes souches isolés au cours de notre travail.

### **3. Etude multivariée**

Nous avons réalisé une étude multivariée, l'analyse des composantes principales. C'est une étude de l'ensemble des corrélations entre les différentes variables du système (Sexe, Age, patients internes ou externes, type de diabète, nature des cultures, groupe de germes). Elle a été réalisée à l'aide du logiciel Statistica 7.

## Chapitre III

### Résultats et discussion

### III. Résultats et discussion

#### 1. Répartition des résultats selon les facteurs étudiés

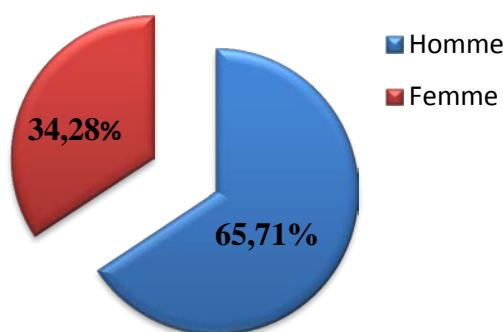
Les résultats effectués sur les 70 prélèvements (patients) ont été établis en fonction des paramètres suivants : le sexe, l'âge, le type de diabète et l'hospitalisation (externe ou interne).

##### 1.1. Selon le sexe

D'après les résultats obtenus (Tableau 3, Figure 5), nous avons remarqué que le nombre total des prélèvements effectués est très élevé chez les hommes qui est de 65,71% par rapport aux femmes 34,28%. Nos résultats montrent une prédominance masculine.

**Tableau 3** : Répartition des patients en fonction du sexe.

Sexe	Homme	Femme	Total
Nombre	46	24	70
Pourcentage	65,71%	34,28%	100%



**Figure 5** : Répartition des patients en fonction du sexe.

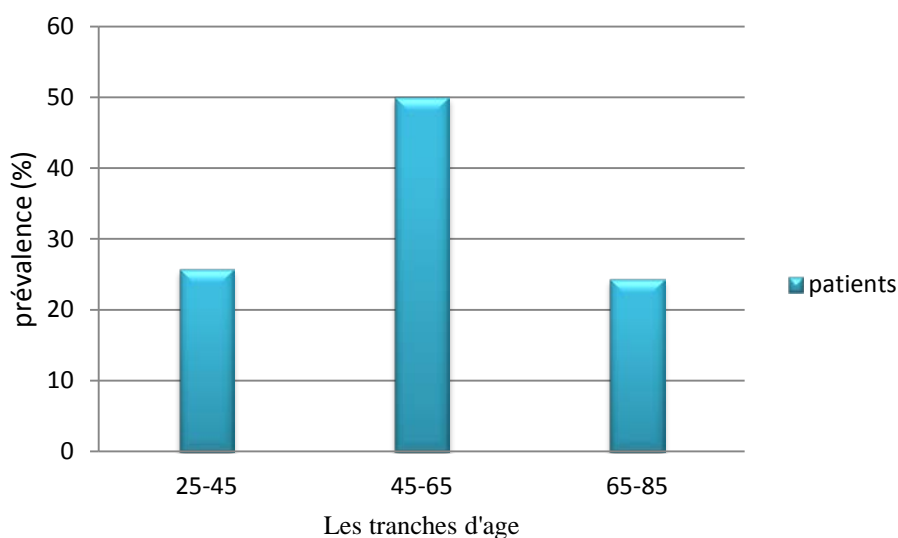
##### 1.2. Selon les tranches d'âge

Dans le but de déceler l'âge critique qui correspondrait le plus à une éventuelle survenue de la maladie, nous avons réparti nos patients en tranche d'âge de 20 ans. Nous avons mentionné (Tableau 4, Figure 6) 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 50%, suivi par la tranche d'âge 25-45 ans avec un taux de 25,71%, les patients âgés de plus de 65 ans occupent la 3<sup>ème</sup> position avec un taux de 24,28%.

**Tableau 4 :** Répartition des patients selon les tranches d'âge de 20 ans.

Age	25-45	45-65	65-85
Nombre de patients	18	35	17
Pourcentage	25,71%	50%	24,28%



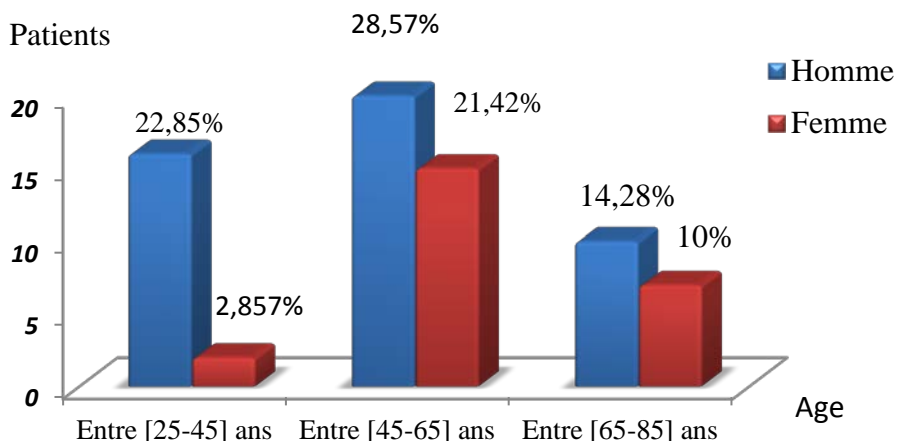
**Figure 6 :** Répartition des patients en fonction de l'âge.

### 1.3. Selon le sexe et l'âge

Les résultats mentionnés dans (Tableau 5, Figure 7), montrent que les hommes dont l'âge est compris entre 45-65 ans représentent une fréquence de 28,57%, par contre les femmes du même âge affichent un taux de 21,42%.

**Tableau 5 :** Répartition des patients selon le sexe et l'âge.

Age	25-45	45-65	65-85
Homme	16	20	10
Pourcentage	22,85 %	28,57%	14,28%
Femme	2	15	7
	2,85%	21,42%	10%
Total	18	35	17
Pourcentage	25,71%	50%	24,28%



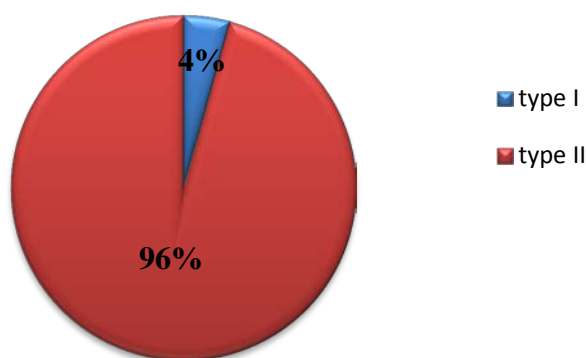
**Figure 7 :** Répartition des patients en fonction de l'âge et de sexe.

**1.4. Selon le type de diabète**

D'après les résultats obtenus (Tableau 6, Figure 8), nous avons noté que le taux d'infection chez les diabétiques de type II (95,71%) est plus élevé que chez les diabétique de type I (4,28%).

**Tableau 6 :** Répartition des prélèvements selon le type de diabète.

Type de diabète	type I	type II	Total
Nombre	3	67	70
Pourcentage	4,28%	95,71%	100%



**Figure 8 :** Répartition des patients en fonction de type de diabète.

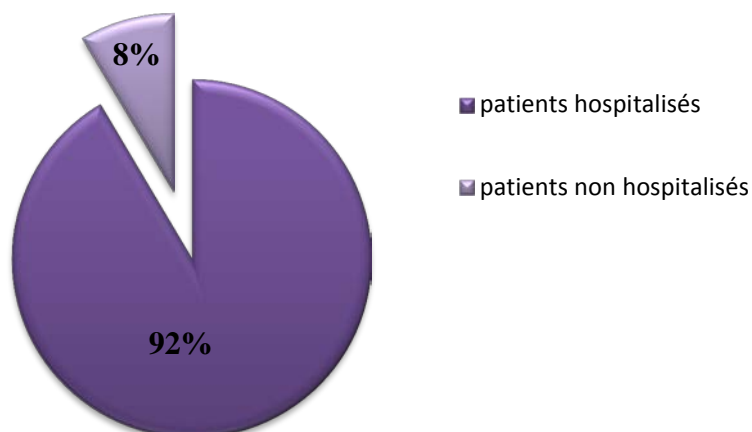
**1.5. Selon les patients hospitalisés/ non hospitalisés**

D'après les résultats suivantes (Tableau 7, Figure 9), Parmi les 70 patients, 64 étaient hospitalisés soit une fréquence de 91,42%, les 6 restants avec une fréquence de 8,57% étaient non hospitalisés.



**Tableau 7 :** Répartition des prélèvements selon les patients hospitalisation non hospitalisation.

Patients	Nombre	Pourcentage(%)
Hospitalisation	64	91,42
Non hospitalisation	6	8,57
Total	70	100



**Figure 9 :** Répartition des patients selon hospitalisation ou non hospitalisation.

## 2. Résultats de l'analyse microbiologique

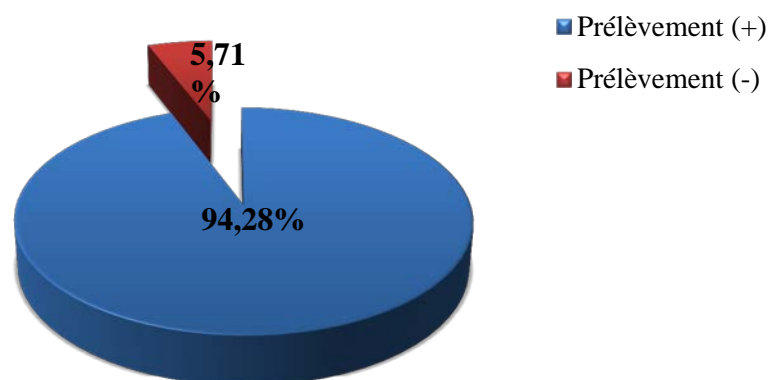
Dans cette partie, nous avons repartis les résultats d'analyse microbiologique selon les prélèvements positives ou négatives la nature de la culture bactérienne (monobactérienne ou polybactérienne) et selon les germes ou les espèces responsables dans l'infection du pied diabétique.

### 2.1. Cas positif et négatif de pus

Sur les 70 prélèvements de pus effectués, nous avons enregistré (Tableau 8, Figure 10), 66 prélèvements positifs (présence de germes) avec un taux de 94,28%, les 4 prélèvements restants représentent un taux de 5,71%, ces derniers sont négatifs (absence de germes).

**Tableau 8** : Répartition des résultats selon la positivité et la négativité des prélèvements de pus.

Positivité et négativité	Prélèvement(+)	Prélèvement(-)	Total
Nombre de prélèvement	66	4	70
Pourcentage	94,28%	5,71%	100%

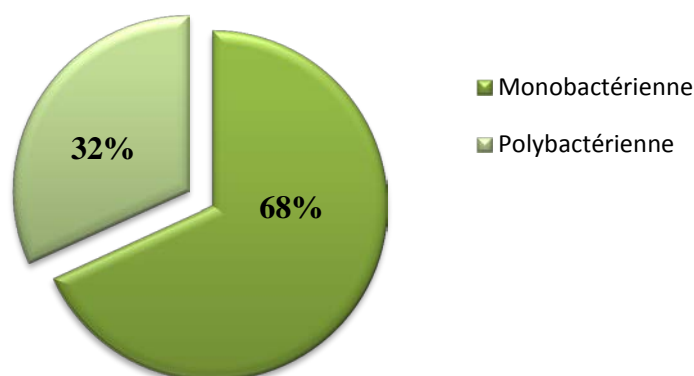
**Figure 10** : Répartition des prélèvements positifs et négatifs.

## 2.2. Nature des cultures obtenues

Après l'isolement et l'identification des différentes bactéries, nous avons remarqué (Tableau 9, Figure 11) que sur 70 prélèvements effectués avec une fréquence de 68,18% sont des cultures monobactériennes par contre un taux de 31,81% sont des cultures polybactériennes.

**Tableau 9** : Répartition des prélèvements selon la nature des cultures obtenus.

Culture	nombre	Pourcentage (%)
mono microbienne	45	68,18
poly microbienne	21	31,81
Total	66	100%



**Figure 11 :** Répartition des résultats selon la nature des cultures obtenues.

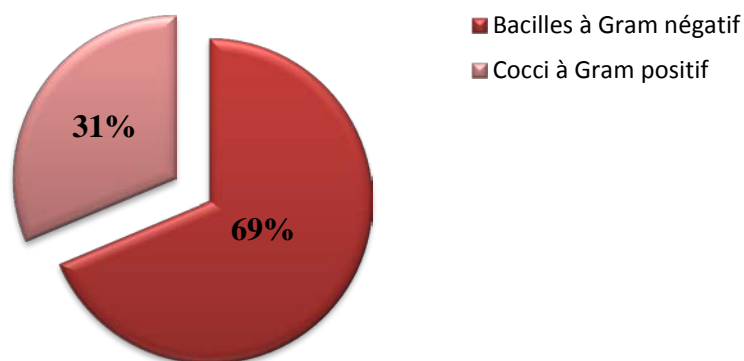
### 2.3. Groupes de germes identifiés

Au cours de notre étude, nous avons isolé 89 souches de l'ensemble des prélèvements réalisés. D'où nous avons identifié 61 souches de bacilles à Gram négatif et 28 souches de cocci à Gram positif. Nous avons pu regrouper les souches dans deux catégories : les bacilles à Gram négatif et cocci à Gram positif.

Ces résultats montrent (Tableau 10, Figure 12), que l'infection du pied diabétique est causée aussi bien par les bacilles à Gram négatif avec une fréquence de 68,53% que par les cocci à Gram positif représentant un taux de 31,27%.

**Tableau 10 :** Répartition des résultats selon le Groupes de germes identifiés.

Bactéries	Bacilles à Gram négatif	Cocci à Gram positif	Total
Nombre	61	28	89
Pourcentage	68,53%	31,46%	100%

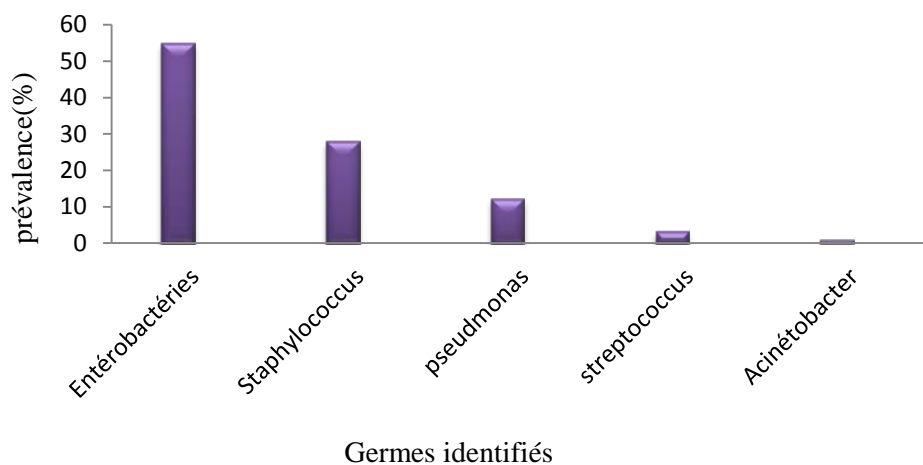


**Figure 12 :** Répartition des résultats selon le groupe de germes identifiés.

Sur 89 souches identifiées nous avons remarqué (Tableau 11, Figure 13) que les entérobactéries occupent la première position (49 souches) avec un taux de 55,05%, suivi par les staphylocoques avec un taux de 28,08%. Les *Pseudomonas* occupent la 3<sup>ème</sup> position avec un taux 12,37%, les streptocoques ont une fréquence de 3,37% et en derniers les *Acinetobacter* avec un taux de 1,12%.

