

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE BLIDA -1-

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE CELLULAIRE



Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de
Master II en biologie
Option : Microbiologie - Bactériologie

Thème

L'étude cyto bactériologique de pus chez les diabétiques

Présenté par :

Soutenu le : 18-12-2014

M^{me} : AGGOUN Meriem

Devant le jury composé de :

M^r : Ben yahia : Maitre assistant classe A USDB présidente

M^{me} Makhalouf : Maitre assistante classe B USDB Examinatrice

M^{me} Mohammed Mahmoud. F : Maitre assistante classe A USDB promotrice

Promotion : 2013 - 2014

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au niveau d'EPH Ibrahim Tirichine Blida.

Je tiens à remercier, madame la Promotrice, Mohamed Mahmoud Fadhila maitre assistante de classe A à l'Université de Blida 1, pour avoir accepté d'encadrer mon travail, pour sa rigueur scientifique, pour son assistance bien matérielle que morale, pour son aide et son soutien..

Mes remerciements s'adressent également à

M^r Ben yahia., maitre assistant de classe A à l'Université de Blida 1 qui a honoré ce travail en acceptant de présider le jury. je l'en remercie profondément.

M^{me} Makhlouf ., Maitre assistante de Classe B à l'Université de Blida 1m'a fait l'honneur de participer à ce jury et d'examiner ce travail.

Tout le personnel d'unité bactériologie du laboratoire central D'EPH Blida

Mes remerciements ne seraient pas complets sans associer toutes les personnes ayant contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

DEDICACE

Avec l'aide de Dieu le tout puissant est achevé ce modeste travail que je dédie :

La lumière de ma vie, mes très chers parents lui ont toujours été à mes côtés, qui m'ont soutenue et encouragé, et qui sans leurs amours, leurs compréhensions, leurs conseils et leurs tolérances je n'aurais jamais pu atteindre mes objectifs.

Papa, Maman je vous dis merci, et que Dieu vous protège pour nous.

A Mon mari Tayeb : mon support, qui a sacrifié pour moi et qui est la cause d'allumer la bougie de mon avenir.

A mes chers frères : YUCEF et WAIL

A mes sœurs : ZHOR, HADJAR et son mari HASSAN

A mes petits papillons que j'aime beaucoup : RAHIL, ABD RAHMAN

Ma grand-mère que j'aime énormément DIEU la protégé

A ma belle Mère et mes belles sœurs et mes beaux frères

Tous mes oncles et mes tantes

A tous les étudiants de biologie surtout l'option

Microbiologie bactériologie.

A tous ceux que j'aime et m'aiment je dédie ce mémoire que j'espère être à la hauteur de leurs espérance à moi.

Meriem

Abréviations

API : Analytique profil index.

ATB : Antibiotique.

DID : Diabète insulino-dépendant.

DNID : Diabète non insulino-dépendant.

ECB de pus : Etude cyto bactériologique de pus.

GN : Gélose Nutritive

GSC : Gélose au sang cuit

GSF : Gélose au sang frais

H₂O₂ : Eau oxygénée.

H₂S : Acide sulfhydrique.

LDC : Lysine décarboxylase.

MH : Gélose Muller-hinton.

ODC : Ornithine décarboxylase.

RM : Rouge de méthyle.

TDA : Tryptophane désaminase.

TSI : Tri sugar iron.

VP : Voges proskauer.

Glossaire

Acidocétose : Accumulation de corps cétonique dans le sang.

Aigue : C'est la maladie qui survient rapidement, dont les symptômes sont graves et de brève durée : non chronique.

Antibiogramme : Est une technique correspond à la mesure de l'activité in vitro des antibiotiques sur les bactéries.

Antibiothérapie : c'est le traitement par l'antibiotique.

Antibiotique : Agent antimicrobien, en générale produit naturellement par une bactérie ou un champignon.

Cellulite : Inflammation des tissus cellulaires localisée essentiellement sous la peau dans la cuisse.

Coagulation : Transformation du sang liquide en une masse plus ou moins solide.

Coma : Etat morbide caractérisé par la perte de la conscience, de la sensibilité, de la motilité, avec conservation plus ou moins complète des fonctions respiratoires et circulatoires.

Derme : Parti profonde de la peau, située sous l'épiderme, formée de tissu conjonctif et contenant des vaisseaux, des nerfs et les follicules pileux.

Ensemencement : Opérations qui consiste à apporté des bactéries dans un milieu de culture.

Glycémie : Concentration de glucose dans le sérum sanguin (entre 0,8 et 1g/l, à jeun).

Hyperglycémie : Augmentation du taux du glucose dans le sang.

Ilots de langerhans : Groupement de cellules différenciées au sein d'un organe (pancréas).

Immunodéficiencie : Déficiencie des défenses immunitaires.

Infection : Développement localisé ou généralisé d'un germe pathogène dans l'organisme.

Insuline : Est une hormone hypoglycémiant qui augmente l'absorption du glucose par les cellules, il produite dans les ilots de Langerhans du pancréas.

Isolement : Ensemencement effectuée dans un bute de séparation de façon à partir des bactéries présente des colonies nettement distincte.

Sommaire

Introduction	1
Chapitre I : synthèse bibliographique	
I. Rappel sur le diabète	2
I.1. Définition	2
I.2. Types de diabète	2
I.3.les Complications du diabète	3
II. Mécanismes de défense d'un organisme contre les bactéries	6
II. 1. Barrières anatomiques	6
II.2. Résistance naturelle	7
II.3. Immunité acquise	7
II.4. Pyogénie	8
II.5. Immunité de patient diabétique	8
III. Le pus	8
III.1. Différents sites d'infection présentant le pus	9
III.2. Principaux germes isolés à partir d'un prélèvement du pus chez les diabétiques. 10	
III.2.1. Cocci à gram positif	10
III.2.1.1. Les staphylocoques	10
III.2.1.2. Les Streptocoque	10
III.2.2. Bacille Gram négatif	11
III.2.2.1. Entérobactéries	11
III.2.2.2. Les pseudomonas	14
III.2.2.3. Acinetobactere	14
III.2.2.4. Neisseria	14
IV. Antibiotiques et antibiorésistance	14
IV.1. Les antibiotiques :	14

IV.1.1	Définition	15
IV.1.2.	Choix d'antibiotique	15
IV.1.3.	Mode d'action	15
IV.1.4.	Spectre d'action	15
IV.1.5.	Classification des antibiotiques	15
IV.1.5.	Les principales familles d'antibiotiques	16
IV.2.	La résistance des bactéries aux antibiotiques	20
IV.2.1.	Définition.....	20
IV.2.2.	Type de la résistance bactérienne	20
IV.2.3.	Mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques	21
Chapitre II :	Matériels et Méthodes.....	22
1. Matériels		22
I .1.	Matériels biologiques.....	22
I .2.	Matériels non biologiques	22
II. Méthodes		22
II. 1.	Prélèvement.....	22
II.2.	Technique de prélèvement	22
II.3.	fiche de renseignement	23
II.4.	Examen cyto bactériologique de pus	23
ChapitreIII :	Résultats et discussion	39
Résultats et discussion		39
Conclusion		
Références Bibliographiques		
Annexes		

Liste des tableaux

N° Ordre	Intitulé	
1	les principales classes d'Antibiotiques en fonction de leur mode d'action	Annexe I
2	Classification et spectre d'activité des β lactamine	P : 17
3	principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques	Annexe I
4	Appareillages, Verreries, Réactifs et solution	Annexe II
5	Les milieux de culture	Annexe II
6	Compositions des principaux milieux de culture utilisés	Annexe II
7	Composition des différentes solutions utilisées	Annexe II
8	Composition des principaux réactifs utilisés	Annexe II
9	caractères biochimiques des bacilles à Gram négatifs	Annexe III
10	Répartition des prélèvements de pus positifs et négatifs chez les diabétiques.	P :39
11	Répartition des prélèvements en fonction de sexe	P :40
12	Répartition des prélèvements en fonction de l'âge	P :42
13	Répartition des prélèvements du pus des diabétiques hospitalisés et non hospitalisés.	P :43
14	Répartition des prélèvements en fonction de type de diabète	P :45
15	Nombre et pourcentage des germes identifiés dans les cultures positives	P :47
16	Répartition des germes isolés selon la nature des prélèvements	P :48
17	Répartition des germes isolés selon les patients hospitalisés et non hospitalisé	P :49
18	Les milieux de galerie classique des <i>Entérobactéries</i>	Annexe IV

Résumé

Le diabète affaiblit les défenses naturelles humaines et constitue ainsi un candidat potentiel aux infections d'origines microbiennes. Celle-ci vont conduire suite à une blessure la formation de pus au niveau des pieds. La recherche et l'identification des germes responsable de ces infections, ont été effectuées à l'aide d'un examen cyto bactériologique de pus des patients diabétiques au niveau l'Etablissement public hospitalier Ibrahim Trichine Blida. Nous avons collecté **51** prélèvements du pus au niveau de pied des patients diabétiques hospitalisés (**40 patients**) et non hospitalisés (**11 patients**). Les résultats montrent que 37 prélèvements sont positifs soit un taux de **72,55%**, le diabète de type II prédomine avec un taux de **74,51%**, la tranche d'âge la plus touchée se situe entre 60 et 70 ans avec un pourcentage de **29,41%**.

Les germes les plus fréquemment isolés sont les Entérobactéries avec un taux de **54,72%** suivi par Staphylococcus aureus avec un pourcentage de **24,52%**.

L'antibiogramme des germes testés montre une forte résistance au β lactamine et une sensibilité de plus part des souches aux Aminosides.

Mots clés :

Diabète, pied diabétiques, examen cyto bactériologique de pus, Entérobactéries, S.aureus

Abstract:

The diabetes weakened human immune system and thus a potential condidat to microbial infections origins . This will lead following a pus formation wound in the foot. Research and identification of responsible germs of these infections were performed using a cyto bacteriological examination of pus diabetic patients at the public hospital Establishment Ibrahim Trichine Blida. We collected 51 samples of pus in the foot of patients hospitalized **(40 patients)** with diabetes and not hospitalized**(11 patients)** . The results showed that 37 samples were positive with a percentage of 72.55 % , the prédominace type II diabetes with a rate of 74.51 % , the most affected age group is between 60and 70 years with a percentage of **29.41%** .

The most frequently isolated bacteria were Enterobacteriaceae with a rate of **54.72 %**, followed by S. aureus with a percentage of **24.52%** .

The susceptibility of the tested germs shows a strong resistance to β -lactam and a sensitivity of most of the strains Aminosides .

Key words:

Diabetes, diabetic foot, cyto bacteriological examination pus, Entérobactéries , S.aureus

Introduction :

Le diabète est la première maladie non transmissible reconnue en 2006 par les Nations Unies comme une menace pour la santé mondiale aussi grave que les épidémies infectieuses telles que la tuberculose, le SIDA et le paludisme (**Bonita et al., 2003**).

Au niveau mondial, la prévalence du diabète a été estimée à 2,8% en 2000 avec projection à 4,4% en 2030, passant de 171 millions de personnes diabétiques en 2000 à 366 millions 2030. De plus, la prévalence de ses complications est en augmentation, et le taux de mortalité est également prévu d'accroître de façon significative (**Park IB, 2011**). Nombreuses sont les complications qui atteignent les diabétiques, comme les maladies cardiovasculaires, l'insuffisance rénale et les problèmes oculaires, mais les complications au niveau des pieds sont parmi les plus fréquentes et redoutées (**Eszter PV et al., 2008**). Et elles constituent un problème majeur dans tous les pays tant sur le plan médical que socio-économique (**Boulton A et al., 2005**). Le pied diabétique est défini comme un pied qui présente des lésions allant des simples phlyctènes, petites plaies aux ulcérations qui peuvent s'infecter, et aussi des lésions détruisant les tissus profonds. Toutes ces lésions sont associées à un désordre neurologique ainsi qu'à une maladie vasculaire du membre inférieur et/ou des complications métaboliques du diabète (**Chand G et al., 2012**). De plus, les ulcérations du pied sont la principale cause d'hospitalisation des patients diabétiques (**Lavigne JP et al., 2011**). L'infection de pied est une invasion des tissus par des micro-organismes. Elle entraîne des dégâts au niveau des tissus pouvant avoir des conséquences graves irréversibles telles qu'une amputation ou une mise en danger du pronostic vital du patient.

La recherche et l'identification des bactéries responsables des infections dans le prélèvement de pus de pied des patients diabétiques sont basées essentiellement sur l'étude cyto bactériologique qui nous permet aussi de préciser leur sensibilité à l'antibiotique. Les Entérobactéries et les bacilles à Gram négatif occupent une place très importante en Pathologie humaine infectieuse et sont parmi les souches les plus fréquemment isolées chez les patients diabétiques hospitalisés (**Baba Ahmed-KaziTani, 2014**).

Le but de notre travail est de réaliser l'examen cyto bactériologique du pus prélevé de pied des patients diabétiques traités au niveau d'EPH Ibrahim Tirichine Blida. Le travail est basé sur :

- La recherche et l'identification des germes pathogènes trouvés dans le pus.
- L'étude de la résistance et la sensibilité des germes identifiés aux antibiotiques.

Notre étude a été réalisée au niveau d'EPH Ibrahim Tirichine Blida durant la période allant de mois février au moins de juin 2014. L'étude a porté sur l'analyse cyto bactériologique de pus prélevés des patients diabétiques dont les buts sont :

- La recherche et l'identification des germes pathogènes trouvés dans le pus.
- L'étude de leurs sensibilités et leurs résistances vis-à-vis des antibiotiques.

I. Matériel :

I.1. Matériel biologique :

Le matériel biologique sur lequel est effectuée l'étude est le pus qui provient de 51 prélèvements, des patients diabétiques hospitalisés (40) patients, et non hospitalisés (11) patients, réparti selon le sexe sur 35 hommes et 16 femmes.

I.2. Matériel non biologique :

Il est représenté par les appareillages, les verreries, les réactifs, les milieux de culture et les antibiotiques qui sont présentées sous forme de disques imprégnés d'antibiotique à une concentration connue, à raison de 50 disques par cartouches. Ces deniers sont conservés à température de (-20C°) (**annexe 2, Tableau n°4 et n°5,6**).

II.Méthodes :

II.1.Prélèvements :

Le succès d'une analyse bactériologique dépend de la réalisation du prélèvement et de la rapidité de transport au laboratoire.

II.1.1.Technique de prélèvement :

- Collection purulente ouverte :

Nous nettoyons bien la zone de prélèvement à l'eau physiologique ensuite nous pressons légèrement sur les bords afin de faire sortir le pus le prélèvement se fait à l'aide d'un écouvillon, en évitant les souillures par les germes de tégument voisins.

- Collection purulente fermé

La peau est soigneusement désinfectée et le prélèvement se fait à la seringue et placé dans un tube stérile.

II.1.2. Fiche de renseignement :

Le prélèvement doit être analysé très rapidement. Tout prélèvement est accompagné d'une fiche de renseignements sur laquelle sont mentionnées les coordonnées du malade (nom, prénom, âge, sexe, le diagnostic chimique (diabète Type1, diabète Type2), les signes cliniques ayant motivé le prélèvement et l'éventuelle antibiothérapie en précisant la nature de l'antibiotique, service clinique dans le cas d'une hospitalisation, médecin traitant ...) . L'écouvillon doit contenir une étiquette qui comporte le nom, le prénom, et le numéro du malade.

II.2.Examen cytobactériologique de pus :

Les étapes de l'examen cytobactériologique sont résumées dans la figure (1)

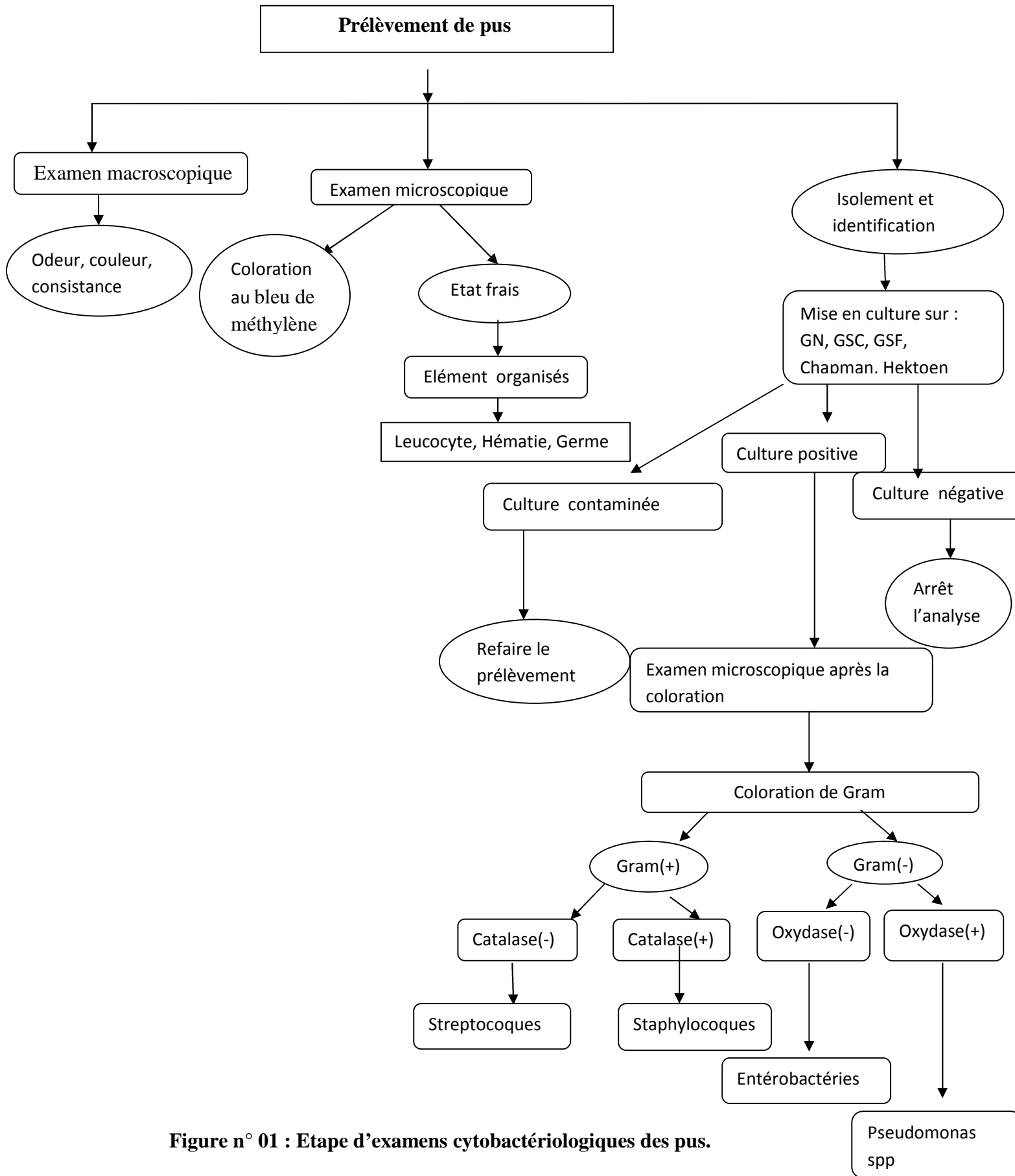


Figure n° 01 : Etape d'examens cyto bactériologiques des pus.

II.2.1 Examen macroscopique :

L'examen à l'œil nu du pus pour donner des informations sur la couleur, la consistance et l'odeur

Selon **Carbonnel et al., 1987** L'aspect de pus est soit :

- Jaune, épais, bien lié : oriente vers les staphylocoques
- Clair, blanchâtre : oriente vers les streptocoques
- Verdâtre d'odeur aromatique oriente vers le bacille pyocyanique

II.2.2.Examen microscopique :

L'examen microscopique est une étape clé dans la démarche de diagnostic des infections bactériennes.

II.2.2.1.: Examen direct à l'état frais :

Les méthodes basées sur la technique de l'état frais correspondent à l'observation d'un matériel biologique ou d'une suspension bactérienne entre lame et lamelle sans fixation préalable du matériel par la chaleur ou l'alcool. L'état frais doit être réalisé rapidement parce que les polynucléaires neutrophiles sont lysés à 32% après 1heure.

Principe :

Cette méthode permet d'observer la morphologie des bactéries ; leur mode de regroupement et leur mobilité.

Technique :

Les écouvillons contenant le pus doivent être additionnés avec 2 à 3ml d'eau physiologique

- On agite le tube contenant le pus.
- On dépose une goutte de prélèvement sur une lame dégraissée par l'alcool.
- On recouvre la lame avec la lamelle puis on observe sous microscope optique à l'objectif x40.

II.2.2.2.Coloration simple (bleu de méthylène) :

Principe :

La coloration de bleu de méthylène permet l'observation de la forme des bactéries (cocci, bacille) et leur disposition (grappe, diplocoque) la nature des leucocytes (lymphocytes, polynucléaires) ainsi que la présence des hématies, et des levures.

Technique :

- On dépose sur une lame propre une goutte d'eau physiologique à l'aide d'une pipette Pasteur stérile.
- Avec l'écouvillon de prélèvement on étale par un mouvement régulier et circulaire.
- On laisse sécher à l'air libre à température ambiante

Coloration :

- On recouvre le frottis avec le colorant (bleu de méthylène)
- On laisse agir 5 à 15 minutes selon la concentration du colorant
- rincer à l'eau de robinet et sécher la lame
- On observe au microscope optique à l'objectif x100 après avoir ajouter l'huile d'immersion sur la lame
- Toutes les éléments apparaissent colorés en bleu

II .2.3.Mise en culture :

On ensemence des stries à l'aide d'une anse à platine boutonnée ou à l'aide d'une pipette Pasteur stérile sur des milieux solides coulés en boîtes de pétri de 90 mm, en utilisant la méthode des quadrants, il faut utiliser des géloses non contaminés et parfaitement sèches, les milieux de cultures sont :

1. Gélose Nutritive (GN) :

Cette gélose est un milieu solide, qui convient à la culture des bactéries qui ne présente pas des exigences particulières.

2. Gélose au sang frais (GSF) :

C'est un milieu d'enrichissement, qui permet la culture de certains germes qui ont l'action hémolytique telle que les streptocoques.

3. Gélose au sang cuit(GSC) :

C'est un milieu d'enrichissement, qui permet en portant le sang à une température voisine de 75°C de neutraliser des inhibiteurs naturels aux quel certaines bactéries peuvent être sensibles, de plus des facteurs de croissance (extrait de levures) sont libérés dans le milieu grâce au chauffage.

4 .Milieu Chapman :

C'est un milieu destiné pour l'isolement des staphylocoques grâce à sa composition au mannitol qui assure le pouvoir sélectif en limitant le développement des staphylocoques.

5. milieu Hektoen

La gélose Hektoen est un milieu sélectif permettant l'isolement et la différenciation des entérobactéries pathogènes à partir des prélèvements biologiques grâce à la présence des sels biliars qui assurent le pouvoir sélectif en limitant le développement des coliformes et *Proteus spp.*

Technique :

- On stérilise la paillasse à l'eau de javel et en allumant le bec Bunsen 10 mm avant l'ensemencement.
- On ensemence le prélèvement dans les milieux de cultures (GN, GSF, GSC, Hektoen, Chapman, et sabouraud chloraphénicol) à l'aide d'une pipette pasteur stérile.
- Après l'ensemencement des boîtes on les incube dans l'étuve à 37°C pendant 24h.
- Pour le milieu Chapman l'incubation peut continuer jusqu'aux 48 heures si les germes ne poussent pas pendant les 24 heures d'incubation.
- La gélose au sang cuit et au sang frais met en atmosphère riche en CO₂ (en anaérobiose) à l'aide d'une jarre vidée de l'oxygène, l'incubation peut aussi continuer jusqu'aux 48 heures.
- Après l'incubation on observe des colonies bactériennes dans les milieux de culture qui oriente vers les testes d'identification.

II.2.4. Identification :**II .2.4. 1. Coloration de Gram (double coloration) :**

La coloration double ou coloration de Gram est qualifiée de coloration différentielle car elle permet dès le début de l'examen bactériologique, de cataloguer les bactéries en deux groupes distincts basés sur des propriétés de coloration : les Gram positifs et les Gram négatifs.

Principe :

Cette coloration permet une meilleure appréciation de l'aspect morphologique des bactéries et leur mode de regroupement, la coloration différentielle de Gram repose sur la composition des parois bactériennes en protéines et en lipides.

Technique :

La coloration de Gram comporte plusieurs étapes successives :

- Préparation du frotti : prélèvement par une pipette Pasteur ou une anse de platine de quelques gouttes d'une suspension bactérienne ; la déposer sur une lame propre ; l'étaler de centre à la périphérie et laisser sécher.
- Fixation : Pour tuer les germes, fixer leurs structures cytologiques sans altération et augmenter la perméabilité membranaire aux colorants. Elle peut se faire par la chaleur, l'alcool-éther
- Recouvrir le frottis avec le violet de gentiane et laisser agir une minute à 5min.
- Rejeter le colorant et recouvrir la préparation avec le lugol , laisser agir 30 secondes.
- Rejeter le lugol puis rincer à l'eau.
- Décolorer à l'alcool 95°

- Rincer à l'eau courante et recouvrir la lame avec la Fuchsine diluée, laisser agir une minute.
- rejeter la fuchsine, laver abondamment, égoutter, sécher entre deux feuilles de papier buvard propres.

- **lecture**

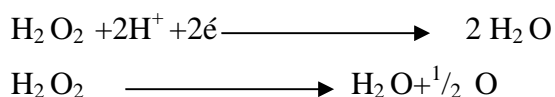
La lecture se fait à l'objectif x100 en ajoutant de l'huile à immersion, les bactéries à Gram positif se colorent en violet et les bactéries à Gram négatif se colorent en rose.

II .2.4. 2. Identification biochimique :

Test de catalase :

❖ Principe

Au cours de la respiration aérobie, il y a production de H_2O_2 qui est toxique pour la bactérie, celle-ci le dégrade grâce à deux enzymes la peroxydase et la catalase, selon les réactions suivantes :



❖ Technique

- Déposer sur une lame de verre une ou deux gouttes d'eau oxygénée à 10 volumes.
- Prélever à l'aide de l'effilure d'une pipette Pasteur un fragment de colonie et dissocier la culture dans l'eau oxygénée.

❖ Lecteur :

- Catalase + : on observe un dégagement immédiat de bulles gazeuses.
- Catalase- : pas production de bulle d'air.

Test d'oxydase :

❖ Principe

Au cours de la respiration aérobie, l'accepteur final de la chaîne de transport d'électrons est une enzyme dite : cytochrome oxydase. Ce test permet la différenciation entre les entérobactéries et les autres bacilles Gram négatif.

❖ Technique :

- La mise en évidence d'oxydase est effectuée à l'aide d'un disque imprégné d'une solution aqueuse à 1% de chlorhydrate de diméthyl paraphénylène diamine.

- Prélever une colonie bactérienne avec pipette Pasteur stérile et la déposer sur le disque d'oxydase.

❖ **Lecteur :**

- Une coloration violet foncé apparaît immédiatement sur le disque ou en quelques secondes puis vire au noir : test oxydase+, donc bactérie dite oxydase positive.
- Absence de couleur indique un test oxydase-, donc la bactérie est dite oxydase négative.
- En fonction du délai d'apparition de la coloration, on a :
 - Entérobactéries (test négatif)
 - *Acinetobacter* (test négatif)
 - *Pseudomonas aeruginosa* (test positif après 20 à 30 secondes)

A) Galerie classique :

- Préparation de la suspension bactérienne :

A l'aide d'une pipette Pasteur, prélever une seule colonie bien isolée sur milieu close, utiliser un prélèvement des cultures jeunes (18 à 24 heures) et introduire dans un tube à essai qui contient 10 ml d'eau physiologique stérile à l'opacité de 0,5 Mac Ferland qui est utilisé pour l'ensemencement des différents tests biochimiques et l'antibiogramme.

➤ **Etude d'utilisation des sucres sur le milieu (TSI) :**

- **Test de TSI (Triple Sugar Iron.)**

❖ **Principe :**

Le TSI est un milieu tris glucidique qui permet la recherche de 5 caractères biochimiques à savoir la fermentation de glucose, et la dégradation de saccharose et de lactose ainsi que la production d'hydrogène sulfuré H₂S et de gaz.

❖ **Technique :**

La gélose TSI a été ensemencée, par piqûre centrale au niveau de culot et par des stries sur la pente à l'aide d'une pipette Pasteur ou d'une anse bouclée préalablement stérilisée à la flamme. Incuber à 37°C pendant 24 heures

❖ **Lecteur :**

Le virage du milieu du rouge au jaune indique la fermentation des sucres.

- Si le culot vire au jaune, la bactérie a fermenté le glucose : Glucose+
- Si le culot reste rouge, la bactérie ne fermenté pas le glucose : Glucose-
- Fermentation du lactose et/ou saccharose : pente rouge : lactose-
- Si la pente vire au jaune : lactose+

- Production de gaz+ : apparition des bulles de gaz ou un décollement de la gélose.
- La formation d'H₂S : production d'une coloration noire entre le culot et la pente ou le long de la piqûre. Si le dégagement d'H₂S très important, le tube peut apparaître totalement noir.

➤ **Etude de l'utilisation du citrate comme seule source de carbone :**

❖ **Principe :**

Certaines bactéries sont capables d'assimiler le citrate, c'est à dire capables d'utiliser le citrate comme unique source de carbone et d'énergie. Ces bactéries possèdent un citrate perméase et les enzymes du catabolisme du citrate. L'un des milieux utilisés pour cette étude est le citrate de Simmons.

❖ **Technique :**

A partir d'une colonie bien isolée, on ensemence le milieu en surface par des stries serrées uniquement la partie inférieure, la partie supérieure servira comme témoin. Incubation à 37°C pendant 24 heures.

❖ **Lecteur :**

- Si le milieu de culture vire au bleu : citrate de Simmons positif la bactérie utilise le citrate.
- Si le milieu reste vert : citrate de Simmons négatif ; la bactérie soit n'utilise pas le citrate ou bien n'a pas la perméase nécessaire à la pénétration du citrate dans le cytoplasme pour sa dégradation.

➤ **Dégradation du mannitol : Milieu mannitol-Mobilité :**

❖ **Principe :**

Le milieu mannitol mobilité permet de rechercher simultanément la mobilité, l'utilisation du mannitol par les germes.

❖ **Technique :**

Ensemencer à l'aide d'une pipette Pasteur stérile les tubes du mannitol par piqûre centrale jusque au fond du tube, incubé à 37°C pendant 24 heures.

❖ **Lecteur :**

Ce milieu de culture fournit en 24 heures les résultats de deux tests :

- **Test mannitol :**

Fermentation de mannitol : virage de milieu de rouge au jaune.

- Le test mobilité bactérienne.

- S'il ya virage du milieu, on dit que la bactérie fermente le mannitol, donc elle est mannitol positif
- Si le milieu reste rouge, on dit que la bactérie ne fermente pas le mannitol, donc elle est mannitol négatif.
- S'il ya diffusion des germes le long de la piqûre d'ensemencement, on dit que la bactérie est mobile.
- S'il n'y a pas diffusion des germes le long de piqûre d'ensemencement, on dit que la bactérie est immobile.

➤ Etude de la voie fermentaire utilisée :

Le milieu utilisé est celui de CLARK et LUBS qui permet de mettre en évidence 2 voies de dégradation de l'Acide pyruvique

1) Test de rouge méthyle (RM) :**❖ Principe :**

La fermentation du glucose par certaine bactéries produit de l'acide pyruvique (pyruvate), puis des acides (acide lactique, succinique, acétique et formique) et parfois des produit divers (éthanol, CO₂, H₂) ; cette fermentation est appelée fermentation des acides mixtes.

La réaction au rouge de méthyle permet de caractériser la fermentation des acides mixtes.

❖ Technique :

- On ensemence quelque goutte de la suspension bactérienne dans le bouillon Clark et Lubs à l'aide d'une pipette Pasteur stérile puis on l'incube dans l'étuve à 37°C pendant 24heurs
- On ajoute dans le tube 1 ou 2 gouttes d'une solution de rouge de méthyle et on observe

❖ Lecteur :

- ✓ Si le milieu prend une coloration rouge, la réaction est RM +.
- ✓ Si le milieu reste jaune : la réaction est RM - .

2) Recherche de l'acétoine (réaction de Voges-Proskauer) :**❖ Principe :**

La fermentation du glucose par certaines bactéries produit de l'acide pyruvique qui sera ensuite transformé en acétyl-méthyl-carbinol généralement appelé acétoine puis en 2,3-butanediol, cette fermentation est dite butanediolique (anciennement fermentation 2,3 butylène-glycolique) est mise en évidence par la réaction de Voger-Proskauer(vp).

❖ **Technique :**

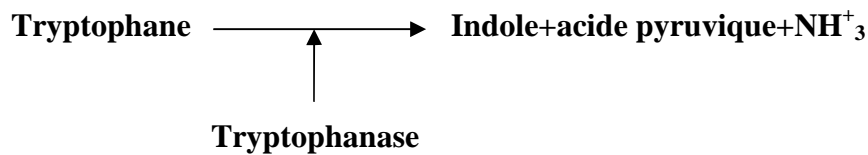
- On ensemence quelque goutte de la suspension bactérienne dans le bouillon Clark et Lubs à l'aide d'une pipette Pasteur stérile puis on l'incube dans l'étuve à 37°C pendant 24h
- On ajoute quelques gouttes des réactifs VP1 et VP2 dans le bouillon, on le chauffe un peu puis on laisse agir pendant 10 minutes

❖ **Lecteur :**

- Si une coloration rouge violacée apparaît: la réaction est VP +.
- Si le bouillon reste incolore : la réaction est VP-

➤ **Test indole, l'uréase, tryptophane désaminase(TDA) :****a) Recherche de la production d'indole :**❖ **Principe :**

La mise en évidence d'indole est réalisé dans un milieu peptone exempte d'indole, ce milieu permet la recherche d'indole qui due à la dégradation du tryptophane en indole, acide pyruvique et ammoniac par la tryptophanase bactérienne.