**Tableau 11 :** Répartition des germes identifiés.

	Entérobactéries	Pseudomonas	Staphylococcus	streptococcus	Acinétobacter
Nombre	49	11	25	3	1
Pourcentage	55,05%	12,35%	28,08%	3,37%	1,0123%

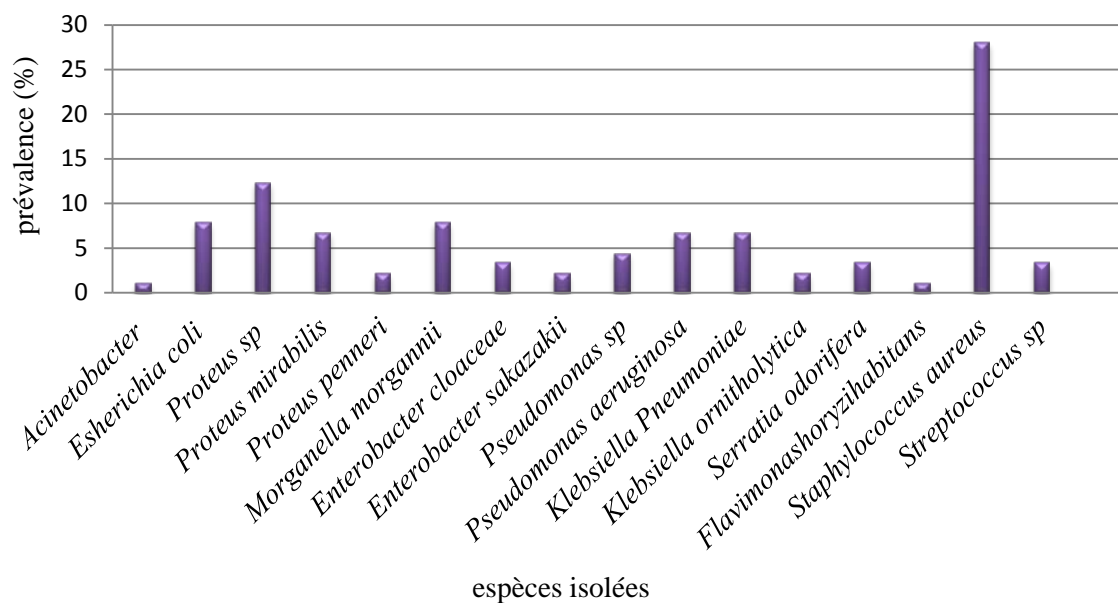


**Figure 13 :** Répartition des résultats selon les germes identifiés.

#### 2.4. Espèces identifiées

La représentation individuelle de la totalité des espèces identifiées sur les 49 souches d'entérobactéries responsables du pied diabétique (Figure 14), montre que *Proteus sp* est l'espèce la plus prédominante avec une fréquence de 12,35%, suivi par *Escherichia coli* et *Morganella morgannii*, avec un taux de 7,86%. En troisième position, nous avons noté *Proteus mirabilis* et *Klebsiella pneumoniae* avec un taux de 6,74%. Les autres espèces montrent des fréquences moins importantes, comprises entre 3,37% pour *Enterobacter cloaceae* et *Serratia odorifera* et 2,24% pour *Enterobacter sakazakii*, *Klebsiella Ornitholytica* et *Proteus pennerii*.

Concernant le groupe des staphylocoques, nous avons identifié *Staphylococcus aureus* qui est l'espèce dominante avec un taux de 28,08%.



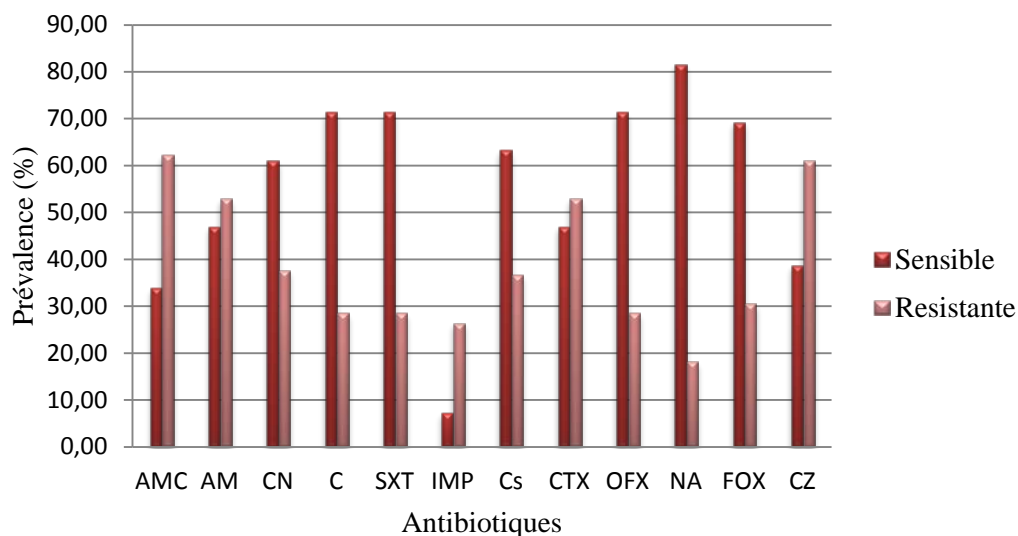
**Figure 14 :** Répartition globale des différentes espèces isolées.

### 3. Résultats de l'antibiorésistance

Les résultats de l'antibiogramme de différentes espèces identifiées ont été exprimés par la lecture de la zone d'inhibition et la comparaison aux valeurs critiques des diamètres d'inhibition de chaque espèce.

- **Entérobactéries**

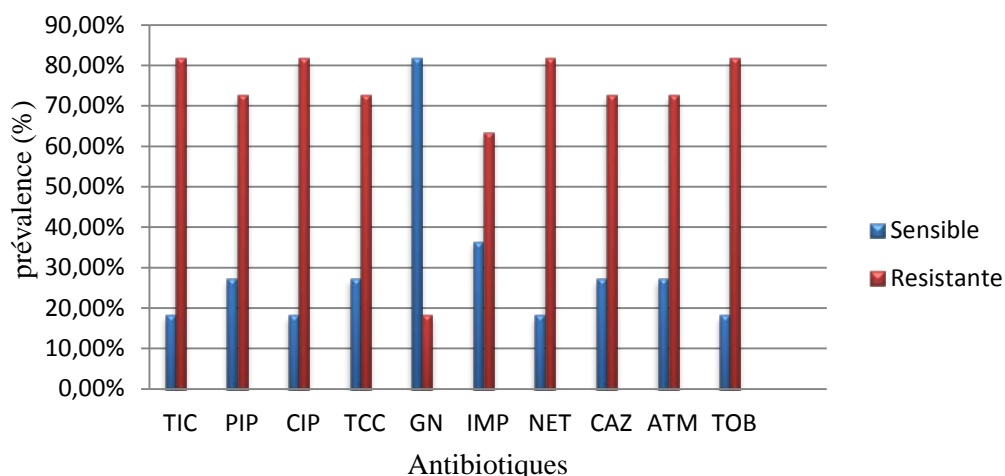
Sur 49 souches d'entérobactéries testées, les résultats montrent (Figure 15), une résistance élevée (61,22%) à l'Amoxicilline+Ac.clavulanique (AMC) et la Céfazoline (CZ) et de (53,06%) vis-à-vis de la Céfotaxime (CTX) et l'Ampicilline (AMP). Une résistance moyenne des souches envers la Gentamycine (CN) (38,77%), la Colistine (Cs) (36,73%), la Céfoxitine (FOX) (30,61%), la Triméthoprime+sulfamides (STX) (28,57%) et l'Imipenème (IMP) (26,53%) a été aussi enregistrée, une sensibilité très élevée à l'acide nalidixique (NA) (81,36).



**Figure 15** : Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez Entérobactéries.

- *Pseudomonas*

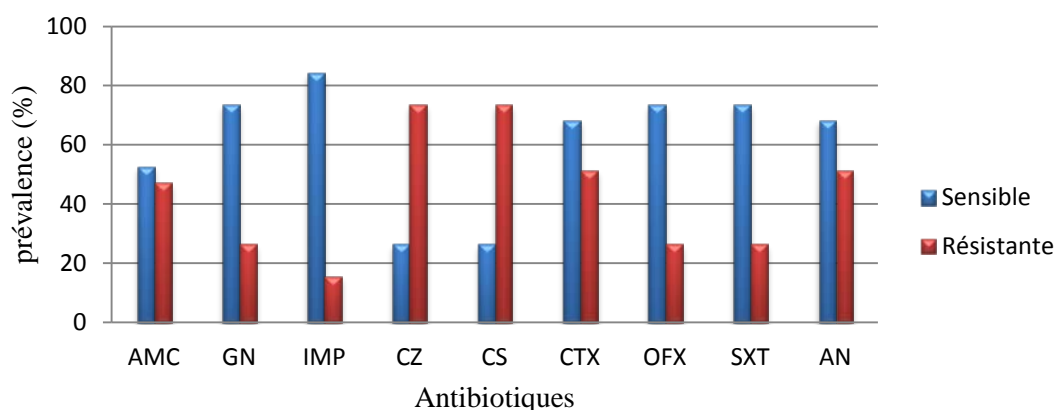
Les 11 souches de *Pseudomonas* isolées présentent (Figure 16), une sensibilité élevée (81,81%) vis-à-vis la Tobramycine (TOB), la Netilmicine (NET), la Ciprofloxacine (CIP) et la Ticarcilline (TIC) et (72,72%) vis-à-vis la Pipracilline(PIP), la Ticarcilline + Ac clavulanique (TCC), la Ceftazidime (CAZ), l'Aztreonam(ATM) et (63,63%) pour l'Imipenème (IMP). Alors que les *Pseudomonas* ont une résistance très élevée (81,81%) à la Gentamycine (GN).



**Figure 16 :** Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches de *Pseudomonas*.

- *Proteus sp*

L'antibiorésistance des souches de *Proteus sp* montrent (Figure 17) qu'elles sont pratiquement sensibles aux  $\beta$ -lactamines : Amoxicilline +Ac clavulanique (AMC) (52,63%). Des grandes sensibilités à l'imipeneme (IMP) (84,21%), la Gentamycine (GN), l'Ofloxacin (OFX), Triméthoprime+sulfamides (STX) (73,68%) ont été mentionnées. Une sensibilité moyenne vis-à-vis l'Ac nalidixique (AN), la céfoxitine (FOX) (68,42%) et une résistance élevée (73,68%) ont été notées à la céfazoline (CZ) et la colistine (CS).

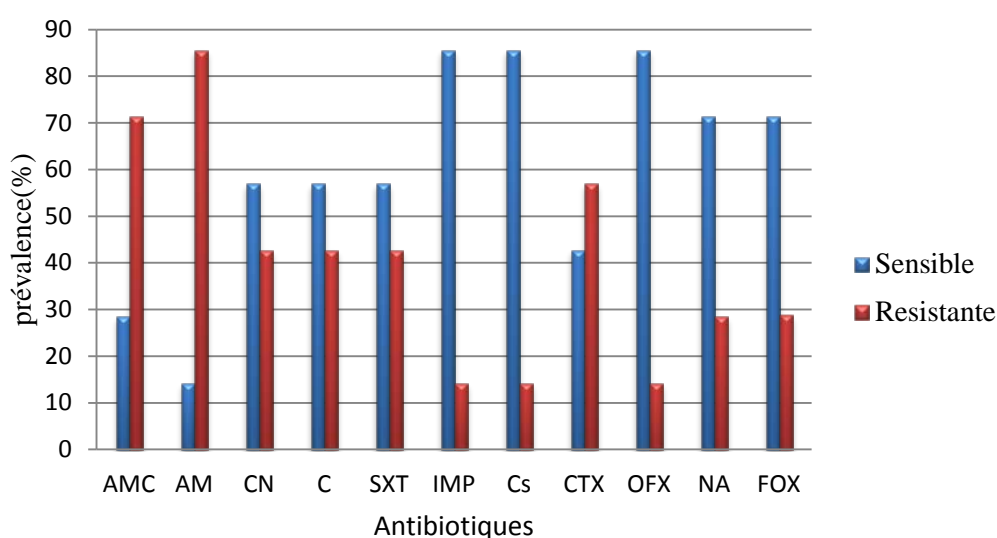


**Figure 17 :** Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches de *Proteus sp*.



- *Escherichia coli*

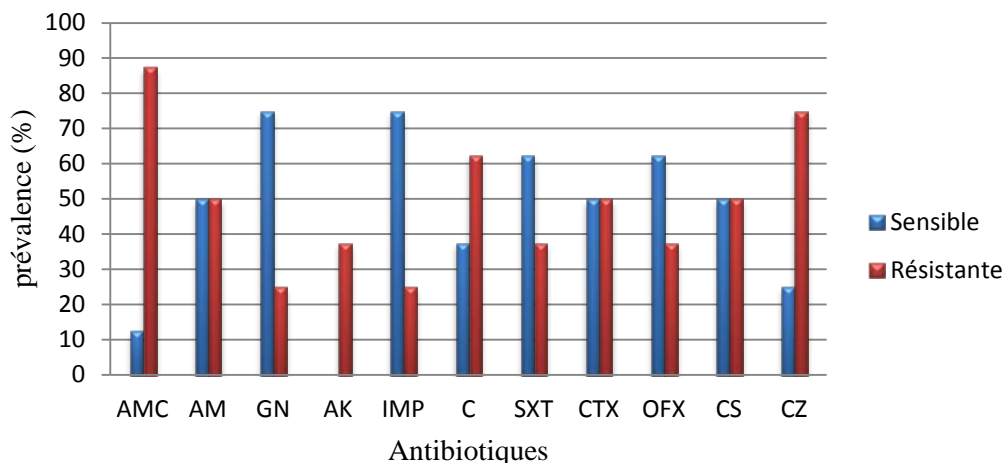
Les 7 souches d'*Escherichia coli* isolées montrent (Figure 18) une résistance très élevée vis-à-vis les  $\beta$ -Lactamine, Amoxicilline (AM) (85,71%), l'Amoxicilline +Ac clavulanique (AMC) (71,42%). Une résistance moyenne (57,14%) à la céfotaxime (CTX) a été enregistrée. Par contre nous avons noté une grande sensibilité envers l'Imipénème (IMP) et la Colistine (CS) (85,71%), l'Ac nalidixique (AN) et la céfoxitine (FOX) (71,42%). Une sensibilité moyenne (57,14%) à la Gentamycine (CN), Chloramphénicol (C), Triméthoprime + sulfamides (STX), Ofloxacine (OFX).



**Figure 18 :** Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches d'*E. Coli*.

- *Klebsiella*

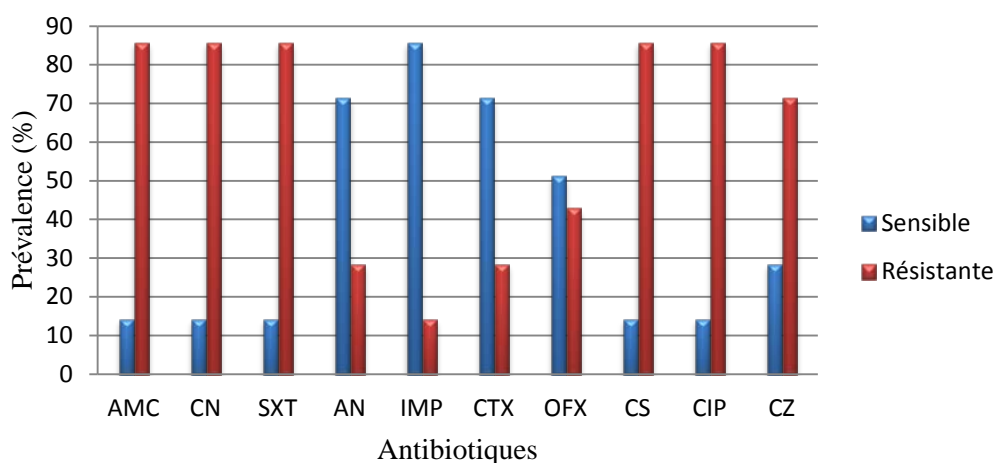
Les 8 souches de *klebsiella* isolées ont affiché (Figure 19) une résistance élevée à l'Amoxicilline+Ac clavulanique (AMC) (87,5%), et à Céfazoline (CZ) (75%). Une résistance moyenne vis-à-vis le chloramphénicol (C) (62,5%), l'Amoxicilline (AM), Céfotaxime (CTX), et Colistine (CS) (50%). Par contre une sensibilité élevée (75%) a été notée à l'Imipénème (IPM) et à la Gentamycine (GN). Une sensibilité moyenne (62,5%) à l'Amikacine (AK), la Triméthoprime+sulfamides (STX) et l'Ofloxacine (OFX).



**Figure 19 :** Répartition des résultats de l’antibiorésistance chez les souches de *Klebsiella*.

- ***Morganella morganii***

Les résultats des 7 souches de *Morganella morganii*, montrent (Figure 20), une résistance élevée (85,71%), à l’Amoxicilline +Ac clavulanique (AMC), la Gentamycine (CN), la Triméthoprime+ sulfamides (SXT), la Colistine (CS). Suivi par une résistance à la Ciprofloxacine (CIP), la Céfazoline (CZ) avec un taux de (71,42%). Cependant des sensibilités élevées envers l’Imipenème (IMP) (85,71%), Céfotaxime (CTX) et l’AC nalidixique (AN) (71,42%) ont été enregistrées et une sensibilité moyenne (51,14 %) à l’Ofloxacine (OFX).

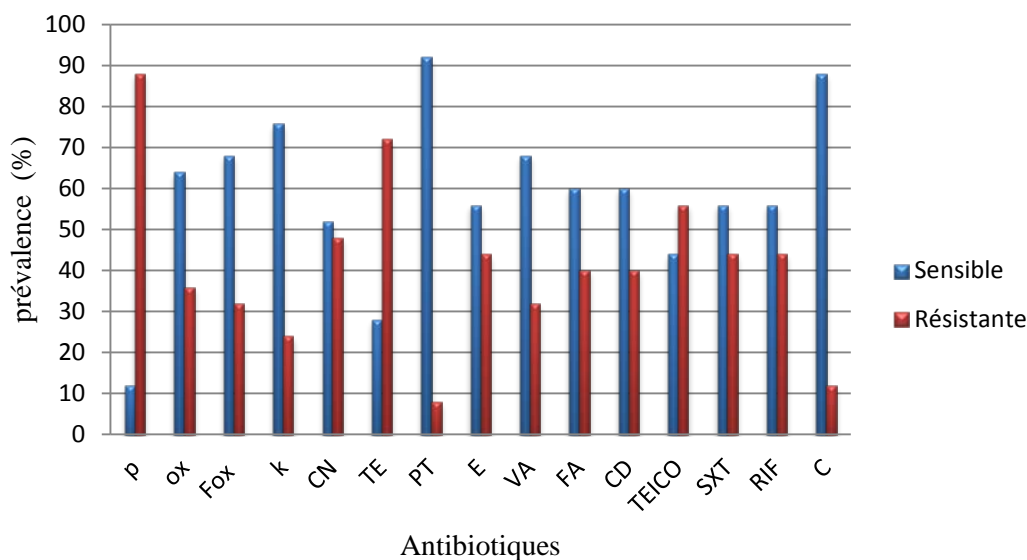


**Figure 20 :** Répartition des résultats de l’antibiorésistance chez les souches de *Morganella morganii*.

- *Staphylococcus aureus*

Les 25 souches de *Staphylococcus aureus* identifiées présentent (Figure 21), une sensibilité très élevée vis-à-vis la Pristinamycine (PT) (92%) et la Chloramphénicol(C) (88%). Une sensibilité élevée vis-à-vis la Kanamycine (K) (76%), la Céfoxitine (FOX), la Vancomycine (VA) (68%) et l'Oxacilline (OX) (64%).

Nous avons noté une sensibilité moyenne vis-à-vis l'Ac fusidique (FA) et la Clindamycine (CD) (60%), l'Erythromycine (E), la Triméthoprim + sulfamides (STX), la Rifampicine (RIF) (56%), la Gentamycine (CN) (52%) et la Teicoplanine (TEICO) (44%). Une résistance élevée (88%) vis-à-vis la Pénicilline(P) et Tétracyclines (TE) (72%).



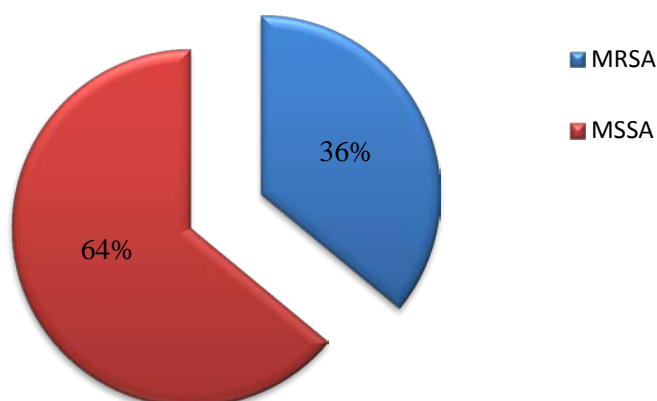
**Figure 21** : Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches des *Staphylococcus aureus*.

- *Staphylococcus aureus* résistante à la méticilline (MRSA)

Les résultats de l'antibiogramme de screening test des 25 souches de *staphylococcus aureus* isolées montrent (Tableau12, Figure 22) que 36% des souches sont résistantes à la méticilline (Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* : MRSA). Les 64% restantes sont sensibles à cette molécule Methicillin-Sensible *Staphylococcus aureus* : MSS

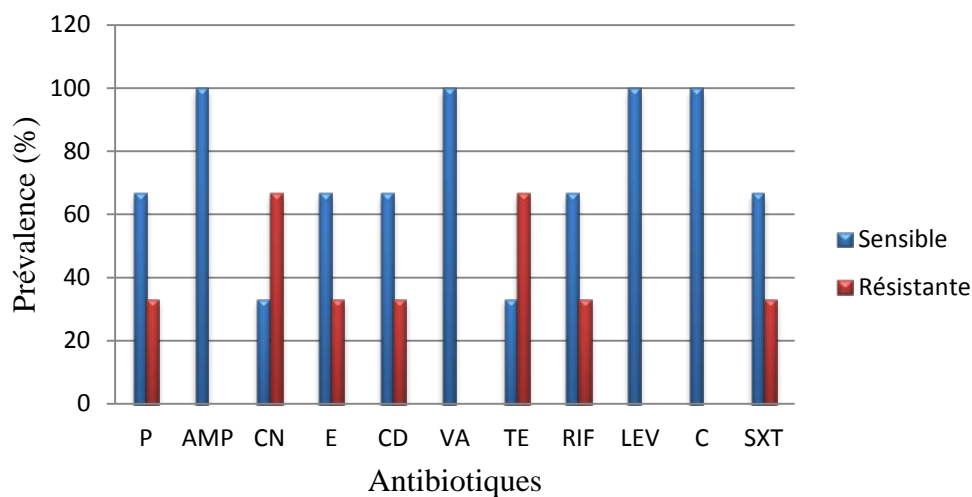
**Tableau 12 :** Répartition des souches des *Staphylococcus aureus* selon la résistance à la méthiciline.

<i>Staphylococcus aureus</i>	MRSA	MSSA	Total
Nombre	9	16	25
Pourcentage	36%	64%	100%

**Figure 22 :** Répartition des souches de *staphylococcus aureus* selon la résistance à la méhticilline (MRSA).

- *Streptococcus*

D'après les résultats obtenus sur l'antibiogramme des *Streptococcus*, nous avons noté (Figure 23) que les souches de *Streptococcus* présentent une sensibilité totale (100%) à la Vancomycine (VA), Levofloxacine (LEV) et l'Ampicilline (AMP). Une sensibilité moyenne (66,66%) vis-à-vis la Pénicilline (P), l'Erythromycine (E), la Clindamycine (CD), la Triméthoprine+sulfamides (STX), la Rifampicine (RIF). Par contre une résistance moyenne (66%) a été notée vis-à-vis la Gentamycine(CN) et la Tétracycline (TE).



**Figure 23 :** Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches de *Streptococcus*.

#### 4. Etude de l'effet antibactérien de la *Lavandula angustifolia*

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

**Tableau 13 :** Résultats de l'activité antibactérienne de l'essence de la *Lavandula angustifolia* sur les différentes souches isolées.

Souches	Aromatogramme (mm)		
	Dose 1 (20µL)	Dose 2 (40µL)	Dose 3 (60µL)
<i>Escherichia coli</i>	13	15,5	22
<i>Enterobacter cloacae</i>	19	37	37,5
<i>Enterobacter sakasaki</i>	7	40	41
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	R	R	R
<i>Proteus mirabilis</i>	17	28,5	31,5
<i>Proteus penneri</i>	31,5	37	37,5
<i>Morganella morganii</i>	16	23,5	49
<i>Klebsiella ornitholytica</i>	10	19	23

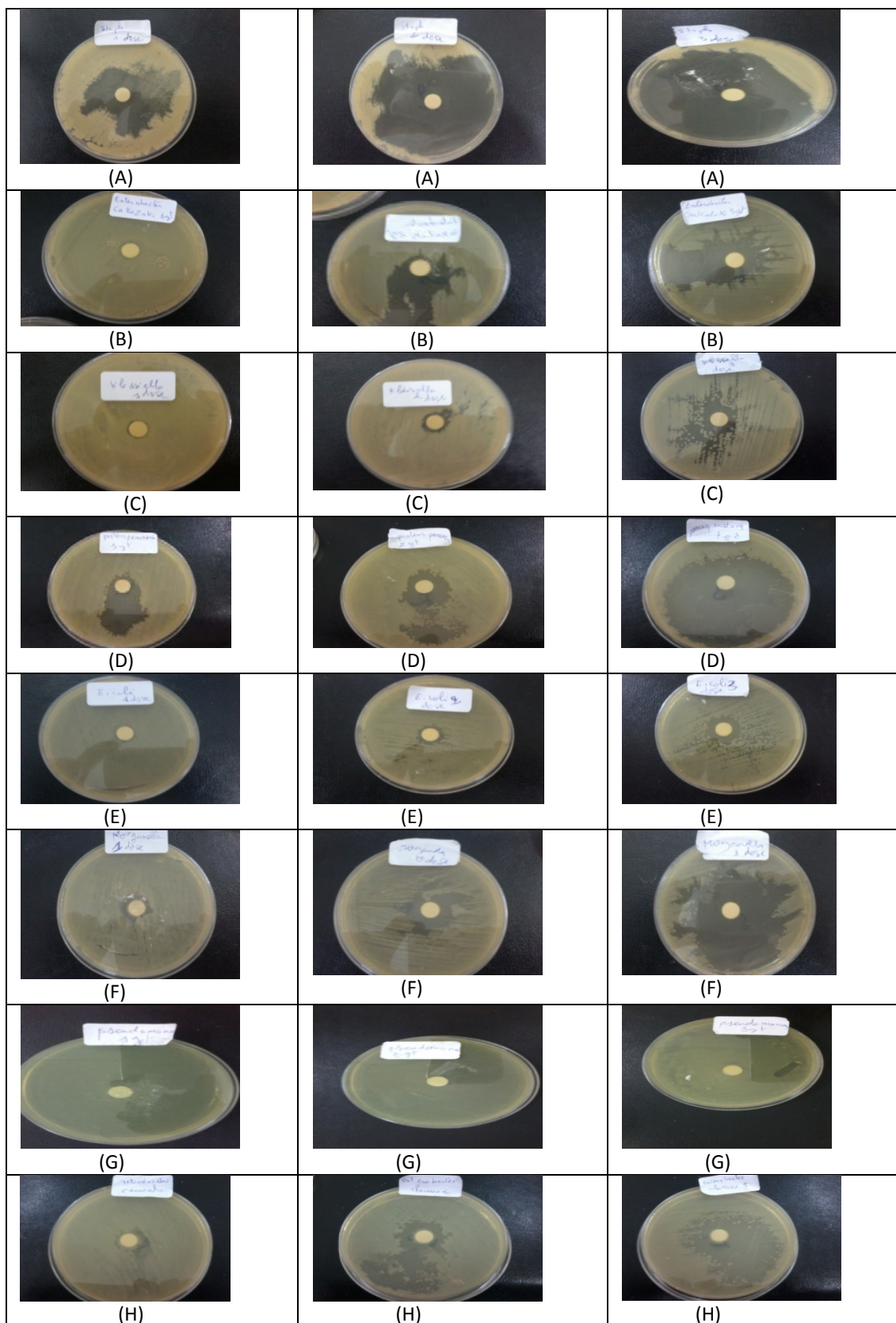
**Tableau 14** : Résultats de l'antibiorésistance sur les différentes souches isolées.

Souches	Antibiogramme (R : résistante, S : sensible)
<i>Escherichia coli</i>	(AM, AMC, CTX)=R.
<i>Enterobacter cloacae</i>	(AMC, Fox) =R.
<i>Enterobacter sakasaki</i>	(CTX, CZ, FOX, CTX, CS, SXT, GN) =R.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	(TIC, TCC, PIP, IMP, ATM, NET) =S
<i>Proteus mirabilis</i>	AMC=R.
<i>Proteus penneri</i>	(AM, AMC, IMP, AX) =R.
<i>Morganella morganii</i>	(AMC, AN, SXT, CS, CIP)=R.
<i>Klebsiella ornitholytica</i>	(AMC, CZ, C, OFX, CN, AM, CTX, IMP, SXT)=R.
<i>Staphylococcus aureus</i>	(CN, L, E, CZ, VA, CD, PT, FC, K)=R.

Les résultats de l'aromatogramme obtenus par l'utilisation de l'huile essentielle (HE) de la *Lavandula angustifolia* sur les différentes souches isolées (Figure 24), ont montrés que ; *Staphylococcus aureus* est l'espèce qui a montré une grande sensibilité à la plus faible dose de HE de la lavande, dont le diamètre de la zone d'inhibition (DZI) est de 38,5mm, suivi par *Proteus penneri* avec un diamètre de 31,5mm.

En augmentant la dose, nous avons constaté une sensibilité presque totale pour les souches de *Staphylococcus aureus* d'où le diamètre de la zone d'inhibition (DZI) est de 69,5mm, suivi par les souches de *Morganella morganii* avec un diamètre de 49mm et *Enterobacter sakasaki* avec un diamètre de 41mm.

Ces résultats expérimentaux montrent que l'huile essentielle de la lavande est active sur toutes les souches à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa*. Cette dernière a montré sa résistance pour les trois doses testées. D'après les résultats, nous avons noté une certaine différence de sensibilité entre les bactéries à Gram+ et Gram- . Nous pouvons noter que l'essence de lavande a présenté une action inhibitrice supérieure à celles des disques d'ATB testés.

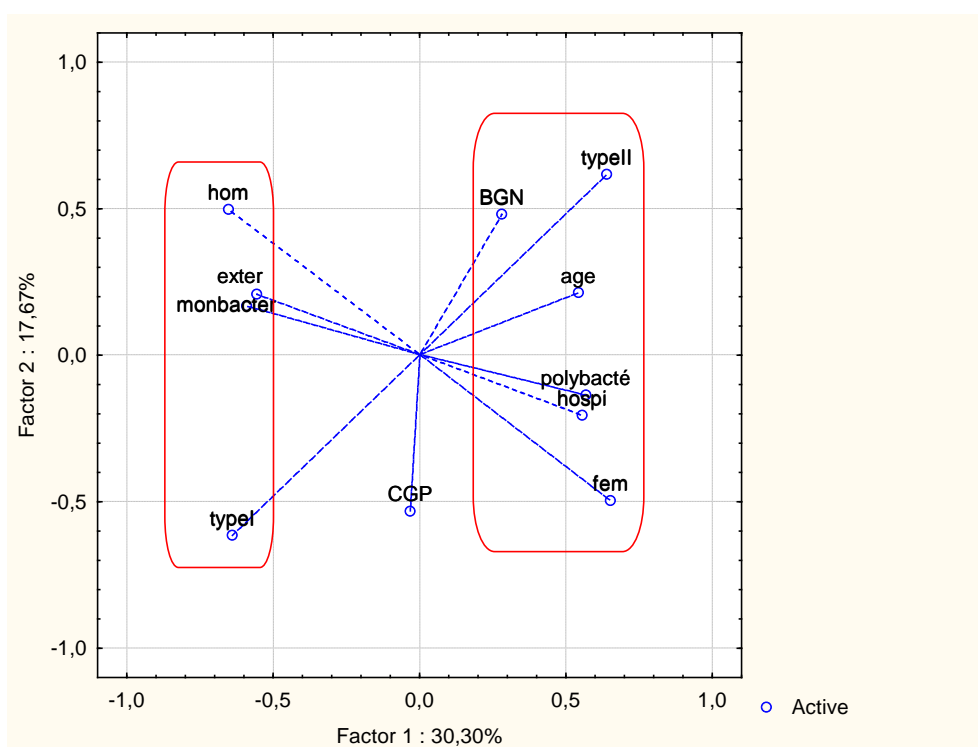


**Figure 24** : Activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Lavandula angustifolia* (Originale).

A) *Staphylococcus aureus* ; B) *Enterobacter sakazakii* ; C) *Klebsiella ornitholytica* ;  
 D) *Proteus penneri* ; E) *Escherichia coli* ; F) *Morganella morganii* ;  
 G) *Pseudomonas aeruginosa* ; H) *Enterobacter cloacae*.

### 5. Analyse multivariée

Une étude globale de plusieurs variables (Sexe, Age, patients internes ou externes, type de diabète, nature des cultures, groupe de germes). Issues de 70 patients (Figure 25), montre que sur le facteur 1 (30,30%), les variables sont rassemblées en deux grands groupes. Le groupe 1, définit les patients hospitalisés sont corrélés positivement avec le diabète type II et les BGN (bactéries gram négatif) avec des cultures polybactérienne. Par contre le groupe 2 définit, les patients externes sont corrélés positivement avec le diabète de type I de sexe masculin et avec une dominance de culture monobactérienne.



**Figure 25 :** Ordination des variables sur 70 patients étudiés le long de deux axes principaux après l'analyse en composante principale.



## Discussion

L'infection du pied représente une des complications les plus fréquentes du diabète et celle qui requiert le plus de journée d'hospitalisation. Dans 15 à 20% des pieds diabétiques, nous retrouvons une infection active, sévère et menaçante pour l'intégrité du membre (**Blackwella et al., 1996**). En effet, les désordres métaboliques qui résultent du diabète perturbent les défenses naturelles. La plupart du temps, celles-ci se trouvent déprimées et permettent aux microorganismes de s'installer et de proliférer (**Regnault, 2002**).