❖ **Technique :**

- On ensemence dans le tube à l'aide d'une pipette Pasteur stérile puis on l'incube dans l'étuve à 37°C pendant 24h

❖ **Lecteur :**

- La lecture se fait après l'addition de réactif de **Kovacs**, une réaction positive traduit par l'apparition d'un anneau rouge à la surface de tube, ce qui indique la présence d'indole dans le milieu donc la bactérie est dite indole positif.
- Si le milieu incolore (jaune) : la réaction est négative, donc la bactérie est dite indole négatif.

b) Recherche de l'uréase :

- L'uréase est une enzyme qui hydrolyse l'urée et conduit à la formation d'ammoniac et de dioxyde de carbone. En solution, le produit final de la réaction est le carbonate d'ammonium qui alcalinise le milieu. Le test peut être réalisé sur milieu urée-indole.

❖ Technique :

- On ensemence quelque goutte de la suspension bactérienne dans le milieu urée-indole, puis on l'incube dans l'étuve à 37°C pendant 24heurs.

❖ Lecteur :

- Uréase positive : le milieu présente une coloration rouge violacée ou orange foncée.
- Uréase négative : le milieu a une teinte jaune

c) Recherche du tryptophane désaminase (TDA) :

Le tryptophane désaminase désamine le tryptophane pour donner de l'acide indole-pyruvique. L'addition de chlorure de fer III réagit avec l'acide indole-pyruvique en donnant un précipité de coloration brune.

❖ Technique :

La recherche s'effectue dans le même milieu de l'urée indole en ajoutant quelque goutte de réactif TDA (pro chlorure de fer)

❖ Lecture :

- Apparition d'une coloration brune foncée : bactérie TDA positive.
- Dans le cas contraire où le milieu reste orange : TDA négative

➤ Recherche des décarboxylase et dihydrolase :

Certaines bactéries possédant des enzymes de transformation des acides aminés (décarboxylase et dihydrolase) en formant l'amine correspondante et libèrent le CO₂.

- La lysine décarboxylase (LDC)
- L'ornithine décarboxylase (ODC)
- L'arginine dihydrolase (ADH)

Ces trois tests peuvent être réalisés sur les bouillons « LDC, ODC, ADH » conçus pour la recherche des décarboxylase et dihydrolase bactériennes.

❖ Technique :

On ensemence les trois tubes contenant les acides aminés ainsi que le tube témoin (contenant seulement le glucose) avec 2 à 3 gouttes d'une suspension bactérienne, on recouvre la surface des tubes avec une couche d'huile de vaseline puis on incube dans l'étuve à 37°C pendant 24h

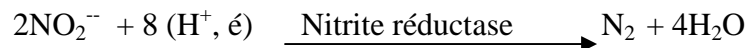
❖ Lecteur :

- Dans un 1^{er} temps les bactéries fermentent le glucose, et les milieux s'acidifient (virage du violet au jaune de l'indicateur de pH)
- Dans un 2^{ème} temps lorsque les bactéries possèdent ces enzymes les métabolites aminés formés à partir des aminoacides alcalinisent les milieux et les trois tubes devient rose violacés

➤ **Recherche du nitrate réductase :**

❖ **Principe :**

Certaines bactéries peuvent utiliser comme accepteur final d'électrons des composés minéraux riches en oxygène (respiration anaérobie). C'est le cas en particulier des nitrates(NO_3) qui sont alors réduits en nitrites(NO_2) grâce à l'enzyme qui est nitrate réductase. La réduction peut aller au-delà du stade nitrites et conduire à la formation d'azote gazeux (N_2)



❖ **Technique :**

On ensemence quelques gouttes de la suspension bactérienne dans un bouillon nitrate après 24 heures d'incubation on ajoute une ou deux gouttes d'acide sulfanilique (réactif NIT 1) puis une à deux gouttes d'alpha-naphtylamine (réactif NIT 2).

❖ **Lecture :**

- Si la coloration rose apparaît : la bactérie possède la Nitrate réductase.

↗ Soit les nitrates n'ont pas été réduits.

- Si le bouillon reste incolore : → Ou bien ils ont été transformés en Nitrites puis en Azote.

L'addition d'un réducteur comme la poudre de Zinc permet de différencier ces 2 voies :

- Si le bouillon devient rose : les Nitrates sont présents → La bactérie ne possède pas la Nitrate réductase.

- Si le milieu reste tel incolore: Les nitrates ont été réduits en Nitrites puis en azote ammoniacal : La bactérie possède la Nitrate réductase.

➤ **Test de la coagulase :**

❖ **Principe :**

La coagulase est une enzyme capable de coaguler le plasma de lapin par transformation de fibrinogène en fibrine, et permet d'identifier S.aureus.

❖ **Technique :**

Dans un tube à essai, on met 0,5 ml de plasma de lapin, puis on ajoute 0,5 ml d'une suspension bactérienne à étudier et on incube dans l'étuve à 37°C pendant 24heurs

❖ Lecture :

- Absence de coagulation du plasma : coagulase négative
- coagulation du plasma : coagulase positive (*S. aureus*)

B) Identification par les systèmes d'API:**❖ API20E :**

API20E 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

❖ API20NE :

API 20 NE est un système standardisé pour l'identification des bacilles à Gram négatif non enterobactéries (ex. *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Pasteurella*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Vibrio*, *Aeromonas*, etc.) combinant 8 tests conventionnels, 12 tests d'assimilation, et une base de données.

❖ PRINCIPE

La galerie API 20 (E ou NE) comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne saline qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

❖ Technique :

- Répartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.
- Sortir la galerie de son emballage individuel.
- Placer la galerie dans la boîte d'incubation.
- A l'aide d'une pipette prélever quelques colonies bien isolés et de morphologie identique, on utilise préférentiellement des cultures jeunes (18-24 heures).
- Réaliser une suspension bactérienne trouble (et d'opacité égale à 0,5 de McFarland pour la NE)
- Les tubes et les cupules de la galerie sont remplis par la suspension bactérienne préparée à l'aide d'une pipette.
- Les sucres de L'API20NE sont remplis par la suspension bactérienne enrichis dans l'API AUX medium

- Lorsque le sigle du test est encadré (**CIT, VP, GEL**) on remplit le tube et la cupule par la suspension bactérienne.
- Lorsque le sigle du test est souligné (**ADH, LDC, ODC, H2S, URE**) on remplit uniquement le tube. et la cupule sera secondairement remplie d'huile de vaseline.
- Lorsque le sigle du test n'est ni encadré ni souligné on remplit uniquement le tube.
- Refermer la boîte d'incubation et la placer à l'étuve à 37°C pendant 18-24 heures

❖ **Lecture et interprétation :**

L'identification est obtenue à partir d'un profil numérique

- Les tests sont regroupés en groupe de 3, et une valeur (1,2 ou 4) est indiquée pour chaque test. Additionner à l'intérieur de chaque triplet les nombres correspondants aux tests positifs. On obtient un nombre 7 chiffres qui sert de code d'identification. La réaction de l'oxydase qui constitue le 21^o test est affectée de la valeur 4 lorsqu'elle est positive.
- le profil numérique est recherché dans un catalogue analytique ou à l'aide d'un logiciel d'identification

II.2.5. Etude de sensibilité aux antibiotiques :

❖ **Antibiogramme par diffusion des disques :**

La décision de prescrire un antibiotique doit être fondée sur les données de l'examen clinique et les résultats de l'examen bactériologique, notamment d'un antibiogramme effectué sur la ou les bactéries incriminées dans l'infection. L'antibiogramme est une technique de laboratoire qui détermine la sensibilité d'une bactérie à l'égard des antibiotiques. La méthode la plus employée est celle de la diffusion sur gélose qui peut se faire simultanément avec plusieurs disques contenant des antibiotiques différents. Le résultat de l'antibiogramme indique si la souche est sensible, intermédiaire ou résistante aux antibiotiques testés.

1. Technique

▪ **Milieu pour antibiogramme :**

- Gélose Mueller- Hinton coulé en boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm pour les bactéries non exigeantes
- Gélose Muller –Hinton additionnée de sang du cheval ou mouton pour les bactéries exigeantes
- Les géloses doivent être séchées avant l'emploi

▪ Préparation de l'inoculum :

- A partir d'une culture pure de 18 à 24 heures sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Bien décharger l'anse ou l'écouvillon dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 MF ou à une D.O. de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm. L'utilisation d'un densitomètre est fortement souhaitable.

▪ Ensemencement :

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.
- L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

▪ Application des disques d'antibiotiques :

- Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm.
- Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide d'une pince bactériologique stérile, ne pas déplacer les disques après application.
- Les antibiotiques utilisés sont différents selon la bactérie isolée.
- Les boîtes d'antibiogramme sont incubées à 37°C, atmosphère normale pendant 24 heures.

Selon les souches isolées il ya des antibiotiques spécifiques à tester :

- ✓ **Si la bactérie isolée est une entérobactérie on teste :**

Ampicilline(AM), Amoxicilline + Acide clavulanique(AMC), Ticarcilline(TIC), Céfoxitine(FOX),Céfotaxime(CTX),Imipénème(IPM),Gentamicine(GM),Amikacine (AN),ofloxacin(OFX),Triméthoprim+ sulfaméthoxazole(SXT),Colistine(CS), Netilmicine(NET).

✓ **Si c'est une *Pseudomonas* on teste :**

Ticarcilline+acideclavulanique(TCC),Pipéraciline(PIP),ceftazidine(CAZ), Amikacine(AN), Gentamicine(GM),Tobramycine(TM),Tétracycline(TE), Rifampicine(RA)
Triméthoprim+ sulfaméthoxazole(SXT)

✓ **Si la bactérie isolée est une *staphylococcus aureus* on teste :**

pénicilline(P),Oxacilline(OX),Gentamicine(GM),Amikacine(AN),Pristinamycine(PT), Erythromycine(E),Clindamycine(CM), Vancamycine(VA) ,Rifampicine(RA) , Triméthoprim+ sulfaméthoxazole(SXT),acidefusidique(FA),Tétracycline(TE), Levofloxacin(LVX).

✓ **Si la bactérie isolée est une *streptococcus sp* on teste :**

pénicilline(P),Ampicilline(AM),Pristinamycine(PT),Erythromycine(E),Clindamycine (CM), Vancamycine(VA) , Levofloxacin(LVX),Nitrofuranes(FT) , Tétracycline(TE), Rifampicine(RA).

▪ **Lecture :**

- Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.
- Pour les bactéries testées sur Mueller-Hinton simple, les mesures seront prises en procédant par transparence a travers le fond de la boite de Pétri fermée.
- Pour les bactéries testées sur Mueller-Hinton au sang, les mesures de diamètres de zones d'inhibition seront prises, boite de Pétri ouverte et bien éclairée.
- Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes dans le fascicule de la standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (6^{ème} edition 2011).

I. Résultats :

I.1. Répartition des prélèvements du pus effectués selon la positivité et la négativité:
Tableau n°10: Répartition des prélèvements de pus positifs et négatifs chez les diabétiques.

Résultats de prélèvement	Nombre	Pourcentage %
Prélèvements positifs	37	72,55%
Prélèvements négatifs	14	27,45%
totale	51	100%

Sur 51 prélèvements analysés 37 sont révélés positifs, avec un pourcentage de 72,55% et 14 Prélèvements sont révélés négatifs avec un pourcentage de 27,45% (figure 2)

Les résultats montrent un pourcentage élevé des prélèvements positifs (**72,55%**), nous avons également enregistré un taux de (**27,45%**) des prélèvements négatifs, cette négativité peut être due :

- ❖ à une antibiothérapie.
- ❖ à des conditions de prélèvements incorrectes.
- ❖ Il peut s'agir d'un germe exigeant, telle que les anaérobies.

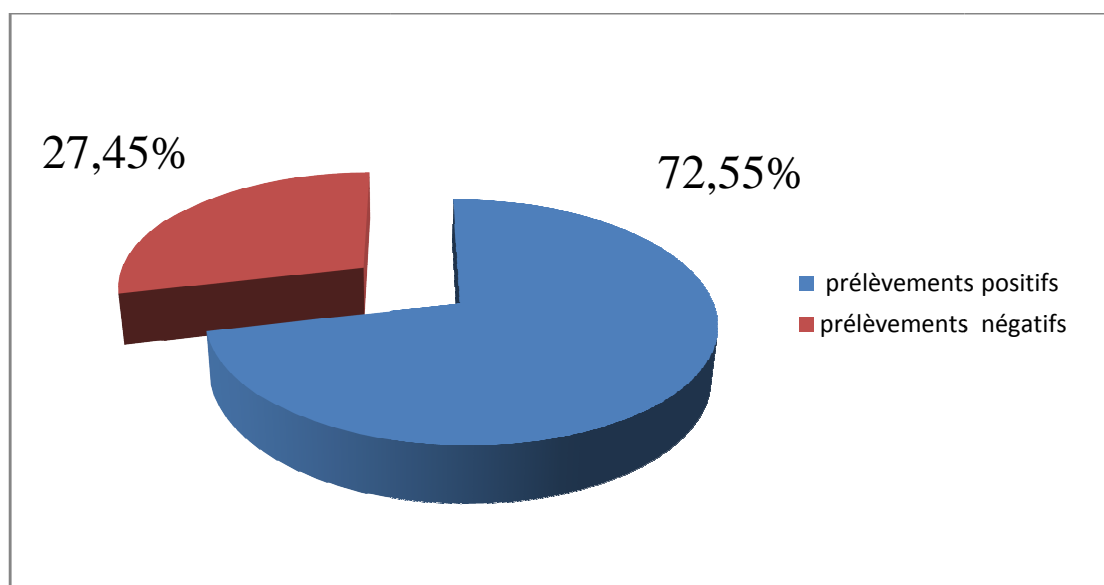


Figure n°2 : Répartition des prélèvements selon la positivité et la négativité

I.2.Répartition des prélèvements selon le sexe :

Tableau n°11 : Répartition des prélèvements en fonction de sexe:

Sexe	Homme		Femme	
	Nombre	Pourcentage %	Nombre	Pourcentage %
Prélèvements positifs	24	68,57%	13	81,25%
Prélèvements négatifs	11	31,43%	03	18,75%
Totale	35	100%	16	100%

Les résultats de notre analyse montrent :

- Une prédominance de sexe masculin : **35** hommes avec un pourcentage de **68,63%** par rapport au sexe féminin **16** femme avec un pourcentage de **31,37%**
- Chez les femmes presque la majorité des cas sont positifs (**81,25%**) alors que chez les hommes **68,57%** cas positifs (figure 3).
- Les résultats des cultures positives et négatives en fonction de sexe montre une prédominance de prélèvements de pus chez les hommes (68,63%) que les femmes (31,37%) nous avons expliqué cette prédominance du fait que les hommes diabétiques sont plus susceptibles aux blessures puisque ils travaillent dans des métiers multiples et presque la majorité de leurs temps restent dehors de la maison avec des chausseurs et que les hommes sont en générale moins respectueux à l'hygiène au contraire aux femmes qui sont moins susceptibles à ces risques
- Pour les cultures positives nous remarquons que les cultures positives chez les femmes très élevées (81,25%) par rapport aux hommes (68,57%), ces résultats différents d'une année à une autre selon le nombre de prélèvements effectués au niveau de l'hôpital.

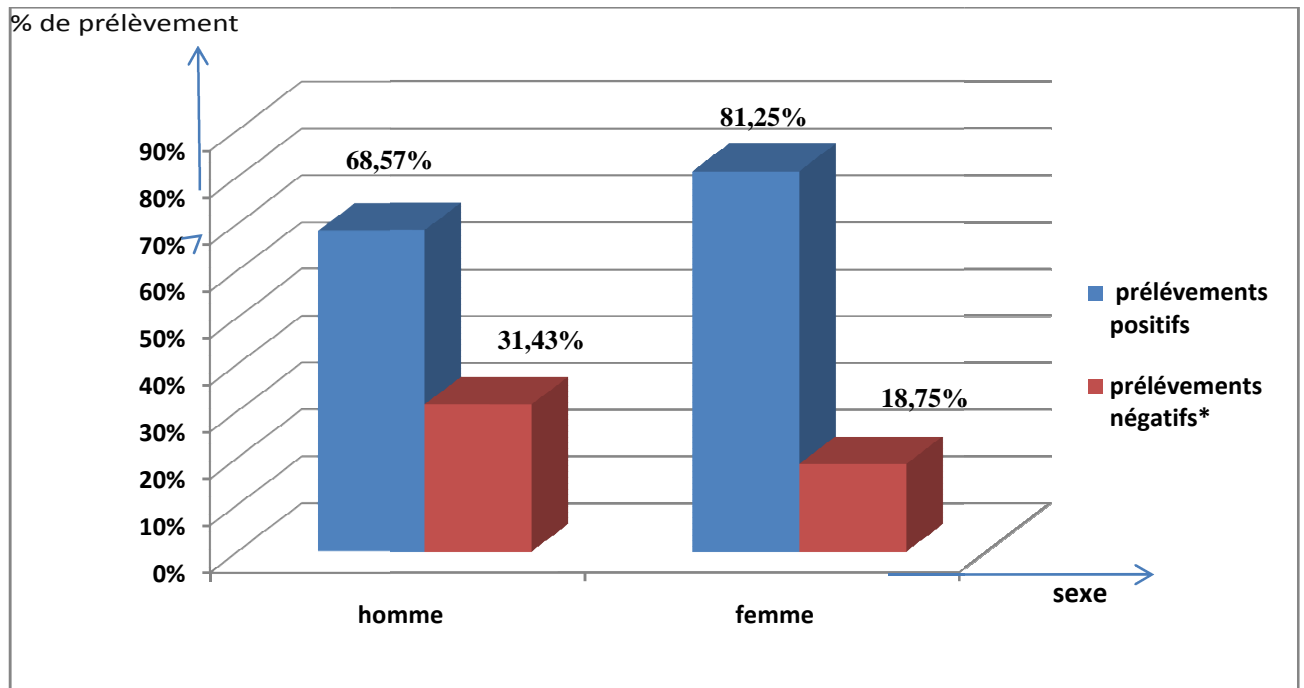


Figure n°3 : Répartition des prélèvements de pus en fonction de sexe.

Tableau de contingence (test d'indépendance)

	Absence d'infection de pied Observer/calculer	Présence d'infection de pied Observer/calculer	Total
Hommes	11/ 9,61	24/ 25,39	35
Femmes	3/ 4,39	13/ 11,61	16
Total	14	37	51

- ❖ On pose l'hypothèse nulle H_0 : il y a une indépendance entre l'infection de pied et le sexe de la personne.
- ❖ Pour que l'hypothèse H_0 soit confirmée il faut que χ^2 calculé soit systématiquement inférieur au χ^2 de table
- ❖ Calcul de χ^2 :

$$\chi^2 = [(11-9,61)^2/9,61] + [(24-25,39)^2/25,39] + [(3-4,39)^2/4,39] + [(13-11,61)^2/11,61]$$

$$\chi^2_{\text{calculé}} = 0,89 < \chi^2_{5\%}(\text{ddl}=1) = 3,84$$

H_0 est retenue : il y a aucune relation entre le sexe et les infections des pieds diabétiques.

I.3.Répartition des prélèvements en fonction de l'âge :(figure 4) :

Tableau n° 12 : Répartition des prélèvements en fonction de l'âge :

Age	0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	60-70	≥70	Totale
Nombre	0	0	3	7	9	12	15	5	51
Pourcentage (%)	0	0	5,88	13,73	17,65	23,53	29,41	9,80	100

- Les diabétiques entre (0-30 ans) sont peu affectés par l'infection de pied (5,88%) car leur système immunitaire est capable de résister aux attaques microbiennes.
- Les diabétiques entre (30-50 ans) sont atteints par cette infection avec un taux de (31,38%), on peut expliquer ce taux par l'augmentation de glucose dans le sang et l'état d'évolution de la maladie qui diffère d'un malade à un autre.
- Les diabétiques entre (50-70 ans) sont plus affectés (62,74%) car leur immunité est affaiblie par la longue durée de la maladie et ses complications combinées aux déficiences physique dues à l'âge.
- ❖ Concernant l'âge nous avons remarqué une augmentation du taux d'infection avec l'âge : 40 -50ans (17,65%), 50-60 ans (23,53%), 60-70 ans (29,41%) ceci peut être expliqué comme suit :
 - Les complications de diabète sucré apparaissent à la suite d'une longue évolution à la moyenne de 20 ans après l'atteinte de diabète (**Freychet et al.,1991**).
 - La diminution de l'immunité chez les vieux diabétiques et le développement de la maladie.
 - Diminution de l'exercice physique.

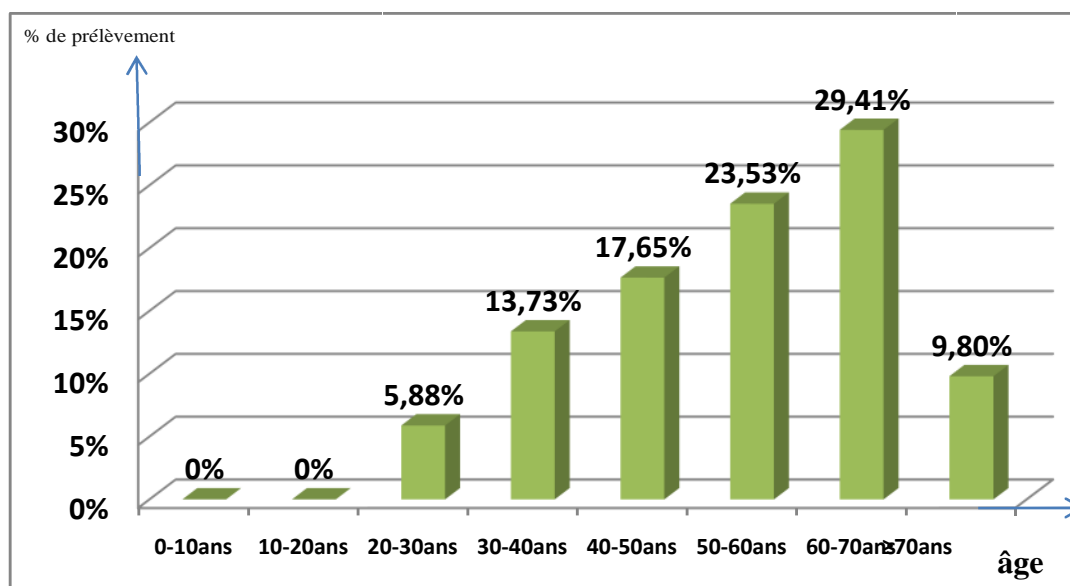


Figure n°4 : Répartition du prélèvement en fonction de l'âge

I.4.Répartition des prélèvements du pus des diabétiques hospitalisés et non hospitalisés :

Tableau n° 13: Répartition des prélèvements du pus des diabétiques hospitalisés et non hospitalisés.

	hospitalisés		Non hospitalisés	
	Nombre	pourcentage	Nombre	pourcentage
Prélèvements positifs	30	75%	7	63,64%
Prélèvements négatifs	10	25%	4	36,36%
Totale	40	100%	11	100%

Nous avons collectés **51** prélèvements du pus diabétiques, dont **37** présentés une culture positive soit un taux de **72,55%**, et qui se repartis sur 30 patients hospitalisés avec un taux de **75%** et 7 patients non hospitalisés soit un taux de **63,64%** (figure5).

A partir de notre étude les prélèvements positifs chez patients diabétiques hospitalisés sont plus fréquents (75%) par rapport aux patients non hospitalisés (**63,64%**), par ce que Les patients diabétiques hospitalisés sont à l'état avancé de l'infection que les patients non hospitalisés c'est bien que sont restés à l'hôpital.

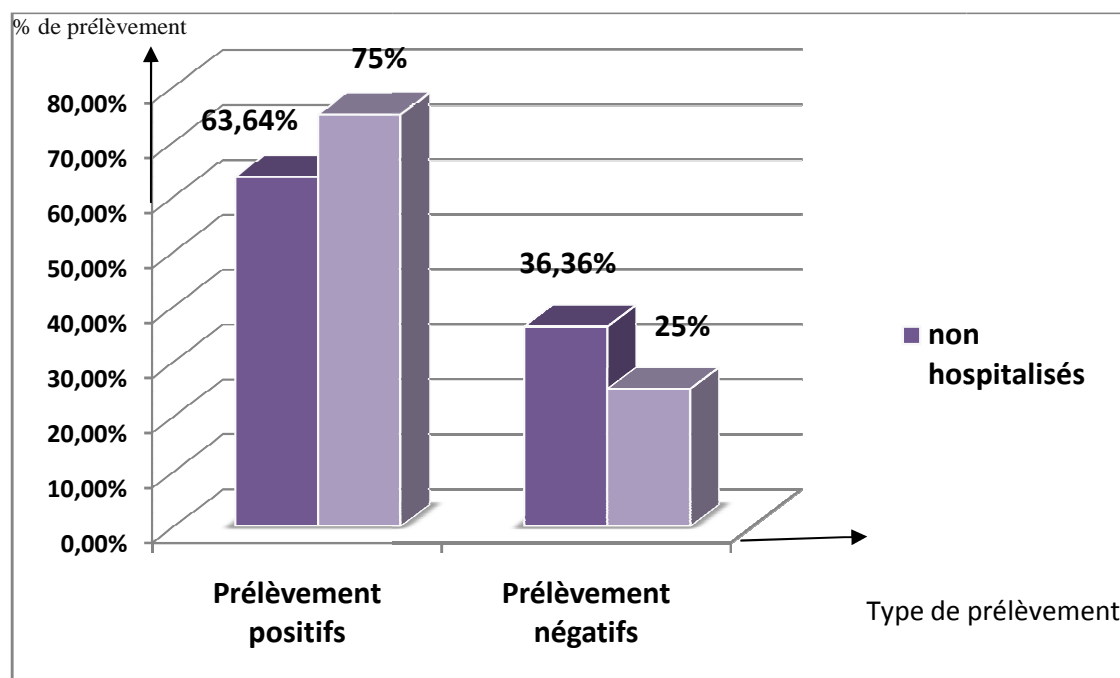


Figure n° 5: Répartition des prélèvements du pus des diabétiques hospitalisés et non hospitalisés

Tableau de contingence (test d'indépendance)

	Absence d'infection de pied Observer/calculer	Présence d'infection de pied Observer/calculer	Total
hospitalisés	10/ 10,98	30/ 29,02	40
non hospitalisés	4/ 3,02	7/ 7,98	11
Total	14	37	51

- ❖ On pose l'hypothèse nulle H_0 : il y a une indépendance entre l'infection de pied et les patients diabétiques hospitalisés et non hospitalisés
- ❖ Pour que l'hypothèse H_0 soit confirmée il faut que χ^2 calculé soit systématiquement inférieur au χ^2 de table

$$\chi^2 = [(10-10,98)^2/10,98] + [(30-29,02)^2/29,02] + [(4-3,02)^2/3,02] + [(7-7,98)^2/7,98]$$

$$\chi^2_{\text{calculé}} = 0,59 < \chi^2_{5\%}(\text{ddl}=1) = 3,84$$

H_0 est retenue : il y a aucune relation entre le service et les l'infections des pieds diabétiques

I.5.Répartition des prélèvements en fonction de type de diabète :

Tableau n° 14: Répartition des prélèvements en fonction de type de diabète.

Type de diabète	Homme		Femme	
	Nombre	pourcentage	Nombre	pourcentage
Type I	8	15,69%	5	9,80%
Type II	27	52,94%	11	21,57%
Totale	35	68,63%	16	31,37%

Les patients diabétiques de type II sont plus susceptibles aux infections du pied (74,51%) que les diabétiques de type I (25,49%) (Figure 6).

Les patients diabétiques de type II sont plus touchés par les infections bactériennes du pied diabétique (74,51%), le fait que ce type de diabète résulte de l'association de deux anomalies interdépendantes :

- Selon **Perlemuter et al., (2003)** une moindre sécrétion d'hormone en réponse au glucose, ce qui conduit à une hyperglycémie.
- Selon **Hazard et al., (1983)** Une insulino-résistance, c'est une moindre sensibilité des cellules cibles de l'organisme (tissu adipeux, foie, muscle) à l'insuline.
- Mais cela ne signifie pas que les diabétiques de type I ne sont pas exposés aux infections, car les complications sont les même chez tous les types de mal équilibre (**Hennen.,2001**)

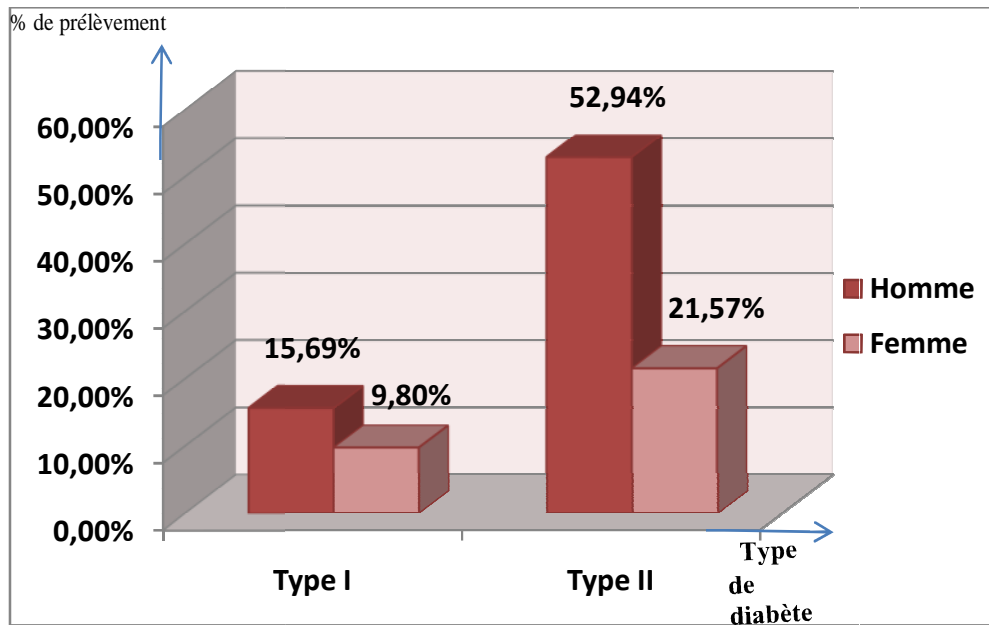


Figure n°6 : Répartition des prélèvements en fonction de type de diabète.

Tableau de contingence (test d'indépendance)

	Type I	Type II	Total
Hommes	8/ 8,92	27/ 26,08	35
Femmes	5/ 4,08	11/ 11,92	16
Total	13	38	51

- ❖ On pose l'hypothèse nulle H_0 : il y a une indépendance entre l'infection de pied et le type de diabète
- ❖ Pour que l'hypothèse H_0 soit confirmée il faut que χ^2 calculé soit systématiquement inférieur au χ^2 de table
- ❖ Calcul de χ^2 :
- ❖ $\chi^2 = [(8-8,92)^2 / 8,92] + [(27-26,08)^2 / 26,08] + [(5-4,08)^2 / 4,08] + [(11-11,92)^2 / 11,92]$

$$\chi^2_{\text{calculé}} = 0,4 < \chi^2_{5\%}(\text{ddl}=1) = 3,84$$

H_0 est retenue : il y a aucune relation entre le type de diabète et les infections des pieds diabétiques

Tableau n° 15: Nombre et pourcentage des germes identifiés dans les cultures positives

Sur les **37** prélèvements, nous avons recensés **53** germes isolés. Ils se répartissent entre les bacilles à Gram négatif (**66,04%**) qui sont (les Entérobactéries et Pseudomonas aeruginosa) et les cocci à Gram positifs (**33,96%**)

- Les bacilles Gram négatifs sont responsable de la majorité des infections du pied diabétique avec une dominance des Entérobactéries avec un taux de (**54,72%**) cela est due aux : à la grande partie des infections cutanés, en plus que sont des germes hospitaliers et leur isolement ont une fréquence très élevé dans les majorité des services indique une grande problème d'hygiène, ces germes sont d'autant plus dangereux qu'il sont plurirésistantes (**Nauciel, 2000**).
- Concernant les espèces, nous avons trouvé un taux très élevé de l'espèce Staphylococcus aureus (**24,52%**), suivi par certains espèces d'Entérobactéries E.coli (**16,98%**) puis l'espèce Proteus (P. mirabilis+P.vulgaris) avec un pourcentage de (**13,20%**) parce que ces espèces se développent rapidement et peuvent infectent les plaies en association avec d'autre bactéries.
- Les Pseudomonas aeruginosa et Klebsiella(K.pneumoniae+K.oxytoca) sont aussi retrouvé avec des taux de (**11,36%**)et (**11,31%**)
- Les Stréptococcus sp et Morganilla morganii qui sont présentés par le même taux (**9,43%**), puis en trouve l'entérobacter cloaceae avec un taux de (**3,77%**)

Espèces identifiées Bactéries identifiées Selon la coloration de Gram	Espèces	Nombre des souches	Pourcentage
Bacilles Gram négatif	<u>Escherichia. coli</u>	09	16,98%
	<u>Proteus mirabilis</u>	05	9,43%
	<u>Proteus vulgaris</u>	02	3,77 %
	<u>Morganilla morganii</u>	05	9,43%
	<u>Klebsiella pneumoniae</u>	05	9,43%
	<u>Klebsiella oxytoca</u>	01	1,88%
	<u>Enterobacter cloaceae</u>	02	3,77%
	<u>Pseudomonas aeruginosa</u>	06	11,36%
COCCI Gram positif	<u>Staphylococcus aureus</u>	13	24,52%
	<u>Streptococcus sp</u>	05	9,43%
	Totale	53	100%

I.6.Répartition des germes isolés selon la nature des prélèvements :

Les résultats des cultures bactériennes, sur les 37 prélèvements positifs nous avons obtenus un pourcentage élevé pour les cultures monomicrobiennes 56,76 %, suivie par des cultures polymicrobiennes avec un pourcentage de 43,24 %.