Selon **Stahl et al. (2007)**, l'infection du pied diabétique est fréquente en raison d'un déficit du système immunitaire lié à l'hyperglycémie. Un milieu riche en glucose favorise également une prolifération microbienne, l'infection trouve au niveau du pied, un terrain favorable à une extension rapide en raison de troubles circulatoire et de la neuropathie. Tous ces faits peuvent donc expliquer l'évolution parfois fulminante d'infections minimes, par des germes peu pathogènes et de faible virulence (**Blackwella et al., 1996**).

Les résultats obtenus au cours de notre étude, montrent que sur 70 prélèvements analysés 66 cas sont positifs, soit un taux de 94,28%, les 4 prélèvements restants sont négatifs représentés par un taux de 5,71%. Selon **Senneville (2008)**, les prélèvements de pus des pieds diabétiques sont en effet quasiment toujours positifs, or dans notre étude 4 prélèvements avec une prévalence de 5,71% demeurent indéterminés en raison de la culture négative, ceci peut être expliqué soit par :

- Des conditions de prélèvement incorrectes ou inadéquates (**Boulahbal, 2006**).
- La deuxième explication est que le patient est sous antibiothérapie probabiliste. En effet, selon **Monnier (2010)**, si la plaie présente des signes septiques évidents ou s'associe à des signes généraux, il faut effectuer un prélèvement bactériologique, mettre la plaie en décharge et débiter une antibiothérapie probabiliste en attendant les résultats.

La prescription des traitements probabilistes fait augmenter dans plusieurs cas le taux des cultures négatives, d'après **Grimaldi (2005)**, si l'antibiothérapie est installée en

urgence avant les résultats de prélèvement elle est dite (probabiliste), c'est-à-dire susceptible de couvrir tous les germes probablement en cause, et donc à large spectre.

D'après les travaux de **Denis et al. (2007)**, dans le cas des pieds diabétiques, il s'agit probablement d'une infection polymicrobienne impliquant des bactéries difficiles à cultiver (certaines anaérobies). Dans le cas négatif, il peut s'agir d'un germe exigeant, qui nécessite des milieux de culture spéciaux et une atmosphère spéciale.

Dans notre étude, nous avons signalé que le taux des prélèvements effectués sur les hommes est de 65,71% est beaucoup plus élevé par rapport à celui effectué sur les femmes qui est de 34,25%. Ce taux est presque équivalent à celui obtenu au cours d'une étude effectuée à l'Etablissement public hospitalier (EPH) de Blida avec un taux de 62,5% des patients prélevés étaient des hommes (**Nakkab, 2011**).

D'après les résultats rétrospectives effectuées en Algérie, au CHU de Sétif (**Hannat et al., 2008**), au CHU de Tlemcen (**Berrouiguet, 2008**); et au Congo, CHU de Brazzaville (**Monabaka et al., 2001**), révèlent une prédominance masculine du pied diabétique. Même si la prévalence du diabète ne semble pas différer chez les deux sexes, les hommes sont les plus concernés par le pied diabétique (**Perlmutter et al., 2003**), Ce qui confirme que l'hyperglycémie n'est pas le seul facteur incriminé.

Selon **Grimaldi (2005)**, le taux d'atteinte par le pied diabétique augmente avec le sexe masculin. Cela peut être expliqué par plusieurs facteurs :

- Le port des chaussures fermées toute la journée dans lesquelles la transpiration est importante crée un environnement chaud et humide favorable pour une prolifération microbienne. Des chaussures inadaptées sont considérées comme la cause principale des ulcères du pied chez le diabétique (**Kavan, 2004**).
- Les risques professionnels associés aux emplois occupés par les hommes. Ces derniers occupent plus souvent des emplois dangereux ou difficiles physiquement, des secteurs où le risque de blessure découlant d'un traumatisme est plus important.
- La différence de comportement vis-à-vis du tabac entre les hommes et les femmes peut expliquer le taux élevé des infections du pied chez le sexe

masculin. Selon **Bertoglio (2004)**, un diabétique fumeur multiple les facteurs de risque vasculaire. D'après les travaux de **Ferdenrich et al. (2004)**, le tabac intervient dans l'installation et la progression de l'artériopathie des membres inférieurs.

Concernant le type de diabète, notre étude a montré que 95,71% des patients diabétiques ayant une infection au niveau du pied avaient un diabète de type II. Ce type de diabète est le plus fréquent en terme de prévalence. Nos résultats sont similaires à ceux de **Grimaldi (2005)**, il représente 80% à 90% de l'ensemble du diabète. Selon les études rétrospectives effectuées, le diabète de type II est trouvé en Algérie (Sétif), dans 90% des lésions du pied diabétique (**Hannat et al., 2008**) ; et dans 86,2% des cas au Congo (Brazzaville) (**Monabeka et al., 2001**). Plusieurs facteurs de risque sont étroitement associés à ce type de diabète, à savoir un excès de poids, l'absence d'exercice physique et le tabagisme (**Krzywicki, 2011**).

D'après **Novo (2009)**, environ 50% des personnes atteintes de diabète de type II ne présentent pas de symptôme. Ce diabète silencieux est découvert de façon fortuite lors de la survenue de complications.

Considérant les 70 cas du pied diabétique le nombre totale de prélèvements effectués : les patients diabétiques appartenant à la tranche d'âge de 45 à 65 ans sont les plus touchés (50%) par le problème du pied diabétique. Nos résultats concordent 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. 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.

Dans le cas de notre étude, parmi les 70 patients étudiés, 64 étaient hospitalisés soit une fréquence de 91,42%. Selon **Horde (2009)**, les lésions des pieds sont la principale cause d'admission à l'hôpital des personnes atteintes de diabète. D'après **Vexiax et Acker (2008)**, 20% de toutes les hospitalisations pour diabète sont liées à des complications au niveau des pieds. La durée d'hospitalisation peut varier des 14 à 45 jours (**Grimaldi, 2005**).

Certains diabétiques ne perçoivent pas la douleur et négligent souvent les lésions au niveau des pieds. L'existence d'une neuropathie, les plaies sont indolores, négligées par le patient et découvertes tardivement, à un stade évolué. Ce stade ultime de la maladie est difficile à guérir et les récurrences sont souvent fréquentes (**Herisson et al., 1993 ; Lushiku, 2006**).

Les lésions du pied chez les diabétiques sont fréquentes, le plus fréquemment provoquées par des traumatismes, souvent très minimes peuvent, dans certaines situations, entraîner une amputation (**Horde, 2009**). Selon **Grimaldi et al. (2009)**, 5% à 10% des diabétiques seront un jour victimes d'une amputation. Nous comptabilisons environ 10 000 amputations par an dues au diabète. Alors que 50% de ces amputations pourraient être évitées.

Le consensus international sur le pied diabétique confirme que 40 à 60% des amputations non traumatiques surviennent chez le diabétique. Il conclut aussi que 85% des amputations sont précédées par une ulcération du pied, 4 ulcération sur 5 survenant après un traumatisme externe (**Grimaldi, 2005**).

D'après **Grimaldi (2005)**, le taux de récurrence des amputations est également élevé puisque nous considérons que 6 à 30% des amputés auront une seconde amputation des membres inférieurs dans les 1 à 3 ans suivant la première amputation.

Des infections nosocomiales et post-opératoires sont souvent fréquentes chez les malades hospitalisés. Selon **Teague (2005)**, la résistance de l'hôte est souvent le facteur décisif du développement de l'infection. Parmi les infections nosocomiales, les infections de plaie chirurgicales occupent la troisième place, nous avons estimé que 5 à 12% de tous les patients opérés développent des infections post-opératoires (**Prescott et al., 2002**) qui se traduisent souvent par la présence de pus (**Pebret, 2003**).

La nature de cultures montrent que le taux de culture mono microbiennes est plus élevé avec un taux de 68,18%, ce résultat est presque équivalent à celui obtenu à l'hôpital de Kolea par **Bounaas et Meddour (2005)** qui rapportent un taux de 62% et à celui obtenu au CHU de Blida par **Nakkab (2011)** qui a enregistré un taux de 59,15%. Par contre les résultats de **Lushiku (2006)**, ont montré que l'infection du

Le pied diabétique est souvent polymicrobien et inclut les bacilles à Gram négatif et positif et les anaérobies, surtout dans les cas chroniques.

Concernant l'analyse bactériologique, notre étude a montré la prédominance des bacilles à Gram négatif 68,53%, les BGN sont responsables de la majorité des infections du pied avec une dominance des entérobactéries 55,05% suivi par les *Pseudomonas* 12,35%. Ces résultats sont similaires à ceux d'une étude effectuée à EPH de Blida par **Nakkab (2011)** qui a montré une prédominance des BGN avec un taux de 57,69%. Ces deux types de bactéries sont surtout retrouvés chez les personnes diabétiques et hospitalisées, ceci est dû à leur transmission directe à partir de l'environnement ou partir d'autres malades (**Avril, 1997**). Les bacilles à Gram négatif sont pathogènes en milieu hospitalier (**Laissine, 2000**). Concernant les cocci à Gram positif, elles représentent une fréquence de 31,46% sur les 70 cas prélevés dominés par *Staphylococcus aureus* avec un taux de 28,08%. Ces derniers sont probablement issus des réservoirs naturels de l'homme qui peut développer une infection par sa propre flore ou être contaminé par transmission manuportée à l'occasion de soin (**Fauchere et Avril, 2002**). Par contre les *Streptococcus* occupent la deuxième position avec un taux de 3,31%.

Nous avons isolé un taux de 55,05% des entérobactéries à partir des pieds diabétiques, parmi ces entérobactéries : *Proteus sp*, *E. coli* et *Klebsiella pneumoniae* sont les espèces les plus isolées avec des taux de 12,35%, 7,86%, 6,71% respectivement, selon **Stahl (2006)**, le pied diabétique se surinfecte essentiellement par ces trois germes cités précédemment. Les germes les plus fréquemment observés dans le pied diabétique sont les *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* de groupe A et B, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* et *Clostridium* (**Lushiku, 2006**).

Les résultats des *Pseudomonas sp*, représentent un taux de 12,35%, l'infection par les bactéries du genre *Pseudomonas* faisant intervenir essentiellement l'environnement du patient (**Astagneau et al., 1998**). Les *Pseudomonas aeruginosa* représentent une fréquence de 6,74% de l'ensemble des *Pseudomonas* isolés.

Selon **Stahl (2006)**, *Pseudomonas aeruginosa* est volontiers isolée après des hospitalisations de longue durée.

Dans le groupe des cocci à Gram positif (CGP) et parmi 89 germes retrouvés, les *Staphylococcus aureus* été l'espèce dominante avec un taux de 28,08%, ce taux est proche de celui rapporté par une étude effectuée au CHU de Blida (24,56%) (**Semmadi, 2007**). Selon **Avajjar (2006)**, les *Staphylococcus aureus* sont les agents les plus impliqués dans la suppuration, leur vie commensale associée à la virulence de certaines espèces explique que ces bactéries représentent une cause majeure d'infection.

D'après **Lecornet (2007)**, 29 à 76% des prélèvements bactériologiques sont positifs à *S. aureus*. L'infection à *S. aureus* est souvent d'origine endogène mais la transmission directe manuportée d'homme à homme est relativement fréquente, de même que la transmission indirecte par l'environnement contaminé (**Astagneau et al., 1998**).

Au sein du même groupe les streptocoques occupent la deuxième position avec un taux de 3,37%. Les travaux de **Kernbaum (1990)**, ont noté que les streptocoques sont les germes les plus isolés en clinique après les entérobactéries et les staphylocoques.

Depuis quelques années, l'émergence de résistances aux antibiotiques a compliqué la prise en charge des infections bactériennes. Selon **Canu et François (2001)**, l'augmentation de la fréquence d'apparition de souches résistantes est liée aux conditions d'utilisation des antibiotiques. L'utilisation extensive et abusive des antibiotiques, l'interruption trop rapide d'un traitement, l'usage intensif de certains antibiotiques dans l'alimentation animale sont autant de facteurs qui favorisent l'émergence de souches résistantes (**Canu et al., 2001**). D'après **Cavallo et al. (2004)**, l'existence et la fréquence des mécanismes de résistance acquise sont la justification essentielle de la pratique d'un antibiogramme, car en ce qui concerne les résistances naturelles, la simple identification de l'espèce est suffisante.

Au cours de notre étude les antibiotiques suivants : FLAGYL (500 mg Comprimé), CEFACIDAL 1g/5ml (Lyophilisat et solution pour préparation injectable), CLAFORAN 0,5g (Poudre et solution pour solution injectable) sont les traitements probabilistes adaptées en urgence dans le service de diabétologie de l'EPH de Blida.

Les FLAGYL sont des antibiotiques à large spectre, l'utilisation de ces antibiotiques est l'un des facteurs majeurs de l'émergence des bactéries multi résistantes.

L'étude de l'antibiorésistance de différentes souches bactériennes ont montré que ces bactéries ont développé des mécanismes de résistance, leur confèrent une résistance aux antibiotiques, ce qui pose un problème majeur dans la thérapeutique.

Les Entérobactéries ont montrés une résistance au  $\beta$ -Lactamines testés avec un taux de 57,14%, la Gentamycine (CN) été en générale l'antibiotique le plus efficace sur les entérobactéries avec un taux de sensibilité de 61,22%. Selon **Opal et al. (2000)**, les entérobactéries ont la capacité de produire des enzymes (les  $\beta$ -lactamases) qui inactivent les  $\beta$ -lactamines par ouverture du cycle de  $\beta$ -lactame. Les entérobactéries sont généralement sensible à l'imipenème, ce derniers traverse la membrane externe des BGN par des porines spécifique, il reste donc actif sur les mutants de perméabilité aux autres B-lactamines (**Martin, 2008**).

Les 11 souches de *proteus* ont présenté une résistance élevée à la céfazoline 73.68%.(Céphalosporine de 1ere génération). Cette résistance est probablement dû à l'hypersécrétion d'une céphalosporinase, une sensibilité vis-à-vis les  $\beta$ -lactamines (AMC), les Aminosides(GN), quinolones(OFX). D'après **Goubau et Gompel (2000)**, *Proteus* est la plus souvent sensible à l'Ampicilline, aux Aminosides. Elles sont aussi sensibles au sulfamide. Ces résultats concordent avec ceux de Diss (**2002**), les antibiotiques les plus souvent actifs sont les quinolones, les aminosides et l'association Triméthoprime-sulfamide.

Les 07 souches d'*E. Coli* présentent une sensibilité à : la Gentamicine, Imipenème, Acide nalidixique, Ofloxacin. D'après (**Eyquem et al., 2000**), *E. coli* a une sensibilité naturelle à de nombreux antibiotiques notamment les  $\beta$ -lactamines, les Aminosides et les quinolones, malheureusement certaines souches apparaissent résistantes selon **Jerom (2007)**, cette résistance est due à la production d'une pénicillase naturelle.

La résistance élevée des 07 souches de *Morganella morganii* aux Amoxicilline+ acide clavulanique, a la Gentamicine, et a l'association Triméthoprime-sulfamide. Est probablement due à la production ou la synthèse de  $\beta$ -lactamase. D'après **Goubau et Van Compel (2000)**, les espèces indole-positif (*Morganella morganii*) produisent une  $\beta$ -lactamase constitutionnelle, responsable de la résistance à l'Ampicilline.

Les 08 souches de *klebsiella* affichent une résistance élevée aux Amoxicilline, Amoxicilline + acide clavulanique, cefazoline, Selon **Freney (2007)**, les klebsielles sont naturellement résistantes aux pénicillines des groupes G et A, par contre au **Vaubourdolle (2007)**, les klebsielles sont sensibles aux céphalosporines. Une sensibilité élevée à la Gentamycine, D'après **Vaubourdolle (2007)**, les klebsielles demeurent sensibles au divers Aminosités.

Les 11 souches de *Pseudomonas* présentent une résistance élevée aux Ticarcilline, pipracilline, Ticarcilline +Acide clavulanique, Netilmicine, Aztréonam, Tobramycine. Par contre Selon **Morère et al. (2001)**, les  $\beta$ -lactamines (Ticarcilline, pipracilline, Ticarcilline + acide clavulanique, Netilmicine, Aztréonam) agissent contre les bactéries à Gram négatif incluant *Pseudomonas aeruginosa*. Une sensibilité élevée à la Gentamicine, d'après **Lozniewsk et al. (2010)**, les aminosités tel que la Gentamicine sont des bactéricides à large spectre agissent sur les bacilles à Gram négatif comme les Entérobactéries et les *Pseudomonas aeruginosa*. Mais l'acquisition de résistance à l'égard de tous ces antibiotiques est fréquemment observée.

L'évaluation de l'efficacité des antibiotiques contre les bactéries à Gram positif a révélé que les streptocoques présentent une sensibilité totale à l'Ampicilline, la Vancomycine. L'efficacité de la Vancomycine sur les souches de *streptococcus sp*, avec une sensibilité totale a été rapportée par **Bounaas et Meddour (2005)**, **Hassenbey et Soum (2006)**, ainsi. Moins de sensibilité vis-à-vis la Pénicilline, l'Erythromycine, la Clindamycine, selon **Avril et al. (1992)**, les streptocoques sont généralement sensibles aux pénicillines et aux Macrolides.