Tableau n° 16 : Répartition des germes isolés selon la nature des prélèvements

Les patients diabétiques	Monomicrobienne	Polymicrobiennes
Prélèvement (1)		<u>-E.coli</u> <u>-Morganilla morganii</u>
Prélèvement (2)		<u>-Proteus mirabilis</u> <u>-E.coli</u>
Prélèvement (3)		<u>-Streptococcus sp</u> <u>-Staphylococcus aureus</u>
Prélèvement (4)		<u>-Pseudomonas aeruginosa</u> <u>-S. aureus</u>
Prélèvement (5)	<u>-S. aureus</u>	
Prélèvement (6)		<u>- Pseudomonas aeruginosa</u> <u>-Staph.aureus</u>
Prélèvement (7)		<u>-E.coli</u> <u>-K. oxytoca</u>
Prélèvement (8)	<u>-E.coli</u>	
Prélèvement (9)	<u>-Streptococcus sp</u>	
Prélèvement (10)	<u>-Proteus mirabilis</u>	
Prélèvement (11)	<u>-Morganilla morganii</u>	
Prélèvement (12)		<u>-Morganilla morganii</u> <u>-E.coli</u>
Prélèvement (13)	<u>-Proteus mirabilis</u>	
Prélèvement (14)		<u>-Staph.aureus</u> <u>- Pseudomonas aeruginosa</u>
Prélèvement (15)	<u>-Enterobacter cloaceae</u>	
Prélèvement (16)	<u>-E.coli</u>	
Prélèvement (17)	<u>-Proteus vulgaris</u>	
Prélèvement (18)		<u>-Staph.aureus</u> <u>-E.coli</u>
Prélèvement (19)	<u>-Staph.aureus</u>	
Prélèvement (20)		<u>-K. pneumoniae</u> <u>-Staph.aureus</u>
Prélèvement (21)		<u>-Morganilla morganii</u> <u>-K. pneumoniae</u>
Prélèvement (22)	<u>-K. pneumoniae</u>	
Prélèvement (23)	<u>-Staph.aureus</u>	
Prélèvement (24)	<u>-Streptococcus sp</u>	
Prélèvement (25)		<u>-Staph.aureus</u> <u>-K. pneumoniae</u>

Prélèvement (26)		<u>-Staph.aureus</u> <u>-K. pneumoniae</u>
Prélèvement (27)		<u>-E.coli</u> <u>-Staph.aureus</u>
Prélèvement (28)		<u>- Pseudomonas aeruginosa</u> <u>-Staph.aureus</u>
Prélèvement (29)	<u>-Streptococcus sp</u>	
Prélèvement (30)	<u>-E.coli</u>	
Prélèvement (31)	<u>-Proteus vulgaris</u>	
Prélèvement (32)	<u>-Staph.aureus</u>	
Prélèvement (33)		<u>-Enterobacter cloaceae</u> <u>-Streptococcus sp</u>
Prélèvement (34)	<u>- Pseudomonas aeruginosa</u>	
Prélèvement (35)	<u>- Pseudomonas aeruginosa</u>	
Prélèvement (36)	<u>-Morganilla morganii</u>	
Prélèvement (37)	<u>-Staph.aureus</u>	

I.7.Répartition des germes isolés selon les patients hospitalisés et non hospitalisés :

- Nous avons obtenus un pourcentage élevé des germes isolés chez les patients diabétiques hospitalisés (84,91%) que les patients diabétiques non hospitalisés (15,09).
- Le milieu hospitalier est un milieu où prolifèrent plusieurs germes (contamination d'autres malades, de matériels, la manque d'hygiène, etc.) ils peuvent causer différentes infections surtout quand la personne est atteinte de diabète.
- Selon Berche (1991), les personnes hospitalisées sont les plus touchées par infections cutanées et cela est due à la propagation des Bacilles Gram négatif aux niveaux des hôpitaux.

Tableau n° 17 : Répartition des germes isolés selon les patients hospitalisés et non hospitalisé

Patients hospitalisés		Patients non hospitalisés	
P. (1)	<u>-E. coli</u> <u>-Morganilla morganii</u>	P. (1)	<u>-Proteus vulgaris</u>
P. (2)	<u>-Proteus mirabilis</u> <u>-E. coli</u>	P. (2)	<u>-Staph.aureus</u>
P. (3)	<u>-Streptococcus sp</u> <u>-Staph.aureus</u>	P. (3)	<u>-Enterobacter cloaceae</u> <u>-Streptococcus sp</u>
P. (4)	<u>- Pseudo</u> <u>-Proteus mirabilis</u>	P. (4)	<u>- Pseudomonas aeruginosa</u>
P. (5)	<u>-Staph.aureus</u>	P. (5)	<u>- Pseudomonas aeruginosa</u>
P. (6)	<u>- Pseudo</u> <u>-Staph.aureus</u>	P. (6)	<u>-Morganilla morganii</u>
P. (7)	<u>-E. coli</u> <u>-K. oxytoca</u>	P. (7)	<u>-Staph.aureus</u>
P. (8)	<u>-E. coli</u>		

P. (9)	<u>-Streptococcus sp</u>
P. (10)	<u>-Proteus mirabilis</u>
P. (11)	<u>-Morganilla</u> <u>morganii</u>
P. (12)	<u>-Morganilla</u> <u>-E. coli</u>
P. (13)	<u>-Proteus mirabilis</u>
P. (14)	<u>-Staph.aureus</u> <u>- Pseudo</u>
P. (15)	<u>-Enterobacter</u> <u>cloaceae</u>
P. (16)	<u>-E. coli</u>
P. (17)	<u>-Proteus vulgaris</u>
P. (18)	<u>-Staph.aureus</u> <u>-E. coli</u>
P. (19)	<u>-Staph.aureus</u>
P. (20)	<u>-K. pneumoniae</u> <u>-Staph.aureus</u>
P. (21)	<u>-Morganilla</u> <u>morganii</u>
P. (22)	<u>-K. pneumoniae</u>
P. (23)	<u>-Staph.aureus</u>
P. (24)	<u>-Streptococcus sp</u>
P. (25)	<u>-K. pneumoniae</u> <u>-Staph.aureus</u>
P. (26)	<u>-Staph.aureus</u>
P. (27)	<u>-E. coli</u> <u>-Proteus mirabilis</u>
P. (28)	<u>- Pseudomonas</u> <u>aeruginosa</u> <u>-Staph.aureus</u>
P. (29)	<u>-Streptococcus sp</u>
P. (30)	<u>-E. coli</u>

I.8.L'antibiorésistance des bactéries isolées :

Les résultats d'antibiorésistance des entérobactéries montrent une large résistance vis-à-vis de l'ampicilline (AM), et la plus part des genres sont sensibles à la céfoxitine (FOX), et à la céfotaxime (CTX).

E.Coli :

La résistance des souches de *Escherichia coli* était élevée pour l'Amoxicilline (AM), la Ticarcilline (88,88%) et 66,67% des souches sont résistantes vis-à-vis l'Amoxicilline+AC.clavulanique (AMC), ofloxacine (OFX), les souche de E.coli étaient 100% sensibles vis-à-vis l'Impipénème (IPM) et Nétilmicine (NET), et une sensibilité très élevé aux Céfoxitine (FOX) et Colistine, La résistance aux Amikacine est de 44,44% et 55,56% aux triméthoprime+ sulfaméthoxazole(SXT) et 22, 22% des souche sont résistantes aux Céfotaxime(CTX) et 22% aux Gentamicine(GM).

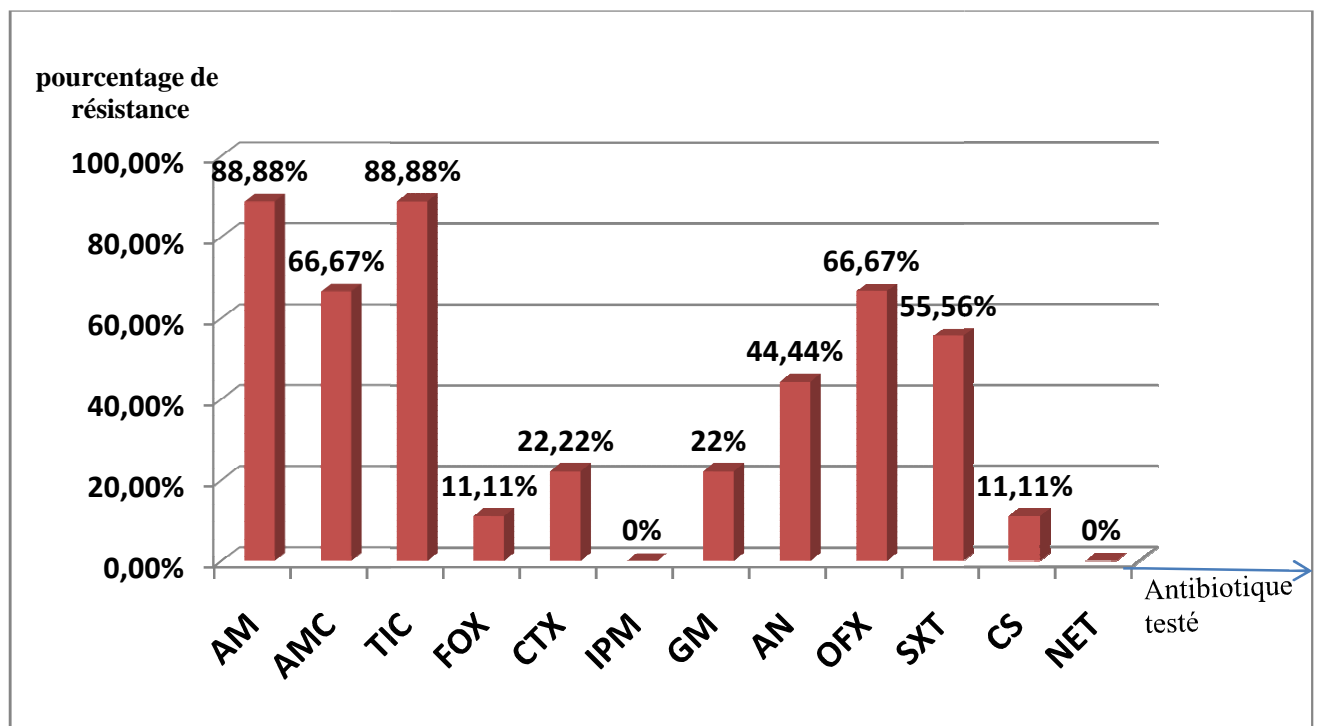


Figure n°7: Résistance des souches *Escherichia coli* aux antibiotiques

Plus de 80% de nos souches d'*E. coli* sont résistantes à l'ampicilline, des taux voisins sont rapportés dans l'étude (Chablou., 2011) (79%), La résistance à AMC, GM, SXT, est respectivement de 66,67% ; 22% ; 55,56%. Un taux beaucoup plus important a été obtenu dans cette même étude ; AMC (65%), GM (20%), SXT (39%).

proteus :

La résistance de ces souches pour l' Ampicilline, l' Amoxicilline+AC.clavulanique (AMC) est **57,14%** et **14,29%** des souches sont résistantes vis-à-vis Céfoxitine (FOX) , Céfotaxime(CTX), la résistance est très élevé aux triméthoprime+ sulfaméthoxazole(SXT) **71,43%** et aux Colistine (CS) **85,71%**, aucune résistance n'a été notée pour l' Imipénème (IPM), et Nétilmicine(NET)

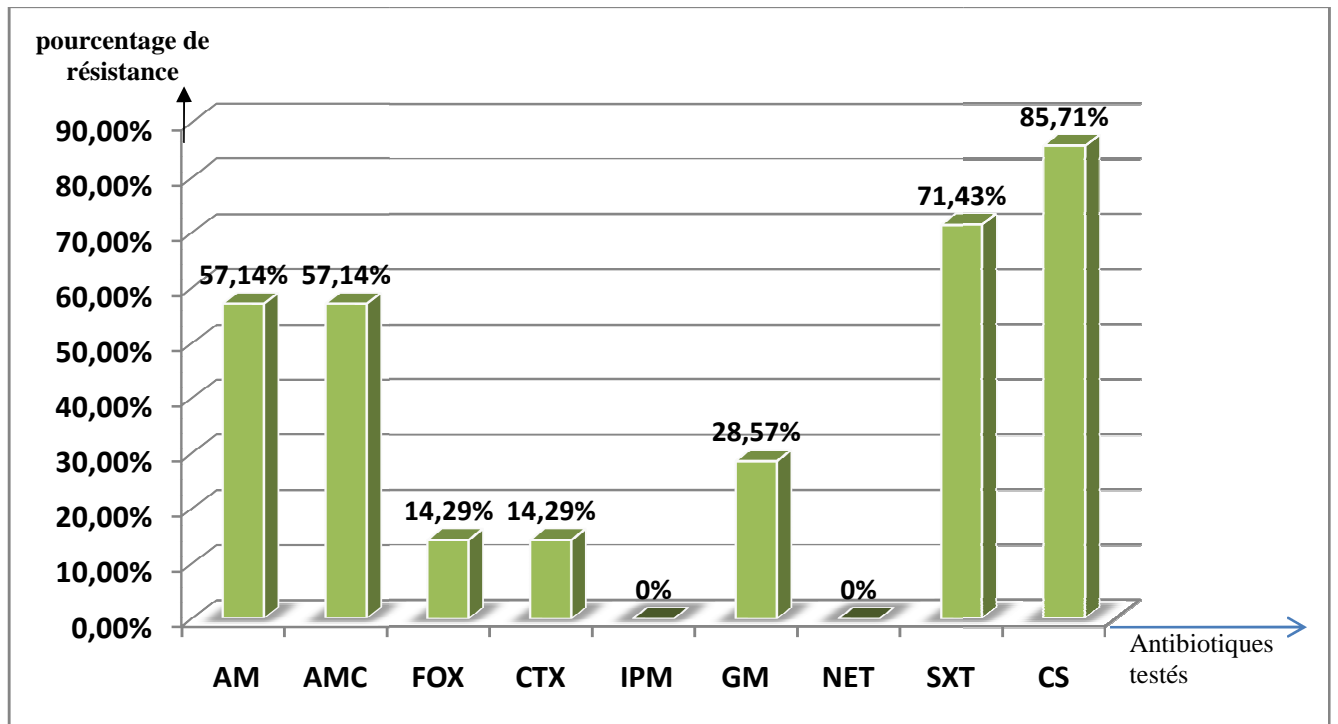


Figure n°8 : Résistance de Proteus aux antibiotiques

Les taux de résistance de nos souches de Proteus aux AM et AMC (**57,14%**) des taux voisins sont rapportés aussi dans l'étude (**chablou ., 2011**) AM (**63%**), AMC (**60%**) La résistance aux triméthoprime+ sulfaméthoxazole(SXT) est de **71,43%** plus élevée que celle rapportée dans l'étude tunisienne (**Mkaouar et al., 2008**) avec un taux de (**20%**)

Morganilla morganii :

80% des souches de *Morganilla morganii* sont résistantes vis-à-vis aux l'Ampicilline et Amoxicilline+ acide clavulanique, Gentamicine(GM), Triméthoprim+sulfamides (SXT), colistine(CS), la résistance aux Ticarcilline(TIC) est de 60% et 20% pour Ofloxacine(OFX), aucune résistance n'a été notée pour céfalotaxime(CTX), Netilmicine(NET), l'Imipénème (IPM).

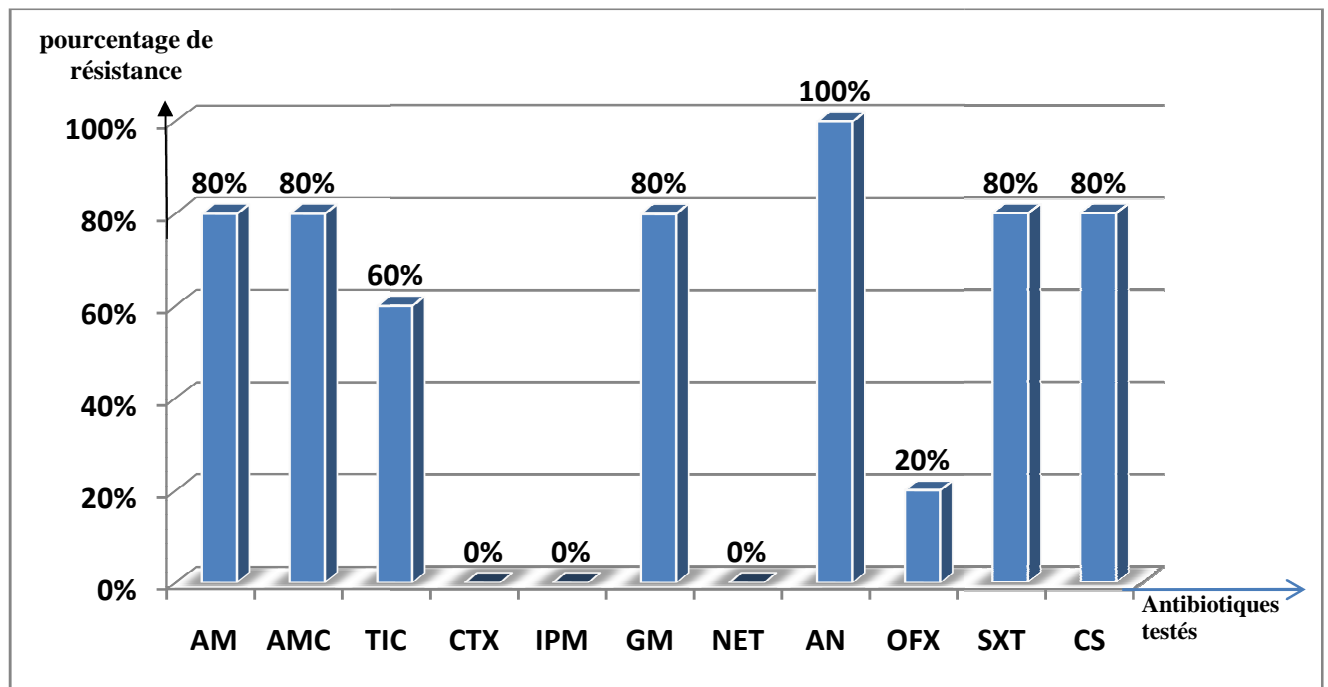


Figure n°9: Résistance de *Morganilla morganii* aux antibiotiques

Enterobacter :

Toutes les souches isolées d'*Enterobacter cloacae* étaient résistantes (100%) aux l'Ampicilline(AM) Amoxicilline+ acide clavulanique (AMC), Triméthoprim+sulfamides (SXT),Nitrofuranes (FT), Elles sont moins résistantes pour céfoxitine (FOX)et céfotaxime (CTX) (50%)et 100% des souches d'*Enterobacter cloacae* étaient sensibles aux Gentamicine (GM) et Amikacine (AN).