Une résistance marquée envers la Gentamycine, Tétracycline, Selon **Vaubourdolle (2007)**, les streptocoques présentent une résistance naturelle aux Aminosités, due au fait que les aminosités ne traversent très peu la membrane cytoplasmique (**Nauciel, 2000**).

Les 25 souches des *S.aureus* ont présenté une résistance aux  $\beta$ -Lactamines avec un taux de (48%). **Jerome (2007)**, a montré que les souches sauvages de *S.aureus* sont toutes résistantes aux  $\beta$ -lactamines. En outre la résistance acquise de *S.aureus* aux  $\beta$ -lactamines s'explique par deux mécanismes principaux : la production de pénicillinase et la modification des cibles d'action de ces antibiotiques (**Laurant et Loic, 2006**). Parmi ces



25 souches, (88%) ont présenté une résistance à la pénicilline. Cette résistance selon **Jerome (2007)** est due à la production d'une pénicillinase plasmidique, cette pénicillinase est inductible et se développe très rapidement dès l'introduction de la pénicilline G.

La kanamycine, La Gentamycine, la chloramphénicol, la Pristinamycine, la vancomycine, Céfoxitine et l'Oxacilline étaient en générale les antibiotiques les plus efficaces sur les 25 souches isolées de *S.aureus* avec une sensibilité de 76%, 52%, 88%, 92%, 68%, 68%, 64% respectivement. La voncomycine été en générale le glycopeptide de référence pour tous les souches de *S.aureus* isolées.

36% de *S.aureus* sont des MRSA ((Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*), ce taux est semblable à celui obtenu par **Hasseinbey et Soum (2006)**, **Bounaas et Meddour (2005)**, ils ont rapporté des taux 26,3% et 31,3%.

Les MRSA sont particulières par leur risque élevé de transmission (**Lecornet, 2007**). Ces MRSA sont des BMR (bactéries multirésistantes), qui ont l'aptitude de résister rapidement aux autres antibiotiques (**Astagneau et al., 1998**).

La résistance à la méhticilline est due à la synthèse d'une protéine supplémentaire, la PLP2a, pour laquelle les  $\beta$ -lactamines n'ont qu'une très faible affinité, la synthèse de cette protéine est liée à la présence d'un gène chromosomique, le gène mec A, la résistance conférée touche l'ensemble des  $\beta$ -lactamines, de plus, il existe souvent une corésistance à d'autres familles d'antibiotiques (macrolides, aminosides, fluroquinolones,..) (**Bajolet et Brasme, 2003**).

Certaines souches sont hyperproductrices des pénicillinases et deviennent alors résistantes à l'oxacilline (méthicilline) (**Jerome, 2007**).

La résistance à la méhticilline par modification de cible en produisant une nouvelle PLP est rarement observée au cours des infections communautaire (**Laurent et Loic, 2006**).

L'isolement de 09 MRSA pose un problème inquiétant puisque ces BMR sont des germes types des infections nosocomiales (acquises à l'hôpital).

Selon **Poyart (2003)**, les facteurs favorisant les infections aux bactéries multirésistantes sont liées au terrain (patients fragilisés, immunodéprimés...), aux actes invasifs (cathéters, sondage...), à la durée d'hospitalisation prolongée, à l'hospitalisation dans des unités de

soins intensifs au non-respect des règles d'hygiène par le soignant, et à l'antibiothérapie prolongée à large spectre.

Selon **Astagneau et al. (1998)**, la dissémination de la multirésistance se fait par transmission manuportée, le risque de transmission est directement lié à la fréquence des contacts avec les patients porteurs de BMR.

Les infections à *staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline (MRSA) sont en augmentation régulière et posent de plus en plus des problèmes thérapeutiques vu l'émergence des souches multirésistantes.

Le traitement de choix de ces infections est fondé sur les glycopeptides, **Quentin et al. 2001, Bounaas, Meddour (2005), Hasseinbey et Soum (2006)**. Avaient montré l'efficacité totale de la vancomycine sur toutes les souches de *S.aureus* isolées (y compris les MRSA).

Selon **Penz et al. (2010)**, la Vancomycine est l'antibiotique utilisé dans le traitement de référence pour les MRSA. De telles souches semblent être rares mais d'une surveillance régulière de résistance des MRSA aux antibiotiques est nécessaire (**Mastouri, 2004**).

Concernant l'aromatogramme, les résultats obtenus montrent une grande activité antibactérienne d'huile essentielle de *lavandula angustifolia* vis-à-vis les souches de *Staphylococcus aureus*, et sur l'ensemble des entérobactéries. Nos résultats sont similaires à ceux de **Miladinovic et al. (2012)**.

Cette réponse antibactérienne de l'HE de *lavandula angustifolia* vis à vis les souches étudiées peut être expliquée par la présence d'un composant dans l'huile qui inhibe leur croissance. Plusieurs études ont montré que le linalol inhibe divers bactéries présent dans la peau notamment *Staphylococcus aureus*, *Sterptococcus* et *Escherichia coli*. (**Sokavic et al., 2010 ; Hui et al., 2010 ; Panahi et al., 2012**). En plus la lavande a une action anti-infectieuse du faite de l'association de L'eugénol et l'acide rosmarinique (**Budzynska et al., 2011**).

Des activités bactéricides et bactériostatiques contre les Satphylocoques dorés méthicillino-sensibles et résistantes sont observées in vitro (**Roller et al., 2008**). Suite aux résultats obtenus nous avons signalé une résistance totale des souches de *Pseudomonas* due à l'inefficacité de l'huile de lavande sur ces dernières, contrairement à une étude qui a

montré que les huiles essentielles de lavande manifeste une activité supérieure aux antibiotiques conventionnelle envers les *Pseudomonas aeruginosa* (Miladinovic et al., 2012).

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).

C'est le cas pour notre huile essentielle de lavande qui possède des composants hydrophobes ce qui leur permet de séparer les lipides des membranes cellulaires bactériennes, les rendant ainsi plus perméables. Notons que les Gram- sont plus résistantes aux antiseptiques que les Gram+ car leur membrane extérieur agit comme une barrière. (Miladinovic et al., 2012).

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 la force motrice de proton, fuite d'électron et la coagulation du contenu protéique des cellules (Davidson, 1997).

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).

Une inhibition de la décarboxylation des acides aminés chez *Enterobacter aerogenes* aussi été rapportée (Wendakoon et Sakaguchi, 1995). Les HEs peuvent aussi inhiber la synthèse de l'ADN, ARN, des protéines et des polysaccharides (Cox et al., 1991). Néanmoins, certains composés phénoliques de bas poids moléculaire comme le thymol et le carvacrol peuvent adhérer à ces bactéries par fixation aux protéines et

aux lipopolysaccharides pariétales grâce à leurs groupes fonctionnels et atteindre ainsi la membrane intérieure plus vulnérable (**Dorman et Deans, 2000**).



## Conclusion

## Conclusion

Le pied diabétique est un sérieux problème de santé publique majeur à travers le monde en raison de risque évolutif des plaies vers les amputations fréquentes. L'infection de pied diabétique est une complication silencieuse de diabète qui doit faire l'objet d'un bilan précis avant toute décision thérapeutique.

Les résultats d'analyse sur les 70 patients diabétiques, ont montré que plusieurs facteurs influent sur les infections du pied diabétique : la majorité de sexe masculin sont plus touchés par rapport au sexe féminin. La tranche d'âge comprise entre 45-65 était la plus concernée, et ayant le diabète de type II était le plus fréquent.

D'après cette étude, nous avons constaté que les germes les plus responsables sont les bacilles à gram négatifs avec une prédominance de cultures mono bactérienne.

L'étude du profil de la résistance des germes isolés montre une grande résistance des Entérobactéries aux  $\beta$ -lactamines (61,22%), des *staphylococcus aureus* à la pénicilline (88 %) et à la tétracycline (72%). Parmi les *staphylococcus aureus* nous avons 36% des MRSA (Méthicilin-resistant *staphylococcus aureus*).

Dés l'utilisation abusive et non contrôlé des antibiotiques une augmentation de spectre de résistance pour la majorité des bactéries est observées, pour cela nous avons fait appelle a une autre approche en utilisant des plantes (*lavandula angustifolia*).

L'étude de l'activité bactériostatique de l'huile de *lavandula angustifolia* a montré que l'huile essentielle de la lavande est active sur toutes les souches isolées à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa*, dont *staphylococcus aureus* est l'espèce qui a présenté le taux le plus élevé de sensibilité (69,5 mm).

Pour conclure, l'huile essentielle de lavande ne peut pas être utilisée comme thérapeutique contre les infections profondes mais à son utilité en prophylaxie et en alternative contre les infections bactériennes résistantes aux antibiotiques.

# Recommandations

## *Recommandations*

Le "pied diabétique" apparaît donc comme une pathologie complexe, d'abord difficile, nécessitant une approche multidisciplinaire et nécessitant la coopération de nombreux acteurs de santé. Seuls le dépistage et la prévention permettront de diminuer le poids énorme que représente cette pathologie. Cette prévention passe par des mesures générales et d'autres plus focalisées sur le pied :

Les mesures générales et particulières :

- L'obtention d'un équilibre glycémique optimal.
- La lutte contre les facteurs associés de risque cardio-vasculaire (tabac, dyslipidémie, HTA) doit être engagée précocement.
- La restauration d'un état circulatoire satisfaisant grâce aux techniques modernes de revascularisation est capitale.
- Prendre Soins et l'hygiène des pieds (utiliser de l'eau tiède et bien sécher après chaque lavage entre les orteils).

A fin d'améliorer ce travail, une étude approfondie sur l'aromatogramme sera nécessaire par l'extraction et étude de principe actif de *lavendula angustifolia*. Compléter cette étude par des essais d'application cutané chez les patients atteints de pied diabétique pour évaluer et démontrer son effet sur l'évolution de l'infection.



## Références bibliographiques

## Références bibliographiques

**Annick M., Gilles L., Daniel J-M. 2012:** Evaluation de la prise en charge du diabète. Inspection général des affaires sociales RM 2012-033P.IGAS, Rapport N° RM 2012-033, p : 13.

**Appelbaum P-C., Stavitz J., Bentz M-S., Von Kuster L-C. 1980:** Four Methods for Identification of Gram-Negative Non fermenting Rods: Organisms more commonly encountered in Clinical Specimens. (1980) J. Clin. Microbiol. 12, p : 271-278.

**Aribi Y. 2008 :** Le fascicule de la santé .Revue médicale N°11. p : 34-40.

**Armstrong DG, Lavery LA. 1998:** Diabetic foot ulcers: prevention, diagnosis and classification. Am Fam Physician ; 57: p : 1325-1332.

**Astagneau Y., Costa Y., Le grand P., Lucet J-C., Marty L., Prieur B. 1998:** Les maladies infectieuses de l'enfant: Diagnostic et traitement. Ed: Paradel, p: 668.

**Avajjar N. 2006 :** Multirésistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescense*, et *Staphylococcus aureus* et sur divers tissus hospitalier. N°145,

**Avril J-L., Dabernat H., Denis F., Monte H. 2000:** Bactériologie clinique, 3eme édition : Ellipses. Paris. p : 275.

**Avril J-L., Henry D., Francois D., Henri M. 1992:** Bactériologie clinique, 2<sup>ème</sup> édition ellipses Paris, p : 149-150-268.

**Aymeric Lazarin., François Couplan. 2010:** Lavande arômes et bienfaits. Réf : 85235.

**Bajolet O., Brasme L. 2003:** Dépistage des bactéries multirésistantes aux antibiotiques, laboratoire de bactériologie, virologie, hygiène, centre hospitalier universitaire : Robert-Debré. Biologie clinique. N°25, p : 2.

**Bakker K., Riley P. 2005:** Diabète Voice. L'année du pied diabétique. Vol. 50-N°1. p : 11.

**Benba J.M., Braun-Mauger A. 2008:** le pied diabétique neuropathique, service de diabétologie, hôpital-dieu, France, p : 2.

**Benjilali B., Tantaoui-Elaraki A., Ismaili-Alaoui M. Et 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.

**Bernard J. et Alain R. 2003:** Entérobactéries systématiques et méthodes de diagnostique. Edition Lavoisier. Paris, p : 79-85.

**Bernard P., Bédane C., Mounier M., Denis F., Bonnetblanc JM. 1995:** Dermohypodermes bactériennes de l'adulte : incidence et place de l'étiologie streptococcique. Ann Dermatol Vénéréol 1995 ; 122 : 495-500.

- Berrouiguet Y., Meguenni K., Brouri M. 2008:** Les plaies du pied chez le diabétique : Épidémiologie et prise en charge au CHU Tlemcen, *Diabetes & Metabolism*, (mars 2008) Volume 34, n° S3, p : H74 .
- Bertoglio J. 2005:** Diabétique du sevrage tabagique chez le diabétique. *Diabètes Voice* volume 50. p : 36-39.
- 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 ».
- Blackwell A., De Beer A., Eurlly F. 1996:** Pathologie du pied .Edition Masson Paris. p : 120.
- Bosgiraud C. 2003:** Microbiologie générale et santé. Édition Edition ESKA paris : p : 513.
- Boulahbal F. 2006:** Microbiologie. Office des publications universitaires. Alger. p : 24-87,127-128.
- Bounaas I., Meddour Y. 2005:** Etude cyto bactériologique des divers pus, Hôpital de Kolea. Thèse soutenue le 02.10.2005. Université de Saad Dahleb. p : 71-73.
- Boutoille. D., Leautez S., Maulaz D., Krempf M. Et Raffi F. 2000:** Infections bactériennes cutanées et osteo-articulair du pied diabétique. *Presse Med.* (29). p : 387-397.
- Brooks K-A., Jens M., Sodeman T-M-A. 1974:** Clinical Evaluation of the API Microtube System for Identification of Enterobacteriaceae. *Am. J. Med. Techn.* 40, p : 55-61.
- Brunner L-S., Smeltzer C-S., Suddarth D-S., Bare B. 2006:** Soins infirmiers en médecine et en chirurgie. 4<sup>ème</sup> édition de Boeck, p : 301-306.
- Budzynska A., Wieckowska-Szakiel M., Sadowska B., Kalembe D. ET Rozalska B. 2011:** Antibiofilme activity of selected plant essential oils and their major components. *Polish journal of microbiology.* p : 35-41.
- Buffet C., Vatiez C. 2010:** Endocrinologie Diabétologie nutrition. Edition Masson. Paris. p : 15-177.
- Canu A., Francois P. 2001:** le préparateur en pharmacie-Microbiologie et immunologie. 4ème édition Tec et DOC. Paris.
- Carle S. 2009:** Les résistances aux antibiotiques: Un enjeu de santé public important pharmactuel, vol 42 supplément 2 décembre 2009, p : 10.
- Cavallo J-D., Fabre R., Jehl F., Rapp C., Garrabe E. 2004:** Betalactamines, beta- lactam antibiotitcs. *EMC-Maladies infectieuses.* Vol : 1. Issue : 03.
- Chaplain C. 1997:** Conduite à tenir devant une bactérie multi résistante MAPAR saint- Denis. p : 654-571.
- Charpentier H-H., Haman F., Harley A., Ridou L. 2008:** Guide du préparateur en pharmacie. Elsevier Masson. p : 239.

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

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

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

**Daubechies H. 2011:** Appareillage du pied diabétique. Synthèse du séminaire. Haute école PAUL HENRI-SPAACK, p : 4.

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

**Delarras C. 2007:** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou contrôle sanitaire. Edition Lavoisier. Paris. p : 476.

**Delarras C. 2014:** Pratique en microbiologie de laboratoire Recherche de bactéries et de levures-moisissures, Éditions Lavoisier, Paris ISBN : 978-2-7430-1565-7.

**Denis F., Cécile M., Martin C., Bengen E., Quentin R. 2007:** Bactériologie médicale Technique usuelles. Edition Masson. Paris. p : 573.

**Denis F., Phocyl M., Martin C., Bingen E., Quentin R. 2007:** Bactériologie médicale, technique usuelles. Ed : Masson. p : 179.

**Diss L, 2002:** Détermination des propriétés biologiques (activités pharmacologique et toxicologiques) des plantes médicinales et aromatique du PNT, programme de l'UICN en Afrique de la Nord phase III, p : 235.

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

**Eyquem A., Montagnier L., Alouf J. 1998:** Traité de microbiologie clinique. Edition piccin. Paris, p : 15-96.

**Eyquem A., Montagnier L., Alouf J. 2000:** Traité de microbiologie clinique. Deuxième mises jour et complément. Piccin Nouva Libraria S.P.A. Padoue, Italie, p : 77.