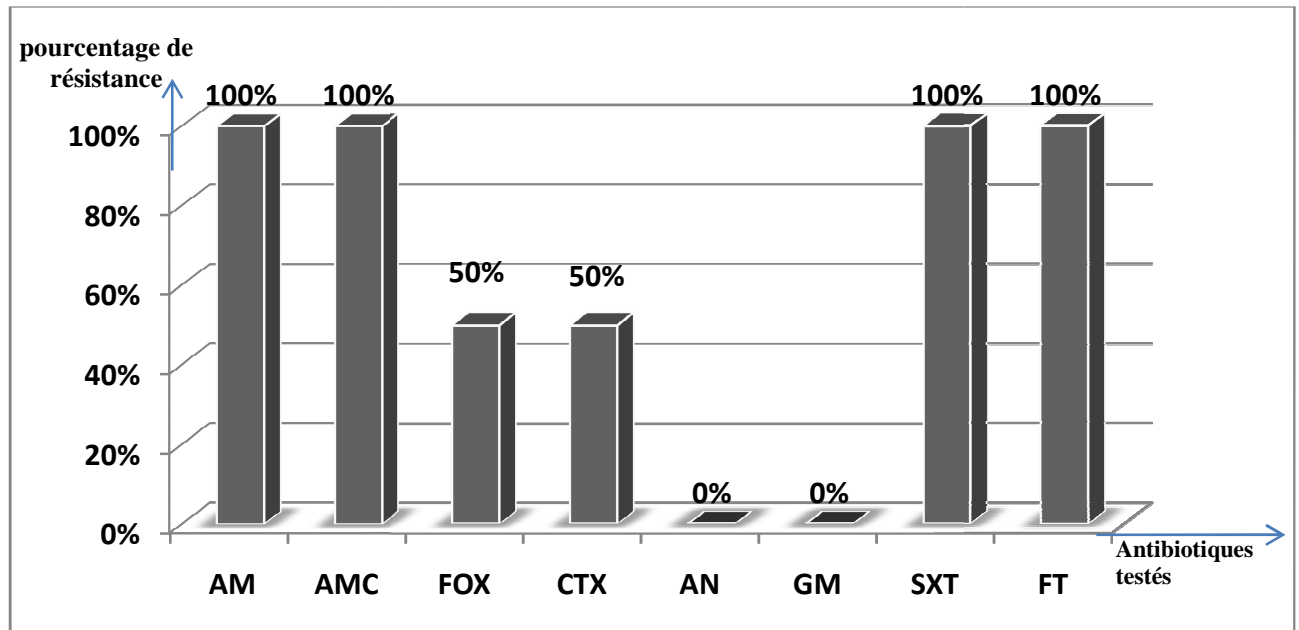


Figure n°10 : Résistance de *Enterobacter cloacae* aux antibiotiques

D'après les chercheurs ; *Enterobacter cloacae* est un germe qui colonise souvent les patients hospitalisés et peut être à l'origine d'infections cutanées. Il peut également être responsable de bactériémies, et c'est un pathogène dont l'incidence en milieu hospitalier a considérablement augmenté ces dernières années (Anonyme 2013). La communauté médicale américaine a récemment décrite la guerre contre les *Enterobacter* en raison d'évolution de leur résistance vis-à-vis les antibiotiques dans les milieux hospitalières (Boyer et al., 2011).

Klebsiella spp :

La résistance des souches de *Klebsiella spp* était de 83,33% pour l'Ampicilline(AM), 66,67% pour amoxicilline-acide clavulanique, Elles sont moins résistantes pour Céfalexine (CN), la résistance de ces souches pour Nétilmicine(NET),Amikacine(AN),Triméthoprime+sulfamides (SXT),Ciprofloxacine(CIP), céfoxitine (FOX) est respectivement de **16,66%,16,66%,33,33%,33,33%,20%**. Alors que la sensibilité était de 100% pour céfalotaxime(CTX), l'Impénème (IPM).

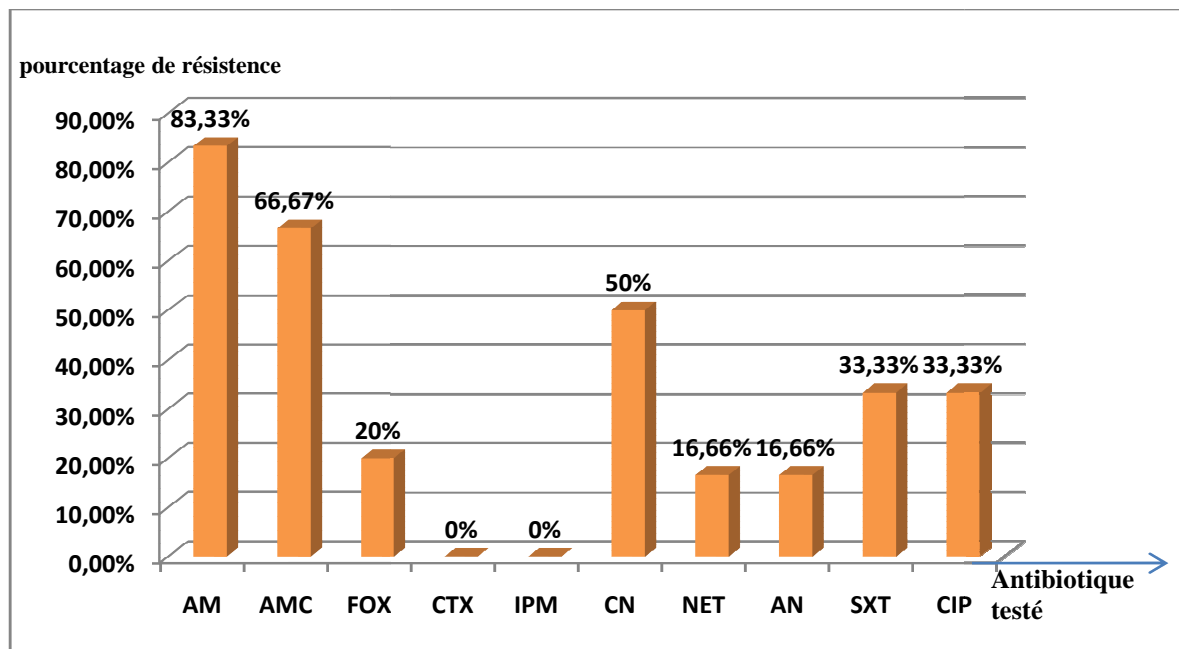


Figure n°11: Résistance de *Klebsiella spp* aux antibiotiques

Les taux de résistance de nos souches de *Klebsiella spp* aux antibiotiques sont proches de ceux rapportés dans l'étude (Abir.,2013), seulement pour Cefoxitine (FOX) la résistance de nos souches est de 20% ,elle est de 0% .

Pour les Pseudomonas aeruginosa :

Les souches de Pseudomonas aeruginosa étaient **100%** résistantes à la Tétracycline (TE), et **83,33%** des souches sont résistantes aux triméthopime + Sulfamides (SXT), Rifampicine (RA). Et **16,67%** pour Ticarcilline+Acide clavulanique , Gentamicine (GM), Alors que la sensibilité était de **100%** pour Amikacine (AN), Tobramycine (TM), piperacilline(PIP) et ceftazidime (CAZ)

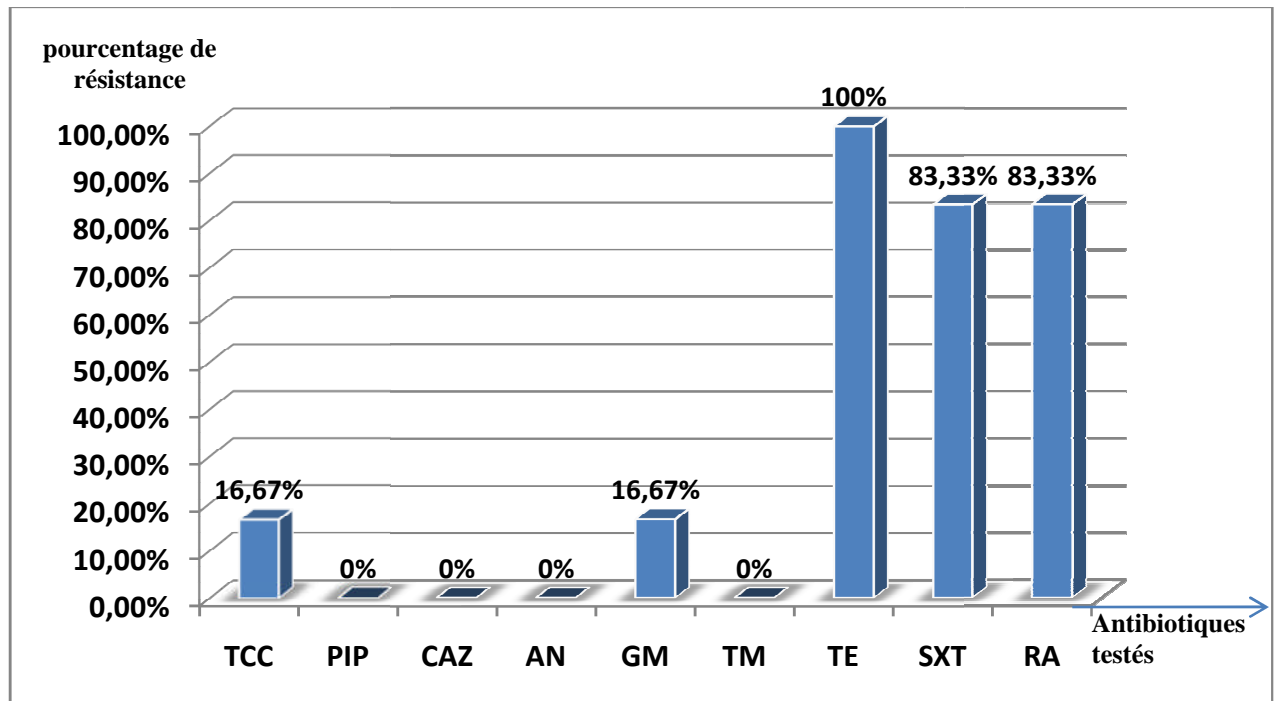


Figure n°12: Résistance de pseudomonas aeruginosa aux antibiotique

l'étude de (Chablou., 2011), a rapporté un pourcentage de résistance aux piperacilline(PIP) est de (30%)et de (35%) pour Amikacine (AN) plus élevée que nos résultats

• Pour les Staphylococcus aureus :

Une résistance très élevée au pénicilline (p)(84,62%) et une sensibilité très élevée vis-à-vis aux Gentamicine(GM) et Amikacine (AN)et Pristinamycin(PT), Levofloxacin (LVX) (7,69%), 30,77% des souches sont résistantes aux (l'oxacilline), fusidique (FA) et tétracycline (TE), La résistance de ces souches pour Triméthoprime+sulfamides (SXT), clinndamycine(CM), Erythromycine (E) est respectivement de 15,38% ,38,46% , 23,08%. une sensibilité totale aux vancamycine (VA) et Rifampicine(RA).

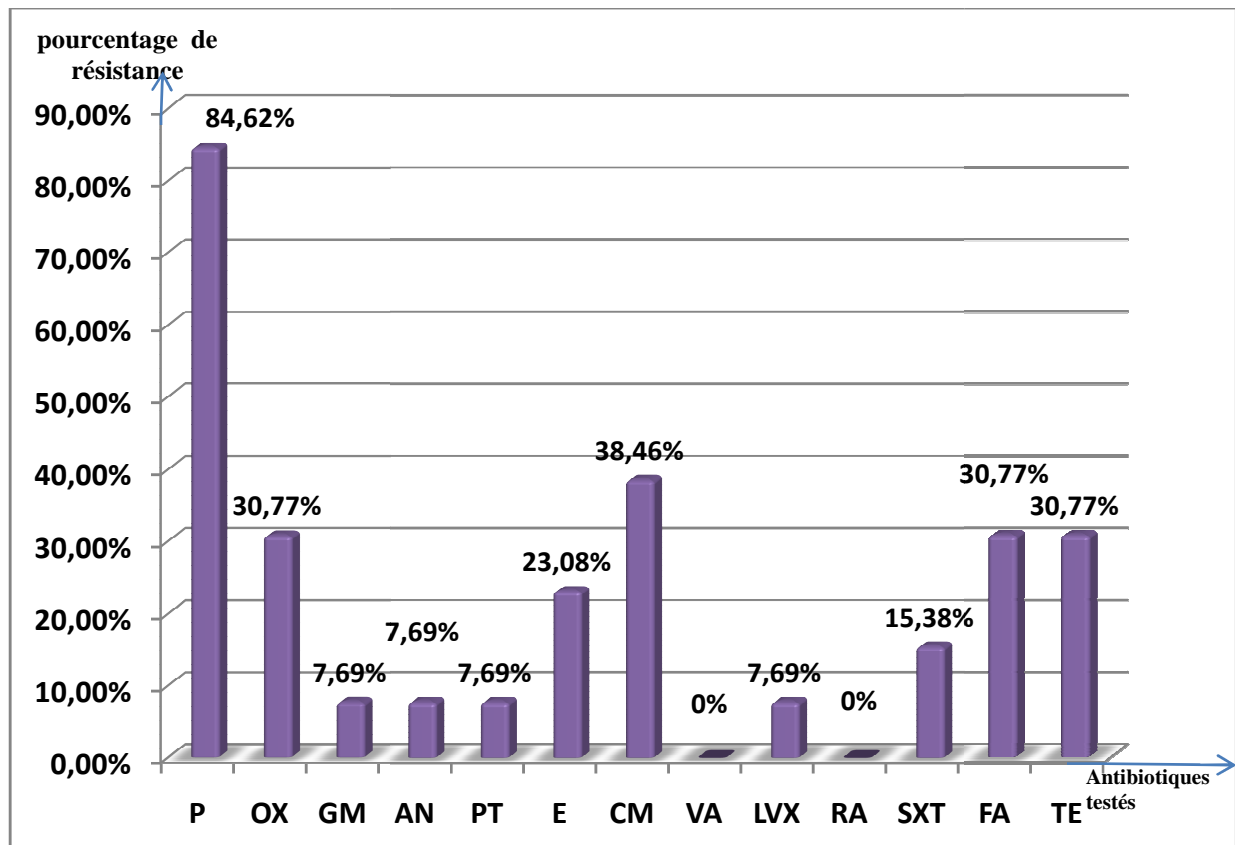


Figure n°13: Résistance de staphylococcus aureus aux antibiotiques

Plus de 80% de nos souches de staphylococcus aureus sont résistantes à la pénicilline des taux voisins sont rapportés par Chaalal .,2013 (74%)

Les taux de résistance de nos souches de staphylococcus aureus aux antibiotiques sont proches de ceux rapporté dans l'étude Chaalal .,2013, seulement pour Gentamicine (0%).