**Fauchère J-L. 2002:** Bactériologie générale et médicale. Edition ellipses. Paris, p : 365-543.

**Félix B., 2001:** Le pied diabétique, *Forum Med Suisse* No 1725 avril 2001, p : 431-432.

**Fernandez Montequin JI., Infante-Cristia E., Valenzuela-Silva C., et al. 2007:** For the Cuban Citoprot-P Study Group. Intralesional injections of Citoprot-P® (recombinant human epidermal growth factor) in advanced diabetic foot ulcers with risk of amputation. *Wound J*; 4: p : 333-343.

- Fredenrich A., Bouillanne P-J., Batt M. 2004:** Artériopathie diabétique des membres inférieurs. EMC-Endocrinologie n°1. p : 117-132.
- Freney J., Renaud F., Hansen W., Biolet C. 1998:** Manuel de bactériologie clinique. 2eme Edition Beck, p : 429.
- Game F., Jeffcoate W. 2004:** MRSA and osteomyelitis of the foot in diabetes. Diabet. Med. 21: 255-270.
- Gerding D-N. 1995:** FOOT infection in diabetic patients: the role of anaerobes. Clin. Infect. Dis. 20: p : 8-283.
- Gin H., Rigalleau V. 2005:** Le pied diabétique, L'observation du mouvement Sud Radio-4, place Alfonse-Jourdain 31071 Toulouse Cedex 7, p : 5.
- Gören AC., Topçu G., Bilsela G., Bilsela M., Aydoğmus Z. Et Pezzuto J-M-Z., Naturforsch. 2002:** p : 797-800
- Got I. 2001:** Journal des maladies vasculaires. J, Mal. Vasc. 26. p : 130.
- Got I. 2001:** Sur la nécessité d'une approche multidisciplinaire du pied diabétique. J, Mal. Vasc. 26. p : 4 -130.
- Goubau P., Van Gompel A. 2000:** Repères en microbiologique. Louvain Garant, p : 365-543.
- Grimaldi A., et al. 2004:** Guide pratique du diabète ; Edition Elsevier SAS-Paris. p : 23-24.
- Grimaldi A. 2005:** Traité de diabétologie. Tome 03 Edition Médecine science, Flammarion. Paris. p : 733-766.
- Grosjean J., Clave D., Archambaud M., Pasquier C. 2009:** Bactériologie et virologie pratique. Edition De Boeck. Bruxelles. p : 55-170.
- Grumbach M-L., Jean L-R. 2005:** pour la prévention et le traitement local des lésions du pied chez les diabétiques. Recommandations de bonnes pratiques Alfediam, paramédical 2005, p : 6-7.
- HA Van G. 2008:** Le pied diabétique. Edition Masson .Paris. p : 1-8, 128-129.
- HA van G. 2008.** Profil bactériologique des lésions trophiques du pied diabétique et leur résistance aux antibiotiques. Diabètes & Métabolisme. Volume 34, Supplément 3.
- HA Van G. 2008:** Conduite à tenir face a une plaie du pied chez un dibbétique.la revue de médecine interne n°29.p : 238-242.
- Ha Van G. 2008:** Le pied diabétique. Collection abrégés. Edition Elsevier Masson. p : 201.
- HA Van G., et al. 2000:** pied diabétique. Encycl. Méd. Chirurgie-podologie. p : 16.
- Hartemann-Heurtier A. Et Senneville. 2008:** Diabetic foot osteomyelitis. Diabète Metab.34. p : 85-95.

- Hartmann-Heurtier A., Marty L., Ha Van G., Grimaldi A. 2000:** Place de l'antibiothérapie dans le traitement du pied diabétique. Elsevier Masson SAS. Vol 26, N°3. p : 219.
- Hasseinbey., Soum. 2007:** Etude cyto bactériologique de prélèvement de pus chez les diabétiques gangréneux. Thèse soutenue le 22.02.2007. Université de Saad Dahleb de Blida.
- Herisson C., Simmon L. 1993:** Le pied diabétique .Edition Masson. Paris. p : 112.
- Hnnat S., et al. 2008:** Profil bactériologique des lésions trophiques du pied diabétique et leur résistance aux antibiotiques à propos de 236cas.diabète & Metabolism. Volume 34, Supplement 3.
- Horde p. 2014:** Pied du diabétique, issu de Sante-Medecine.
- Hui L., HE L., Huan L., Xiaolan L. Et Aiguo Z. 2010:** Chemical composition of lavender essential oil and its antioxidant activity and inhibition against rhinitis-related bacteria.African journal of microbiology research. 4: 309-13.
- Jérôme P. 2007:** Pénicillinase, service des maladies infectieuse et tropicales, hôpital Saint-Antoine, CHU, Paris. P6-15, P : 23-26.
- Kavan A. 2004:** Chaussures thérapeutiques en prévention des ulcères du pied chez le diabétique. Minerrva, vol 3, n 8.
- Kernbaums S. 1990.** Elément de pathologie infectieuse. Ed: 5<sup>ème</sup> édition: SIMEP. Paris p : 606.
- Kernbaums S. 2008.** Dictionnaire de médecine Flammarion. Médecine Science Flammarion, 8 Edition. p : 300-420.
- KHalfa S. 2001:** le diabète sucré .Algérie office publications universitaires, p : 102.
- Krzywicki C. 2011:** L'impact médical hospitalier de la prise en charge du pied diabétique .MASHEM.N° :157.
- 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.
- Lavery L-A., Armstrong D-G., Wunderlich RP. Tredwell J ET Boulton AJ. 2003:** Diabetic foot syndrome: evaluating the prevalence and incidence of foot pathology in Mexican Americans and non-hispanic whites from a diabetes disease management cohort. Diabetes Care 2003; 26:1435-1438.
- Laving J-P. 2007:** effet des antibiotiques et mécanisme de résistance, p : 2.
- Lebres H-A.2002:** Cours national d'hygiène et de icrobiologie, institute Pasteur d'Alger.
- Lencornet 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.
- Libran C., Moro A., Zalacain A., Molina A., Carmona M. ET Berruga M. 2013:** Potential application of aromatic plant extracts to prevent cheeses blowing. World journal of microbiology and biotechnology, p: 1-10.

- Lipsky B-A. 2008:** New developments in diagnosing and treating diabetic foot infections. *Diabetes Metab, Res, Rev*, 24; 66-71.
- Lipsky B-A., Berendt A-R. ET Embil J. 2004:** Diagnosing and treating diabetic foot infections. *Diabetes. Metab.* 20: 56-64.
- Lipsky B-A., Pecoraro R-F. ET Wheat L-J. 1990:** The diabetic foot. Soft tissue and bone infection. *Infect. Dis. Clin. North.* 4; 32-409.
- Lozniewski A., Raboud. ET Nancy. 2010:** résistance bactérienne aux antibiotiques, Fiche conseil pour la prévention du risque infectieux-Infections associées aux soins ¼ Juillet 2010 CCLIN Sud-est, P : 2.
- Lushiku E-B. 2006:** Le pied diabétique *Rev Med .Bruxelles.* S315-323.
- Lushiku E-B.2006:** le pied diabétique, les pathologies du pied, *Rev Med Brux-2006.* Diabetic foot. Service d'orthopédie-traumatologie, HIS., Site Etterbeek-Ixelles et Molière-Longchamp, p : 316-318.
- Mader S. 2010:** biologie humaine. Ed De Beck, p : 302.
- Male D. 2005:** Immunologie.Edition De Boeck & Lacier. Bruxelles, p : 79.
- Marshall W-J., Bangert S-k. 2005 :** Biochimie médicale- physiopathologie et diagnostic .Edition MASSON, p : 188-189.
- Martin C. 2008:**Urgence et infections: guide bon usage des antibiotiques, antifongique, antiviraux, antiseptiques. Edition walters Kluwer France, p : 221.
- Mastouri M., Nour M., Bennejma M., Bouallegue O., Hammami M. ET Kheder M. 2004:** Résistance aux antibiotiques de *S.aureus* résistante à la méticilline; detection des premières souches de sensibilité diminuée aux glycopeptides en tunisie. *Pathologie, biologie*, p : 33-36.
- 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.
- Medart J. 2009:** manuel pratique de nutrition. L'alimentation préventive et curative.2<sup>ème</sup> Edition .Edition de Boeck, p : 145-162.
- Miladinovici D., Ilic B., Mihajilov-Krestev T., Nikolic N., Miladinovici. ET Cvetkovic O. 2012:** Investigation of chemical composition-antibacterial activity relationship of essential oils by chemometric methods. *Analytical and bioanalytical chemistry.* 403: 1007-1018.
- Monabek N., Nsakala K. 2003:** Aspect épidémiologie et Cliniques du pied diabétique au CHU de Brazzaville, Congo. N°2301.
- Monabeka H-G., Nsakala-Kibangou N. 2001:** Aspects épidémiologiques et cliniques du pied diabétique au CHU de Brazzaville-Congo. *Bull Soc pathol Exot*, 94,3, p : 246-248.
- Monnier C. 2003:** Diabétologie et mycologie médicales. Paris, p : 272-274.

- Monnier L., Colette C. 2010:** diabétologie. Edition Masson, p : 85.
- Morel A., Lecoq G., Menninger D. 2012 :** Evaluation de la prise en charge du diabète. Inspection générale des affaires sociales. TOME RAPPORT , p :03.
- Nakkab S. 2001:**Examen cyto bactériologique des pus cutanés et sous cutanés chez les diabétiques.EPH de Blida. Université de Saad Dahleb, p : 53-65.
- Nam Han Cho., David Whiting. ET Leonor Guariguata. 2013:** ATLAS du DIABÈTE de la FID (Fédération Internationale du Diabète), 6eme édition.
- Nauciel C., Vildé J-L. 2005:** bactériologie médicale. 2<sup>ème</sup> édition Masson, p : 65-68.
- Nauciel C. 2000 :** bactériologie médicale, p : 55-69.
- Nauciel C. 2000:** Bactériologie médicale. Edition Masson. Paris, p : 288.
- Ondoua M.J. 2012:** je me porte bien avec mon diabète .l'Harmattan. Paris, p : 50.
- Opal S., Mayer K., Medeiros A. 2000:** mechanism of bacterial antibiotic résistance in GL. Mandell.J.Bennett and rdolineds. Principale and practice of infectious disease. Philadelphia: Churchill limvingstone, p: 53-236.
- Pacaud G. 1995:** Le diabète et ses complications ; Edition Albim Michel S.A. Paris, p : 90-93.
- Panahi Y., Akhavan A., Sahebkar A., et al. 2012:** Investigation of the effectiveness of Syzygium aromaticum, Lavandula angustifolia and Geranium robertianum essential oils in treatment of acute external otitis: a comparative trial with Ciprofloxacin. Journal of microbiology, immunology and infection, P: 1-6.
- Pebert F. 2003:** Maladies infectieuses. Edition heures de France. Paris, p : 144-150.
- Pedgrift C-K. 2011:** l'impact médical hospitalier de la prise en charge du pied diabétique, mémoire de fin d'étude master of Advanced studie en économie et management de la santé, faculté de Lausanne faculté biologie et médecine, p : 3.
- Pellas F., Petiot S., Kotki N. ET Sotto N. 2002:** infections nosocomiales et médecine physique et de réadaptation. Edition Masson. Paris, p: 1-8.
- Penz S., Puzenat E., Saccomani C., Mervet I., Blanc D., Hombert P. ET Aubin F. 2010:** Infection cutanée polymorphe locorégionale à Pseudomonas aeruginosa,médecine et maladie infectieuse. N°40, p: 409.
- Perlemuter L. 2008:** guide pratique de l'infirmière. 2<sup>ème</sup> édition revue et augmentée. Elsevier Masson.
- Perlemuter G., Morin N.H. 2004:** Endocrinologie Diabétologie Nutrition.4eme édition. Collection Med-Line. Estem, p : 195.
- Perlemuter L., Selum J-L. ET Collin De l'hortet G. 2003:** Diabète et maladies métaboliques ; 4 Emme édition Masson. Paris, 2003, p : 115-146.
- Poyart P. 2003:** Bactériologie systématique, Tom II, Ed : Masson : Paris, p : 25, 26, 45.



**Poyart. 2002-2003:** bactériologie générale.

**Prékarski Andrée. 2003:** pratique clinique en bactériologie Mycologie et parasitologie, p : 40.

**Prescott L-M., Harley j-P. ET Klein D-A. 2003:**Microbiologie.2eme édition De Boeck et lacier. Bruxelles, p : 711-779.

**Priollet P. 2004:** Artériopathie Oblitérante des Membres inférieurs du Diabétique. Complications artérielles du diabète. Actualités de chirurgie vasculaire (Editions AERCV) 2004: 119-125.

**Quentin C., Grohost F., Fisher I., Dutilh B., Brochet TP., Jullin J., Lagrang I., Moury P., Larribet G., Ander C., Dupovey S. ET Boissicot D. 2001:** Résistance aux antibiotiques des S.aureus en pratique de ville, étude sur 6mois en Aquitaine. N°49, p : 33-40.

**Redier M. 2001:** définition et classification du diabète, Endocrinologie-CHU-Nimes.

**Regnaul J-P. 2002:** éléments de microbiologie et d'immunologie. Édition Décarie, p : 260-267,460-469.

**Reiber G-E. 2004:** chaussures thérapeutique en prévention des ulcères du pied chez les diabétiques, Minevra, Octobre 2004, volume 3, numéro 8, p : 126.

**Rémy Dominique. 2010:** les mammites. Edition février 2010. Guide France Agricole, p : 97.

**Richard J-L., Lavigne J-P. 2007:** Prise en charge du pied diabétique infecté. Médecine interne, 29, Edition Elsevier Masson, p : 222-230.

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

**Roller S., Ernest N. ET Buckle J. 2008:** The antimicrobial activity of high-necrodane and other lavender oils on methicillin-sensitive and-resistant Staphylococcus aureus (MSSA and MRSA). The journal of alternative and complementary medicine. 15: 275-279.

**Rovan V-U. 2005:** diabète Voice, le pied d'abord, fédération international du diabète, p : 19.

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

**Semmadi A. 2007:** Etude cyto bactériologique de prélèvement de pus; CHU de Blida. Thèse soutenue le 15.12.2007. Université Saad Dahlab de Blida, p : 58-59.

**Senneville E. 2007:** Ostéite du pied chez le diabétique. Rev. Prat. 57: 4-991.

**Senneville F. 2008:** infection et pied diabétique .la revue de médecine interne. Tom29. p : 243-248.

**Shankar E-M., Mohan V., Premalantha G., Srinivassan R-S. ET Usha A-R. 2005:** Bacterial etiology of diabetic foot infections in South India. Eur. J. Intern. Med. 16 : 70-567.

**Sokovic M., Glamoclija J., Marin P., Brkic D ET Griensven L. 2001:** Antibacterial effects of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs using an in vito model. *Molecules*. 15:7532-46.

**Stahl J-P. 2006:** Prise en charge de pied diabétique infecté. Séminaire organisée par la société de Pathologie infectieuse de langue française.

**Stahl J-P., et al. 2007:** Recommandations pour la pratique clinique-prise en charge du pied en charge du pied diabétique infecté. *Médecine et maladies infectieuses* N° 37, p : 1-13.

**Teague L. 2005:** Evaluation et traitement des plaies du pied chez les personnes atteintes de diabète. Ligne directrice sur les pratiques exemplaires en soins infirmiers.

**Toumi A., Bernard L. ET Chakroun M. 2011:** Antibiothérapie des infections du pied diabétique .*Revue Tunisienne d'infectiologie*. Vol.5, N° :61-67.

**Valdiguie P., Thierry L. 2000 :** biochimie clinique, chapitre métabolisme du glucide.

**Van Bambeke F., Tulkens P., Glupczynski Y., Leclercq M. ET Sonveaux E. 2008:** pharmacologie et pharmacothérapie Anti-infectieuse. Unité de pharmacologie cellulaire et Moléculaire Université catholique de Louvain. Bruxelles, p : 03.

**Vanbourdolle M. 2007:** infectiologie, 3ème edition Walters's kluwer, p: 347-645.

**Vexiau P., Acker D. 2008:** Diabète et cicatrisation. Cicatrisation. Info. Paris, p : 1-34.

**Vuorisalo., Venermo M. ET Lepantalo M. 2009:** Treatment Of Diabetic Foot Ulcers. *J Cardiovasc Surg* ; 50:275-91.

**Yach D., George A. 2003:** screening for type 2 diabetes, report of a world Health organisation and international diabetes federation meeting, p : 1.

**Yahia Berrouiguet A. 2008:** Les plaies du pied chez le diabétique : Epidémiologie est prise en charge au CHU Tlemcen. *Diabètes & Métabolism*. Volume 34, Supplément 3.

**Yala D., Merad A-S., Mohammedi D. ET Korich M-N. 2000:** résistance bactérienne aux antiotiques.*Médecine du Maghreb*2001 n°91, p : 13.

**Wendakoon C. N. et 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.

# Annexes

## Annexe I

**Tableau 15** : Classification de l'infection des plaies du pied selon le consensus international sur le pied diabétique.

Grade 1	Pas de symptôme, ni de signe d'infection
Grade2	<p>Atteinte cutanée uniquement (sans atteinte des tissus sous-cutanés, ni systémique) avec au moins deux des signes suivants :</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Chaleur locale</li><li>• Erythème supérieur à 0,5-2 cm autour de l'ulcère</li><li>• Sensibilité locale ou douleur</li><li>• Tuméfaction locale ou induration</li><li>• Décharge purulente (sécrétion épaisse, opaque à blanchâtre Ou sanguinolente)</li></ul> <p>Les autres causes de réaction inflammatoire de la peau doivent être éliminées (par exemple: traumatisme, goutte, pied de charcot aigu, fracture, thrombose, stase veineuse)</p>
Grade3	<p>Erythème supérieur à 2cm et une des constatations décrites ci-dessus ou Infection atteignant les structures au-delà de la peau et du tissu sous-cutané, comme un abcès profond, une lymphangite, une ostéite, une arthrite septique ou une fasciite.</p> <p>Il ne doit pas y avoir de réponse inflammatoire systémique</p>
Grade 4	<p>Quelle que soit l'infection locale, si présence de signes systémiques manifestés par au moins deux des caractéristiques suivantes :</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Température &gt; 38°C ou &lt;36°C</li><li>• Fréquence cardiaque supérieur à 90 battements/min</li><li>• Fréquence respiratoire supérieur à 20 cycles/min</li><li>• leucocytes &gt;12000 ou &lt;4000/mm<sup>3</sup></li><li>• 10% de formes leucocytaires immatures</li></ul>

(Stahl et al., 2007).

## Annexe I

**Tableau 16 :** Principales familles d'antibiotiques et leur mode d'action.

Familles antibiotiques	Mécanismes
<b>Antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi bactérienne</b>	
<b>Beta-lactamines</b> Pénicillines Céphalosporines Carbapénèmes Mono lactames	Elles ont une fortes affinité pour des protéines appelant PLP qui sont des enzymes responsable de la réticulation de peptidoglycane, constituant essentiel de la paroi bactérienne en se fixant sur celle-ci elles inhibent le mécanisme enzymatique, ce qui arrête la synthèse de la paroi et des lors, la multiplication de la bactérie concerne surtout les BGN <b>(Pebert, 2003)</b> .
<b>Glycopeptides</b> Vancomycines Teicoplanines	Elle inhibe la synthèse du paroi bactérienne par blocage de la glycopeptides synthétase. Elles ont un effet bactéricide mais n'agissent que sur les germes a Gram+, surtout les Staphylocoque <b>(Begue et Astruc, 1999 ; kayser et al., 2008 ; Reychler, 2008)</b> .
<b>Fosfomycines</b>	Elle est un antibiotique naturel (dérive d'acide phosphorique) dont la structure chimique na aucune parenté avec les autres agents antimicrobiens. Elle pénètre dans la bactérie grâce à un système du transport glycérophosphate. Elle inhibe la pyruvyl-transférase, enzyme qui catalyse la synthèse de l'UDP muramyl-pentapeptide matériau de base de peptidoglycane de la paroi bactérienne <b>(Bustany et Riffaud, 1993)</b> .
<b>Antibiotique actif sur les membranes</b>	
<b>Polymyxines</b> <b>Polymyxines E</b> <b>Colistines</b>	Ce sont des polypeptides, qui ont des substances basiques possèdent une structure cyclique et acides gras. Elles se fixent sur la membrane bactérienne (en particulier la membrane externe des BGN) et les désorganisent <b>(Ndiaye, 2005)</b> .
<b>Antibiotiques inhibant la synthèse protéique</b>	
<b>Aminosides</b> Amikacines Gentamycine Tobramycines	Fixation sur la sous unité 30S de ribosome à concentration thérapeutique : inhibent de l'élongation de la chaîne peptidique en bloquant le complexe d'initiations bactéricides <b>(Laving, 2007)</b> .
<b>Tétracyclines</b>	la structure de base de tétracyclines comprend quatre noyaux cyclique accolés ils sont des antibiotiques essentiellement bactériostatique, ils se fixent de façon réversible sur la sous unité 30S de ribosome bactérien. Dans une position qui bloque la fixation de l'ARN, sur le site accepteur de complexe ARNm-ribosome <b>(Page et al., 1999)</b> .

## Annexe I

<b>MACROLIDES</b> Erythroycines Clindamycines Pristinamycines	Les macrolides présentent un grand noyau lactose auquel se fixent des sucres. Ces molécules interfèrent avec la synthèse protéique des bactéries en se fixant sur une sous-unité de ribosome 50S responsable du fonctionnement normal de la synthèse protéique. Ils sont efficaces sur les bactéries à Gram –positif aéro-anaérobie et sont peu ou pas actifs sur les bactéries à Gram négatif ( <b>Féki et al., 2007</b> ).
<b>Phénicoles</b> Chlomphénicol Thiamphénicol	Ces antibiotiques essentiellement bactériostatiques, ils agissent en se fixant sur la sous-unité 50S de ribosome bactérien. Deux effets sont observés : inhibition de l'ARNm sur le ribosome en blocage de peptidyl-transférase (inhibition de l'élongation de la chaîne peptidique) ( <b>Bostany et Riffaud, 1993</b> ).
<b>Antibiotiques inhibant la synthèse ou la fonction de l'ADN</b>	
<b>Rifamycines</b> Rifampicines Rifapentines Rifabutines	Les Rifamycines inhibent la synthèse de l'ARN en se fixant sur l'ARN polymérase dépendant de l'ADN. Elles sont bactéricides. ( <b>Page et al., 1999</b> ).
<b>Quinolones</b> Fluoroquinolones Acide nalidixique	Inhibent une enzyme bactérienne en occurrence d'ADN gyrase, laquelle catalyse l'enroulement en super hélice de l'ADN chromosomique, la réplication et la transcription sont bloqués. Les quinolones sont actives contre les BGN ( <b>Graham, 2002</b> ).
<b>Nitro-imidazoles</b>	Cette famille possède comme un point commun un noyau de base, le 5-nitro-imidazole avec différentes substitutions. Les imidazoles ont une activité bactéricide sur la flore anaérobie par réduction du groupement nitro par des nitro-réductases bactériennes. Il résulte la production de radicaux libres cytotoxiques pour l'ADN bactérien ( <b>Féki et al., 2006</b> ).

## Annexe II

**Tableau 17 :** Tableau de la lecture de la galerie miniaturisée Api20E.

<b>Tableau de la lecture de la galerie miniaturisée Api 20<sup>E</sup></b>				
<b>Tests</b>	<b>Substrat</b>	<b>Caractère recherché</b>	<b>Résultats</b>	
			<b>Négatif</b>	<b>Positif</b>
<b>ONPG</b>	Ortho-nitro-phenyl-galactosidase	Beta-galactosidase	Incolore	Jaune
<b>ADH</b>	Arginine	Arginine dé hydrolase	Jaune	Rouge/orange
<b>LDC</b>	Lysine	Lysine décarboxylase		
<b>ODC</b>	Ornithine	Ornithine décarboxylase		
<b>CIT</b>	Citrate de sodium	Utilisation de citrate	Vert pale /jaune	Bleu-vert/vert
<b>H2S</b>	Thiosulfate de sodium	Production de H2S	Incolore/grisâtre	Dépôt noir
<b>URE</b>	Urée	uréase	Jaune	Rouge/orange
<b>TDA</b>	Tryptophane	Tryptophane désaminase	Réactif TDA	
			Jaune	Marron foncé
<b>IND</b>	Tryptophane	Production d indole	Réactif de KOVACS	
			Jaune	Anneau rouge
<b>VP</b>	Pyruvate de sodium	Production d'acétoine	VP1+VP2/10min	
			Incolore	Rose/Rouge
<b>GEL</b>	Gélatine de Kohn	Gélatinase	Non diffusion	Diffusion de pigment noir
<b>GLU</b>	Glucose	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>MAN</b>	Mannitol			
<b>INO</b>	Inositol			
<b>SOR</b>	Sorbitol			
<b>RHA</b>	Rhamanose			
<b>SAC</b>	Saccharose			
<b>MEL</b>	Melibiose			
<b>AMY</b>	Amyglaline			
<b>ARA</b>	Arabinose			

Noter sur la fiche de résultat toutes les réactions spontanées puis révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs :

Test TDA, 1goutte de réactif TDA

Test IND, 1 goutte de réactif Kovacs

## Annexe II

---

Test VP, 1 goutte de réactifs VP1 et VP2.

L'identification est obtenue à partir du profil numérique. Sur la fiche de résultat, les tests sont séparés par groupes de trois et une valeur 1, 2 ou 4 est indiquée pour chacun. La galerie API20E comportant 20 tests, en additionnant à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondant à des réactions positives. On obtient 7 chiffres, la réaction d'oxydase qui constitue le 21<sup>ème</sup> test est affectée de la valeur 4 lorsqu'elle est positive.

L'identification est réalisée à partir de la base de données :

A l'aide d'un catalogue analytique : rechercher le profil numérique dans la liste des profils.

Lecture : A l'aide du logiciel d'identification api web <sup>TM</sup> : Entrer manuellement au clavier le profil numérique à 7 chiffres. Par ailleurs dans certains cas, le profil à 7 chiffres étant insuffisamment discriminant, autres tests complémentaires sont nécessaires exemple : la Réduction de nitrate en nitrite (NO<sub>2</sub>) et en Azote (N<sub>2</sub>) par l'ajout d'une goutte des réactifs NI1, NI2 dans le tube GLU (**Brooks et al., 1974**).



## Annexe II

**Tableau 18 :** Liste des antibiotiques utilisés au cours de notre stage.

Entérobactéries		Pseudomonas		Streptocoques		Staphylocoques	
Charge de disque	ATB	Charge de disque	ATB	Charge de disque	ATB	Charge de disque	ATB
AMC 10 µg	Amoxicilline +Ac clavulanique	TIC 10 µg	Ticarcilline	P 10 µg	Pénicilline	P 10 µg	Pénicilline
AM 10 µg	Amoxicilline	CIP	Ciprofloxacine	AMP 10 µg	Ampicilline	OX 1 µg	Oxacilline
CN 10 µg	Gentamycine	PIP	Pipracilline	GN 10µg	Gentamycine	FOX	
C	Chloramphénic ole	TCC	Ticarcilline+Ac clavulanique	E	Erythromycine	K 30µg	Kanamycine
SXT	Triméthoprime +sulfamides	GN 10µg	Gentamycine	CD 2µg	Clindamycine	CN 10µg	Gentamycine
IMP 10µg	Imipenème	IMP 10µg	Imipenème	VA 30µg	Vancomycine	TE 30µg	Tétracycline
Cs 25µg	colistine	NET	Netilmicine	TE	Tétracycline	PT 15µg	Pristinamycine
OFX 5µg	Ofloxacin	CAZ 10µg	Ceftazidime	RIF	Rifampicine	E	Erythromycine
NA	Acide nalidixique	ATM	Aztreonam	LEV 15µg	Levofloxacin	VA 30µg	Vancomycine
FOX	céfoxitine	TOB 10µg	Tobramycine	SXT 25 µg	Triméthoprime +sulfamides	FA	Acide fusidique
CZ 30µg	céfazoline	CZ 30µg	céfazoline	C 30µg	Chloramphénico le	CD 2µg	Clindamycine
CTX 30µg	céfotaxime					TEICO	Teicoplanine
						SXT 25µg	Triméthoprime + sulfamides
						Rif 5 µg	Rifampicine

## Annexe II

**Tableau 19 :** Les valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour les Entérobactéries :

Antibiotiques testés	Signes	Charge des Disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)		
			R	I	S	R	I	S
<b>B-Lactamines</b>								
Ampicilline	AM	10µg	≤ 13	14 – 16	≥ 17	≥ 32	16	≤ 8
Amoxicilline +Ac.clavulanique	AMC	20/10 µg	≤ 13	14 – 17	≥ 18	≥ 32/16	16/8	≤ 8/4
Céfazoline	CZ	30µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23	≥ 8	4	≤ 2
Cefoxitine	FOX	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Céfotaxime	CTX	30µg	≤ 22	23 – 25	≥ 26	≥ 4	2	≤ 1
Ceftriaxone	CRO	30µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1
Imipénème	IMP	10µg	≤ 19	20 - 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1
<b>Aminosides</b>								
Amikacine	AK	30µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16
Gentamicine	GM	10µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4
<b>Quinolones</b>								
Ofloxacine	OFX	5 µg	≤ 12	13-15	≥ 16	≥ 8	....	≤ 2
Ciprofloxacine	CIP	5 µg	≤ 15	16-20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1
<b>Autres</b>								
Chloramphénicol	C	30µg	≤ 12	13 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Furanes	FT	300µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 128	64	≤ 32
Fosfomycine	FOS	200µg	≤ 12	13 – 15	≥ 16	≥ 256	128	≤ 64
Acide nalidixique	NA	30µg	≤ 13	14 – 18	≥ 19	≥ 32	.....	≤ 16
Triméthoprime+Sulfaméthoxazole1	SXT	1.25/2 3.75µg	≤ 10	11 – 15	≥ 16	≥ 4/76	.....	≤ 2/38

## Annexe II

**Tableau 20 :** Les valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *P.aeruginosa* et *Acinetobacter* sp :

Antibiotiques testés	Signes	Charge des Disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)	
			R	I	S	R	S
<b>B-Lactamines</b>							
<b>Ticarcilline</b>	<b>75µg</b>						
<i>P.aeruginosa</i>			≤14	-----	≥15	≥128	≤64
Acinetobacter sp			≤14	15-19	≥20	≥128	≤16
<b>Ticarcilline + ac.clavulanique</b>	<b>TCC</b>	<b>75 /10µg</b>					
<i>P.aeruginosa</i>			≤14	-----	≥15	≥128/2	≤64/2
Acinetobacter sp			≤14	15-19	≥20	≥128/2	≤16/2
<b>Pipéracilline</b>	<b>PIP</b>	<b>100 µg</b>					
<i>P.aeruginosa</i>			≤17	-----	≥18	≥128	≤64
Acinetobacter			≤17	18-20	≥21	≥128	≤16
<b>Ceftadime</b>	<b>CAZ</b>	<b>30 µg</b>					
<i>P.aeruginosa</i>			≤14	15-17	≥18	≥32	≤8
<b>Aztreonam</b>	<b>ATM</b>	<b>10 µg</b>					
<i>P.aeruginosa</i>			≤15	16-21	≥22	≥32	≤8
<b>Imipeneme</b>	<b>IMP</b>	<b>10 µg</b>					
<i>P.aeruginosa</i>			≤13	14-15	≥16	≥16	≤4
<b>Aminosides</b>							
<b>Amikacine</b>	<b>AK</b>	<b>30 µg</b>					
<i>P.aeruginosa</i>			≤14	15-16	≥17	≥32	≤16
<b>Gentamicine</b>	<b>GN</b>	<b>10 µg</b>					
<i>P.aeruginosa</i>			≤12	13-14	≥15	≥8	≤4
<b>Tobramycine</b>	<b>TM</b>	<b>10 µg</b>					
<i>P.aeruginosa</i>			≤12	13-14	≥15	≥8	≤4
<b>Quinolones</b>							
<b>Ciprofloxacine</b>	<b>CIP</b>	<b>5 µg</b>					
<i>P.aeruginosa</i>			≤15	16-20	≥21	≥4	≤1
<b>Tetracyclines</b>							
<b>Tétracycline</b>	<b>TE</b>	<b>30 µg</b>					
<i>P.aeruginosa</i>			≤15	15-18	≥19	≥16	≤4
<b>Autres</b>							
<b>Trimethoprime/ Sulfamethoxazole</b>	<b>SXT</b>	<b>1.25/23.7 5µg</b>					
<i>P.aeruginosa</i>			≤10	11-15	≥16	≥8/152	≤2/38
<b>Chloramphénicol</b>	<b>C</b>	<b>30 µg</b>					
<i>P.aeruginosa</i>			≤12	13-17	≥18	≥32	≤8
<b>Rifampicine</b>	<b>RIF</b>	<b>30 µg</b>					
<i>P.aeruginosa</i>			≤14	14-18	≥19	≥16	≤4
<b>Fosfomycine</b>	<b>FOS</b>	<b>50 µg</b>					
<i>P.aeruginosa</i>			≤14	-----	≥14	≥32	≤32

## Annexe II

**Tableau 21** : Les valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Staphylococcus sp* (*S. aureus*) :

Antibiotiques testés	Signes	Charge des Disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)	
			R	I	S	R	S
<b>β-Lactamines</b>							
Pénicilline	P	10 UI	≤28	-----	≥29	≥0,25	≤0,12
Oxacilline	OX	1 µg	≤ 10	11 – 12	≥13	≥4	≤2
Céfoxitine	FOX	30 µg	≤21	-----	≥22	≥8	≤4
<b>Aminosides</b>							
Gentamicine	GM	10 µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 16	≤4
Kanamycine	K	30 µg	≤ 13	14 – 17	≥18	≥64	≤16
Amikacine	AK	30 µg	≤ 14	15 – 16	≥17	≥64	≤16
<b>Macrolides</b>							
Erythromycine	E	15 µg	≤13	14 – 22	≥23	≥8	≤0,5
Clindamycine	CM	2µg	≤14	15-20	≥21	≥4	≤0,5
<b>Glycopeptides</b>							
Vancomycine	VA	30 µg	-----	-----	≥15	≥32	≤4
Teicoplanine	TIC	30 µg	≤10	11-13	≥14	≥32	≤8
<b>Quinolones</b>							
Ofloxacine	OFX	5µg	≤14	15-17	≥18	≥4	≤1
<b>Autres</b>							
Triméthoprim+ sulfaméthoxazole <sup>1</sup>	SXT	1.25/23.7 5µg	≤10	11-15	≥16	≥4/76	≤2/38
Rifampicine	RIF	5µg	≤16	17-19	≥20	≥4	≤1
Tétracycline	TE	30µg	≤14	15 – 18	≥19	≥16	≤4
Chloramphénicol	C	30µg	≤12	13 – 17	≥18	≥32	≤8
Pristinamycine	PT	15 µg	≤19	19 – 21	≥22	≥2	≤1
Acide fusidique	FA	10 µg	≤24	-----	≥24	≥1	≤1
Fosfomycine**	FOS	50 µg	≤14	-----	≥14	≥32	≤32

## Annexe II

ETABLISSEMENT PUBLIC HOSPITALIER-BLID

Service Laboratoire Centrale  
Unité de microbiologie médicale

**FICHE DE RENSEIGNEMENT**

Nom : ..... N° de prélèvement : .....