Pour les Streptococcus sp :

La résistance des souches de streptococcus sp était élevée pour la pénicilline(p), Tétracycline(TE), clinndamycine(CM) (60%), 40% des souches sont résistante l'Erythromycine (E), Rifampicine (RA),et une sensibilité très élevée aux pristinamycine (PT), aucune résistance n'a été notée pour l'Ampicilline(AM), vancomycine(VA) et Levofloxacine (LUV),Nitrofuranes(FT)

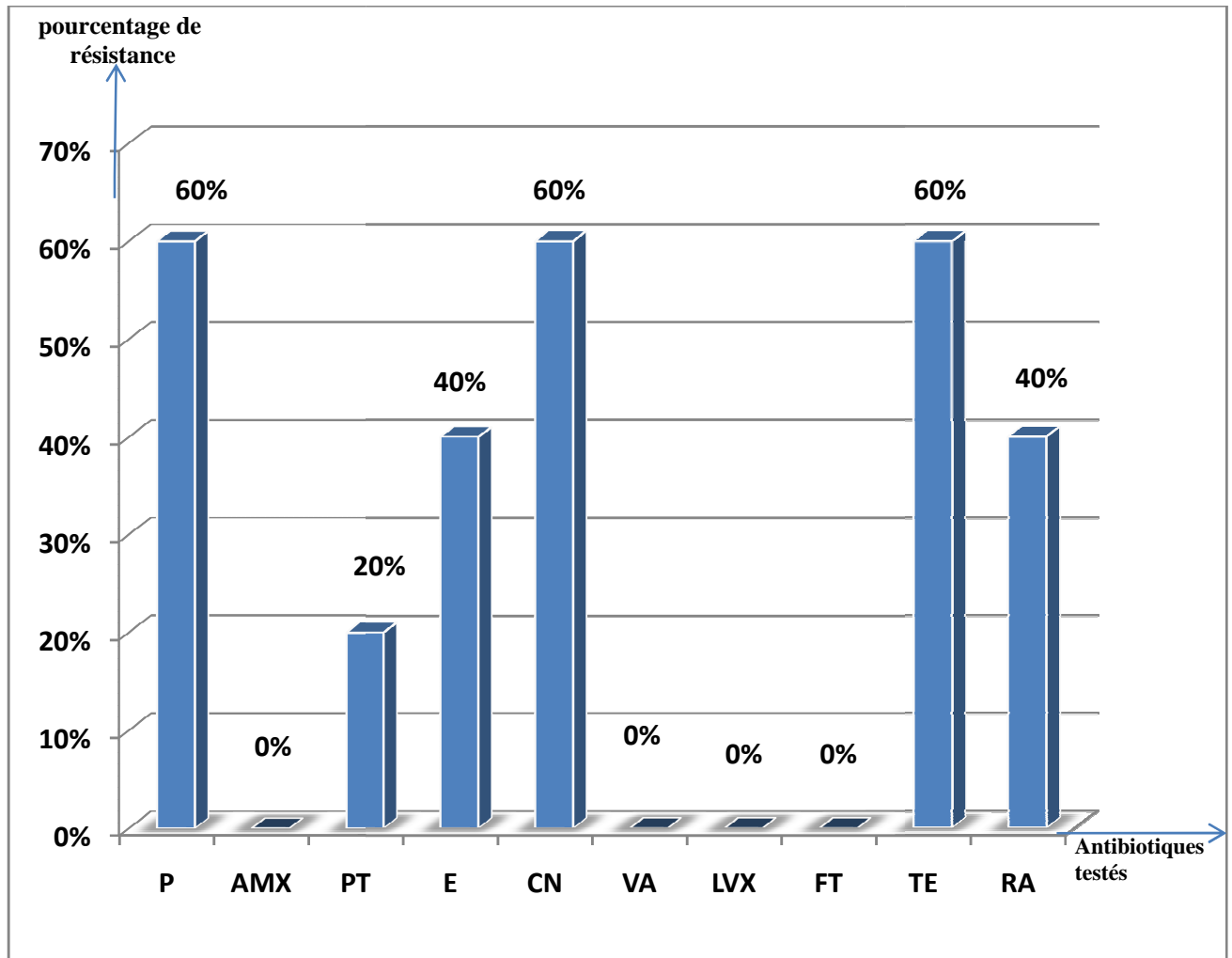


Figure n°14: Résistance des streptococcus sp aux antibiotiques

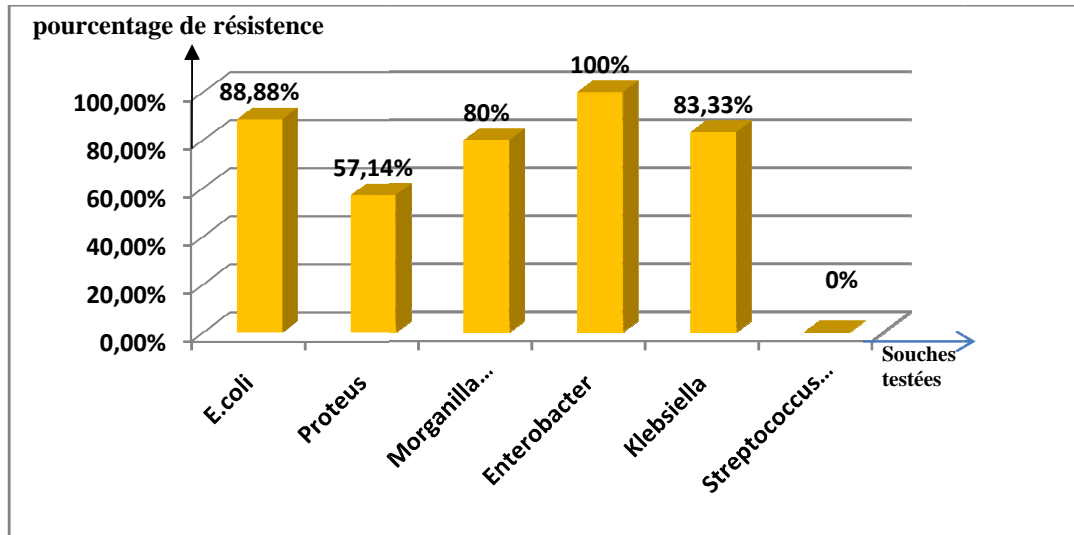


Figure n° 15 : Résistance des souches aux l'ampicilline(AM).

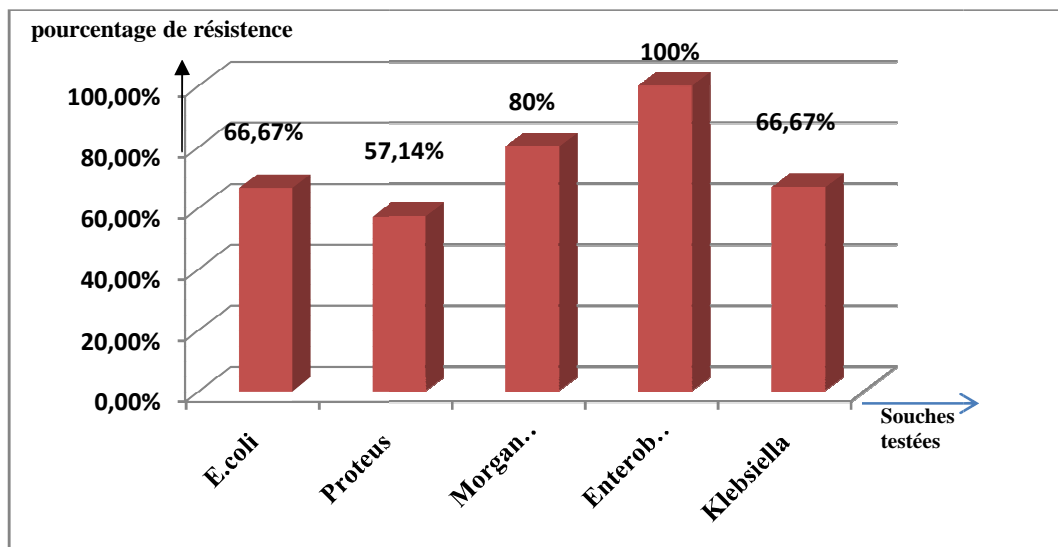


Figure n° 16 : Résistance des souches aux l'Amoxicilline+AC.clavulanique (AMC)

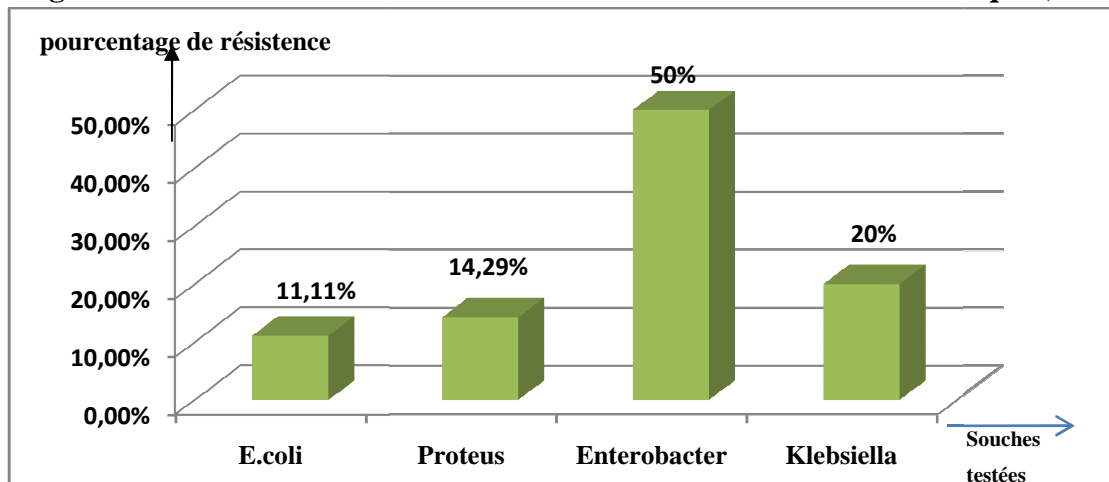


Figure n°17 : Résistance des souches aux Céfoxitine (FOX).

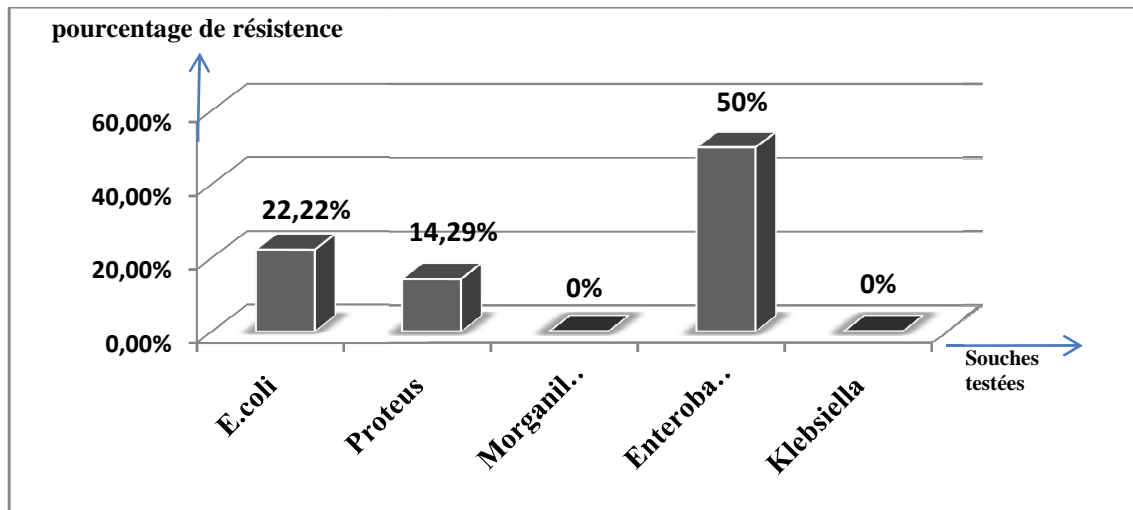


Figure n°18: Résistance des souches aux Céfotaxime(CTX).

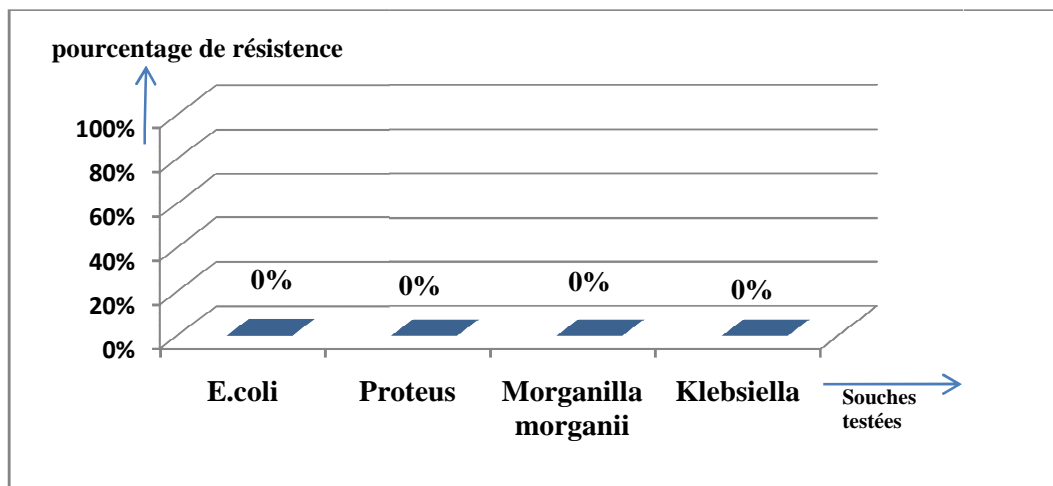


Figure n°19: Résistance des souches aux l'Imipénème (IPM).

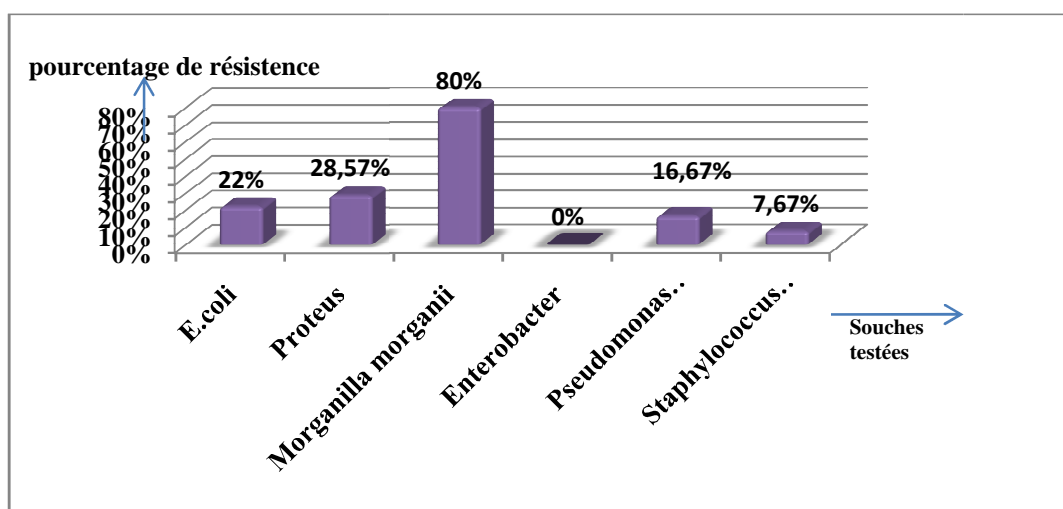


Figure n°20 : Résistance des souches aux Gentamicine(GM).

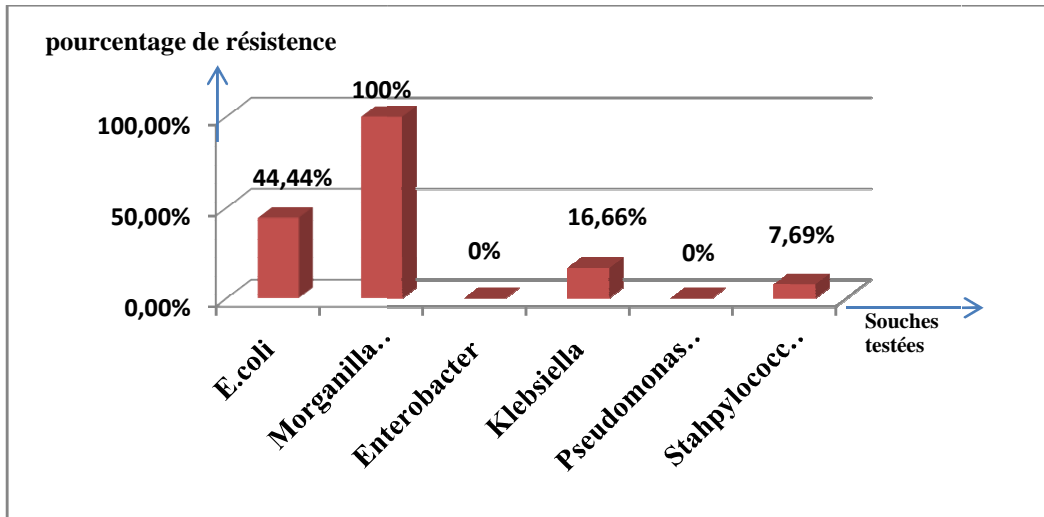


Figure n°21 :Résistance des souches aux Amikacine (AN).