Prénom : ..... Nature du prélèvement : .....

Age : ..... Date de prélèvement : .....

Service : ..... Heure : .....

Date d'hospitalisation : .....

Symptomatologie : ..... Diagnostic retenu : .....

.....

.....

Traitement reçu et durée : ..... Observation :

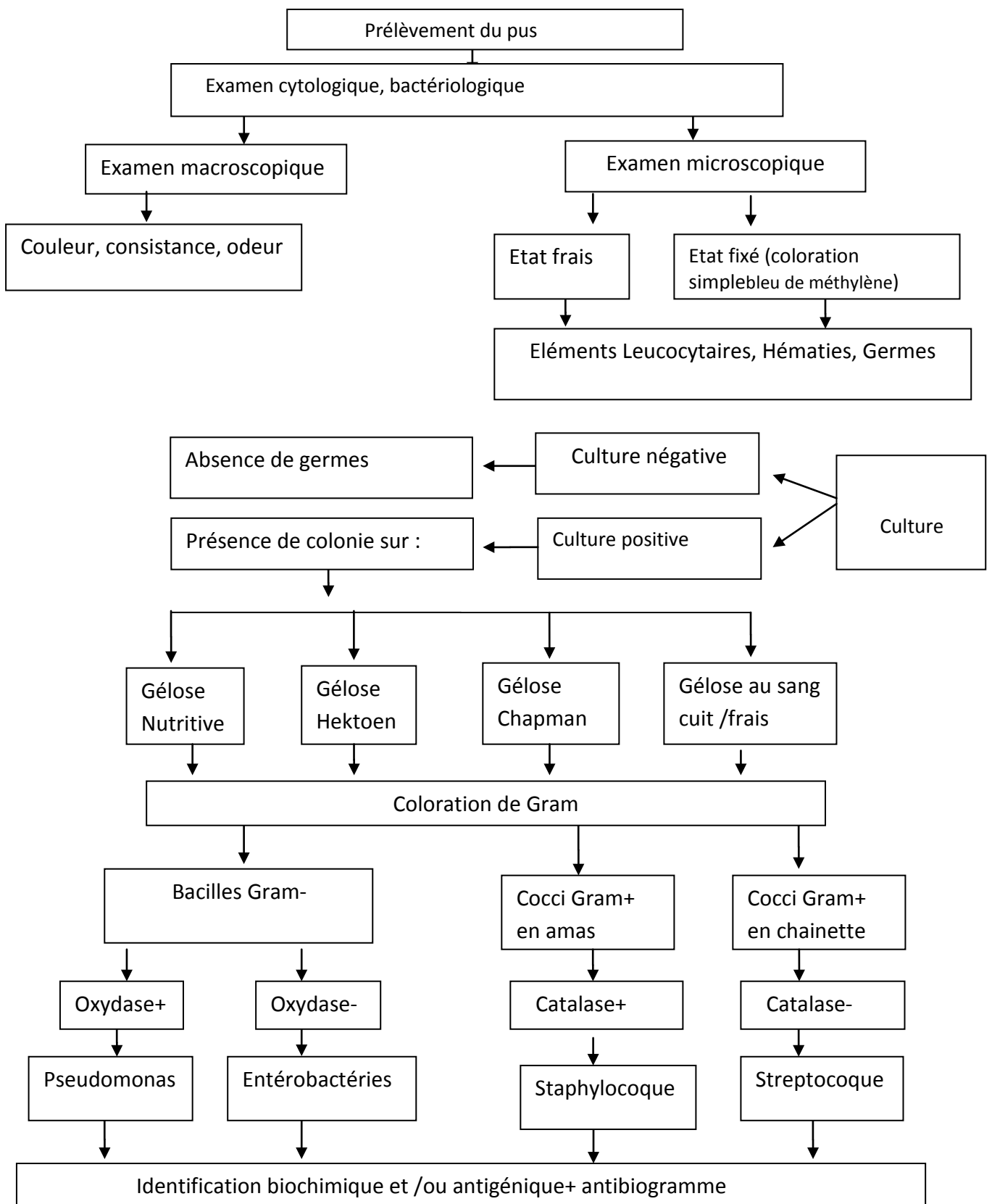
.....

.....

Médecin traitant :

**Figure 26** : Fiche de renseignement.

## Annexe II

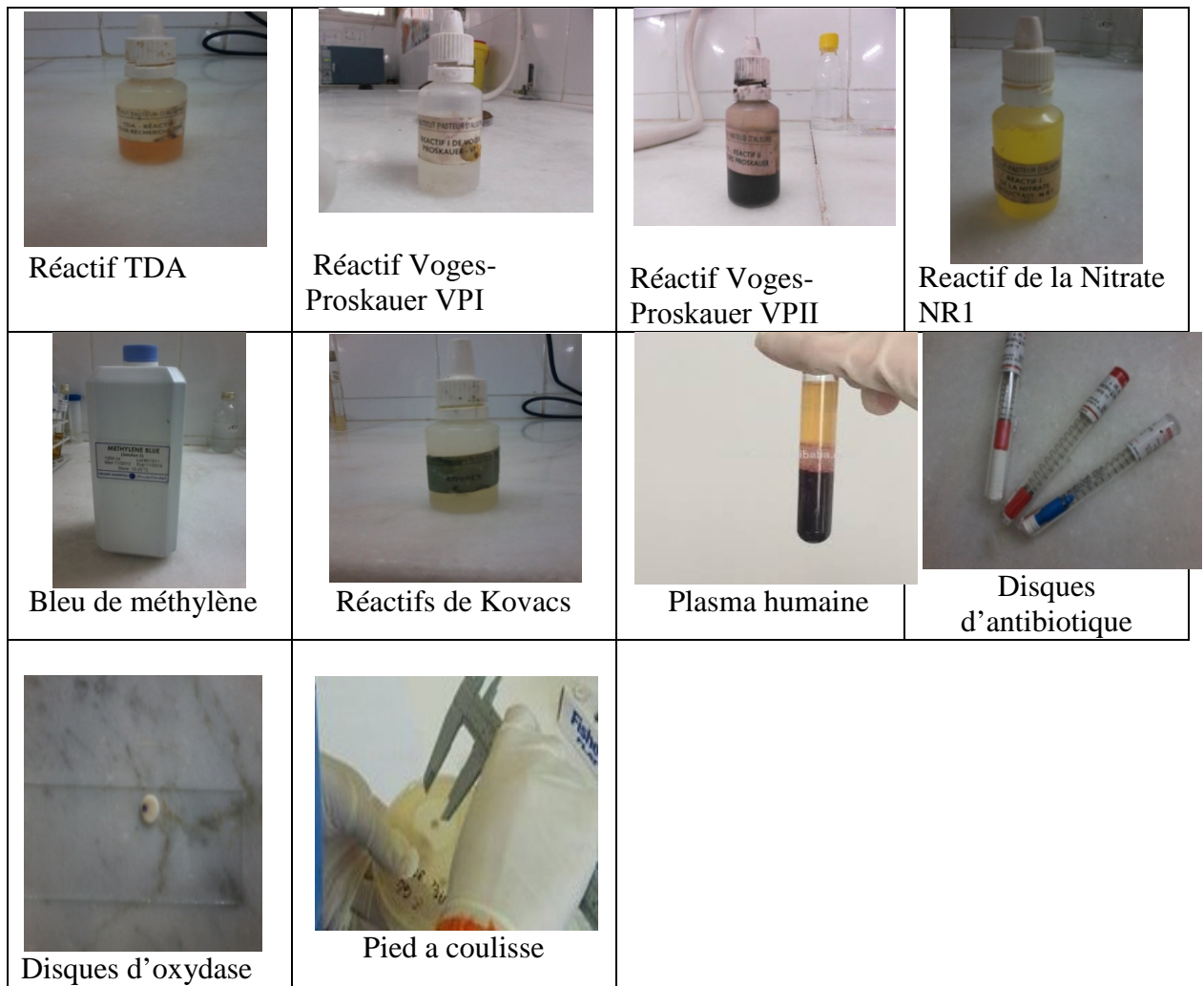


**Figure 27** : Diagramme de l'examen cyto-bactériologique de pus.

## Annexe II

Appareillage, verreries, réactifs et solutions.			
			
Buns en Bec	Etuve d'incubation à 37c°	Microscope optique	Ecouvillons stériles
			
Pipettes Pasteur stériles	Distributeur d'antibiotiques	Boîtes de Pétri	Jarre d'anaérobiose
			
Pince métallique	Anse de platine	Ap20E	Lames et lamelles
			
Eau physiologique stérile à 0,9%	L'huile de Vaseline	Eau de Javel	Eau oxygéné
			
Alcool a 95° c	Violet de Gentiane	Fuschine	Lugol

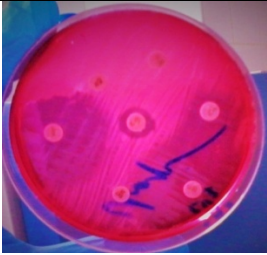
## Annexe II



**Figure 28** : Appareillage, verreries, réactifs et solutions.



## Annexe II

Milieux			
Milieux d'isolement	   	 	 
	Gélose Hektoen	Gélose Chapmen	Gélose nutritive Gélose au sang frais
Milieu d'enrichissement			
	Milieu bouillon glucosé tomponné (BGT)	Milieu bouillon cœur cerveau (BHIB)	
Milieu d'antibiogramme			
	Gélose Muller Hinton	Gélose Muller Hinton+Sang	

## Annexe II

Milieux d'identification		
 <p>Citrate de Simmons</p>	 <p>Virage de l'indicateur de pH au bleu : il y a eu alcalinisation du milieu et la souche est citrate de Simmons +.</p>	Recherche de citrate comme seule source de carbone
 <p>Mannitol mobilité</p>	 <p>milieu jaune orangé : Mannitol + La mobilité : Les bactéries très mobiles peuvent se déplacer dans la gélose molle</p>	Recherche du :  Mannitol  Mobilité
 <p>TSI((Triple Sugar Iron)</p>	 <p>-culot jaune et pente rouge. -culot et pente jaune. -Gaz(+) : bulle(s) de gaz, milieu complètement séparé ou soulevé. -H<sub>2</sub>S(+) : noircissement</p>	Recherche : -Fermentation du glucose seulement. -Fermentation du glucose et un des deux autres sucres (lactose ou saccharose)  -Production de gaz.  - Production de H <sub>2</sub> S

**Figure 29** : Les principaux milieux de culture utilisés.

### Annexe III

**Tableau 22 :** Répartition globale des germes identifiés.

Germes isolés	Nombre	Pourcentage
<i>Proteus sp</i>	11	12.35
<i>Proteus mirabilis</i>	6	6.74
<i>Proteus penneri</i>	2	2.24
<i>Esherichia coli</i>	7	7.86
<i>Enterobacter cloaceae</i>	3	3.37
<i>Enterobacter sakazakii</i>	2	2.24
<i>Klebsiella Pneumoniae</i>	6	6.74
<i>Klebsiella ornitholytica</i>	2	2.24
<i>Morganella morganii</i>	7	7.86
<i>Serratia odorifera</i>	3	3.37
<i>P.aeruginosa</i>	6	6.74
<i>Pseudomonas sp</i>	4	4.49
<i>Flavimonashoryzihabitans</i>	1	1.12
<i>Sraphylococcus aureus</i>	25	28.08
<i>Streptococcus sp</i>	3	3.37

**Tableau 23 :** Profil de l'antibiorésistance chez les Entérobactéries.

Antibiotiques	Sensible	Résistante
AMC	38,77	61,22
AM	46,93	53,06
CN	61,22	38,77
C	71,42	28,57
SXT	71,42	28,57
IMP	73,46	26,53
CS	63,26	36,73
CTX	46,93	53,06
OFX	71,42	28,57
NA	81,63	18,36
FOX	69,38	30,61
CZ	38,77	61,22

### Annexe III

---

**Tableau 24 :** Profil de l'antibiorésistance chez les souches de *Pseudomonas*.

Antibiotiques	Sensible	Résistante
TIC	18,18	81,81
PIP	27,27	72,72
CIP	18,18	81,81
TCC	27,27	72,72
GN	81,81	18,18
IMP	36,36	63,63
NET	18,18	81,81
CAZ	27,27	72,72
ATM	27,27	72,72
TOB	18,18	81,81

**Tableau 25 :** Profil de l'antibiorésistance chez les souches de *proteus sp.*

Antibiotiques	Sensible	Résistante
AMC	52,63	47,36
GN	73,68	26,31
IMP	84,21	15,78
CZ	26,31	73,68
CS	26,31	73,68
CTX	68,42	51,57
OFX	73,68	26,31
SXT	73,68	26,31
AN	68,42	51,57

### Annexe III

**Tableau 26 :** Profil résultats de l'antibiorésistance chez les souches *Escherichia coli*.

Antibiotiques	Sensible (%)	Résistante (%)
AMC	28,57	71,42
AM	14,28	85,71
CN	57,14	42,85
C	57,14	42,85
SXT	57,14	42,85
IMP	85,71	14,28
CS	85,71	14,28
CTX	42,85	85,71
OFX	85,71	42,85
NA	71,42	28,57
FOX	71,42	28,57

**Tableau 27 :** Profil l'antibiorésistance chez les souches de *Klebsiella*.

Antibiotiques	Sensible	Résistante
AMC	12,5	87,5
AM	50	50
GN	75	25
AK	62 ,5	37,5
IMP	75	25
C	37,5	62,5
SXT	62,5	37,5
CTX	50	50
OFX	62,5	37,5
CS	50	50
CZ	25	75

### Annexe III

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

Antibiotiques	Sensible	Résistante
AMC	14,28	85,71
CN	14,28	85,71
SXT	14,28	85,71
AN	71,42	28,57
IMP	85,71	14,28
CTX	71,42	28,57
OFX	51,14	42,85
CS	14,28	85,71
CIP	14,28	85,71
CZ	28,57	71,42

**Tableau 29 :** Profil de l'antibiorésistance chez les souches des *staphylococcus aureus*.

Antibiotiques	Sensible	Résistante
P	12	88
Ox	64	36
Fox	68	32
K	76	24
CN	52	48
TE	28	72
PT	92	8
E	56	44
VA	68	32
FA	60	40
CD	60	40
TEICO	44	56
SXT	56	44
RIF	56	44
C	88	12

### Annexe III

**Tableau 30 :** Profil de l'antibiorésistance chez les souches des MRSA.

Antibiotiques	Sensible		Résistante	
	nombre	Pourcentage (%)	nombre	Pourcentage (%)
P	0	0	9	100
K	2	22,22	7	77,77
GN	5	55,55	4	44,44
VA	5	55,55	4	44,44
TEICO	4	44,44	5	55,55
RIF	7	77,77	2	22,22
FA	1	11,11	8	88,89
SXT	8	88,89	1	11,11
OX	0	0	9	100
FOX	0	0	9	100
E	8	88,89	1	11,11
CD	6	66,66	3	33,33
PT	8	88,89	1	11,11

**Tableau 31 :** Profil de l'antibiorésistance chez les souches des *streptococcus*.

Antibiotiques	Sensible	Résistante
P	66,67	33,33
AMP	100	0
CN	33,33	66,67
E	66,67	33,33
CD	66,67	33,33
VA	100	0
TE	33,33	66,67
RIF	66,67	33,33
LEV	100	0
C	100	0
SXT	66,67	33,33