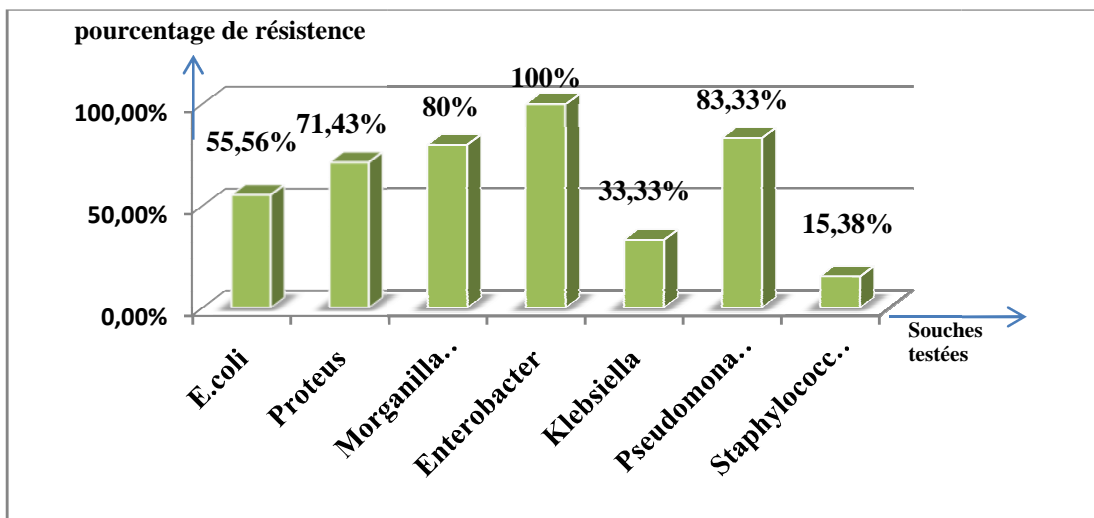


Figure n°22 :Résistance des souches aux triméthoprime+ sulfaméthoxazole(SXT)

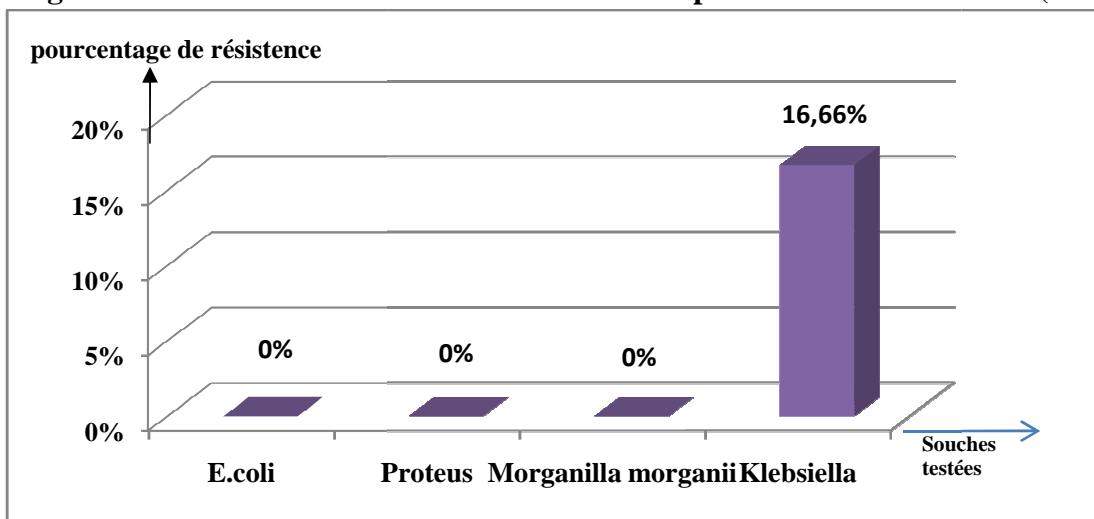


Figure n°23: Résistance des souches aux Nétilmicine (NET).

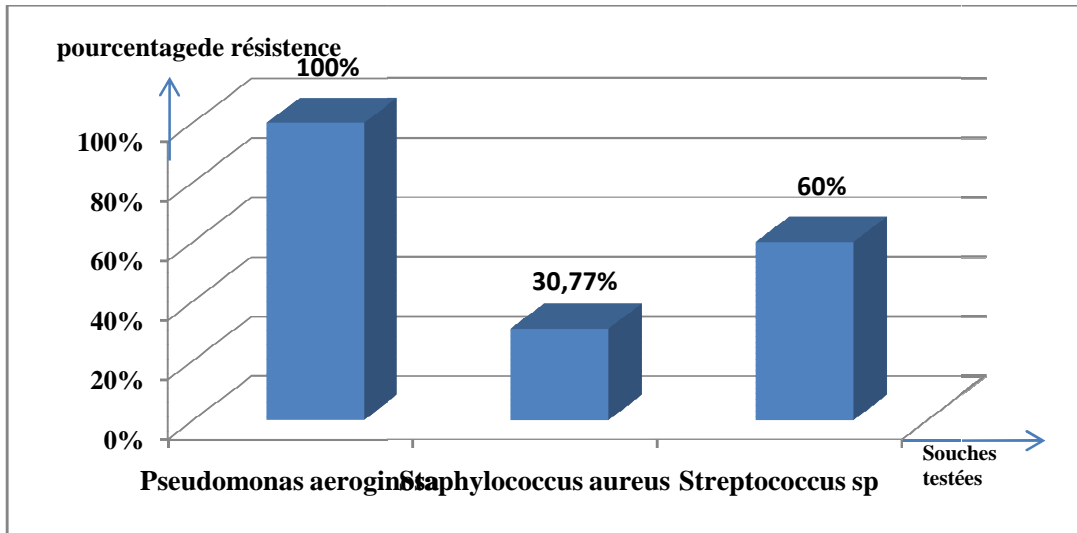


Figure n°24 : Résistance des souches aux Tétracycline (TE).

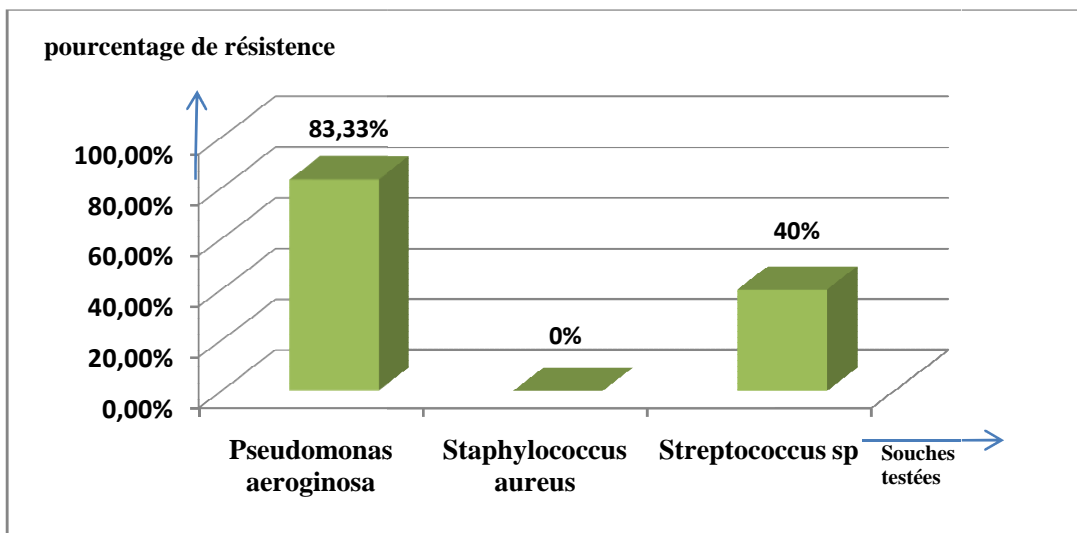


Figure n°25: Résistance des souches aux Rifampicine (RA).

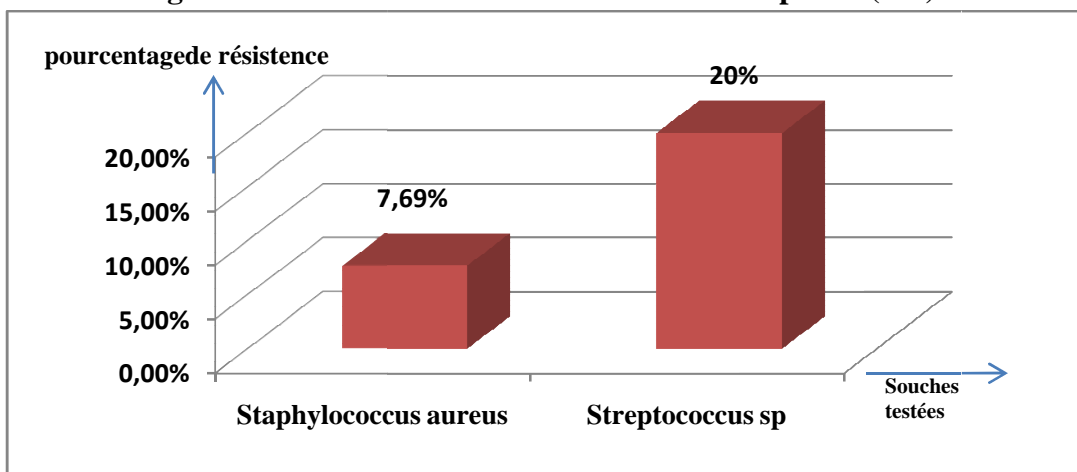


Figure n°26 : Résistance des souches aux Levofloxacin (LVX).

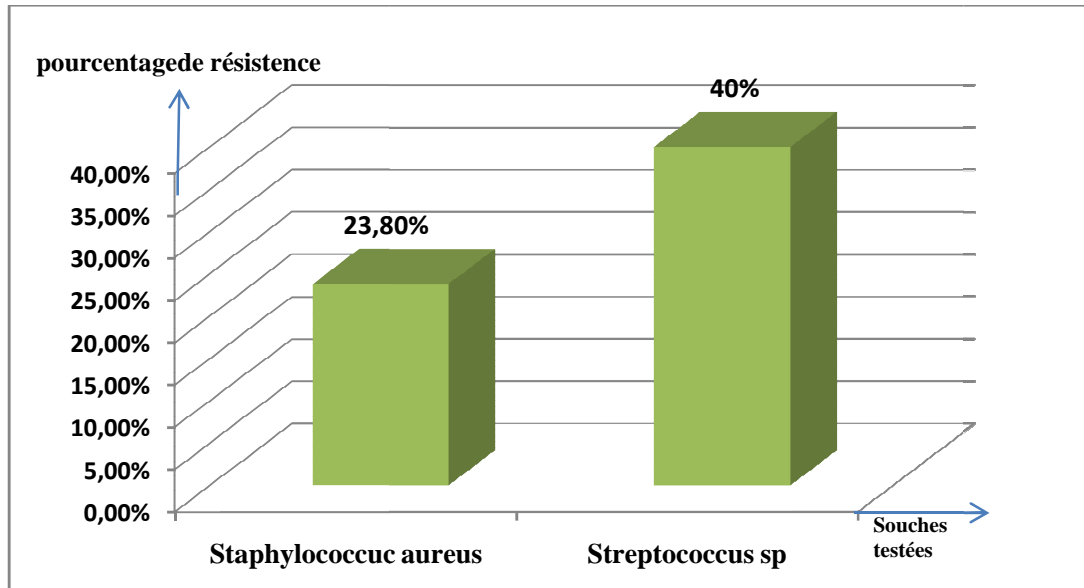


Figure n°27: Résistance des souches aux Erythromycine (E).

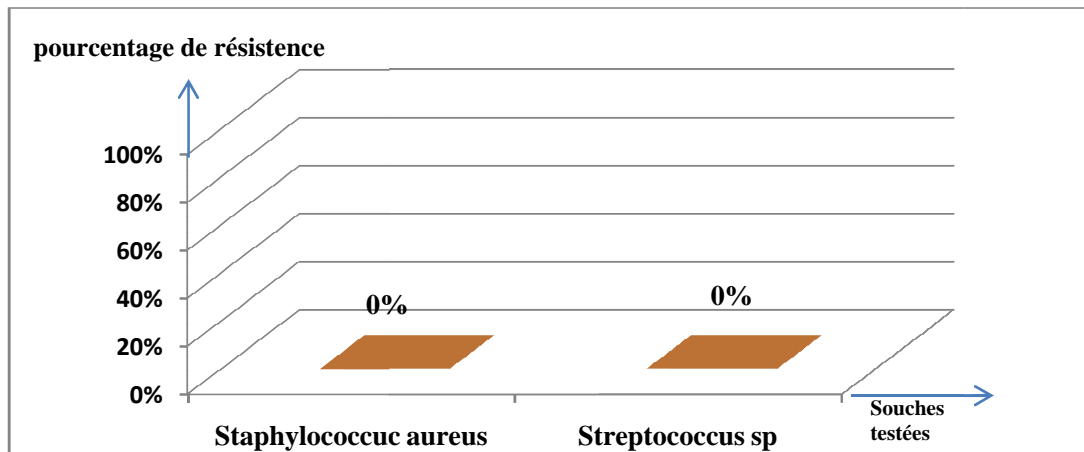


Figure n°28: Résistance des souches aux vancomycine(VA).

Après l'analyse de résistance des germes vis-à-vis des antibiotiques, on peut conclure que :

- Pour l'Entérobacter l'ATB administré est Gentamicine(GM), Amikacine (AN).
- l'Imipénème (IPM) et Nétilmicine (NET) elle est administrée pour E.coli.et Proteus.
- Céfotaxime(CTX), l'Imipénème (IPM) et Nétilmicine (NET) elle est administrée pour Morganilla morganii .
- Céfotaxime(CTX), l'Imipénème (IPM) elle est administrée pour Klebsiella sp.
- Amikacine (AN) elle est administrée pour Pseudomonas aeroginasa
- l'ampicilline(AM), vancomycine(VA) elle est administrée pour Stréptococcus sp.
- Rifampicine (RA), vancomycine(VA) elle est administrée pour Staphylococcus aureus.

❖ Conclusion :

Notre étude a été réalisée au niveau d'EPH Ibrahim Trichine Blida durant la période de mois de février au moins de juin 2014 , qui a apporté sur l'analyse cytot bactériologique de **51** prélèvements de pus issu des patients diabétiques souffrant des infections des pieds, **37** prélèvements sont révélés positifs, (avec un pourcentage de **72,55%**) et **14** prélèvements sont révélés négatifs (avec un pourcentage de **27,45%**).

L'examen cytot bactériologique de pus chez les patients diabétiques est une étape très importante, il apporte des informations utiles pour le choix des antibiotiques a fin d'avoir une bonne antibiothérapie

Nous avons notés :

-Une prédominance d'infection bactérienne chez les diabétiques, ce-la-est due à un déséquilibre glycémique.

-les risques infectieux augmentent avec l'âge.

-les diabétiques de type II sont plus susceptibles aux infections de pied que les diabétiques de type I.

-la prédominance des entérobactéries avec un taux de **54,72%** suivi par l'espèce Staphylococcus aureus, avec un pourcentage de **24,52%** et l'espèce de Pseudomonase aérogenosa avec un taux de **11,36%**.

-L'antibiogramme des germes testées montre une résistance importante au B-lactamine et une sensibilité de la plus part des souches aux aminosides.

Recommandation :

Obtention d'un bon équilibre glycémique.

Chez les diabétiques à risque podologique, c'est-à-dire ayant une artérite au une neuropathie, il est essentiel d'examiner les pieds et les chausseurs à chaque consultation.

Les diabétiques doivent accepter les règles d'hygiène et de prophylaxie séchage de pied, faire attention aux blessures, et avoir un régime alimentaire équilibré.

Tableau n° 1 : les principales classes d'Antibiotiques en fonction de leur mode d'action :

famille	Antibiotiques	Signe	Mode d'action
B-lactamines	Amoxicilline Cefalexine Cefoxitine Pénicilline Oxacilline Cefotaxime Cefazoline Ampicilline	AMX CN FOS P OX CTX CZ AM	Inhibent la dernière étape de la synthèse du peptidoglycane.
Aminosides	Amikacine Streptomycine Kanamycine Gentamicine	AN S K GN	Inhibent la synthèse protéique
Quinolones	Ofloxacine Acide nalidaxique Péfloxacine	OFX NA PEF	Inhibent la réplication de l'ADN
Tétracyclines	Tétracycline	TE	Inhibition de la synthèse protéique
Phénicoles	Chloramphénicol	C	Inhibition de la synthèse protéique
Sulfamides	Triméthoprime + sulfamides	SXT	Bloquent la synthèse des acides nucléique
Macrolides	Erytromycine Clindamycine Pristinamycine	E CM PT	Bloquent l'élongation de la chaîne polypeptidique
Nitrofuranes	Nitrofurane	FT	Agissent sur les membranes bactériennes
Divers	Rifampicine Vancomycine Acide fusidique	RA VA FA	Blocage de la transcription de l'ADN.

(Canu et Françoise, 2001)

Tableau n°3 : principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques :

Antibiotiques	Mécanisme de résistance	Bactéries concernés
B-lactamines	B-lactamase	<u>Staphylocoques,</u> <u>Entérobactéries</u>
	Modification des PLP cibles ribosomales	<u>Pneumocoques,</u> <u>Pseudomonas, Heamophilus</u>
Chloramphénicol	Acétylation	Gram + et Gram -
Aminosides	Modification des protéines cibles ribosomales	<u>Streptocoques</u>
	Enzymes d'inactivation	<u>Staphylocoques,</u> <u>Entérobactéries</u>
Rifampicine	Mutation de l'ARN polymérase	Gram + et Gram -
Macrolides	Méthylation de l'ARN t	Gram +
Quinolones	Modification de l'ADN gyrase	Gram + et Gram -
Tétracyclines	Efflux	Gram + et Gram -

(Fauchère et Avril, 2002)

Tableau n°9 : caractères biochimiques des bacilles à Gram négatifs :

Tableau n°9 : caractères biochimiques des bacilles à Gram négatifs :

Espèces Caractères	E.coli	Klebsella pneumoniae	Klebsella ozeanae	Klebsella oxytoca	Ptoteus mirabilis	Morganella morganii	Enterobacter cloacae	Pseudomonas aeruginosa
ONPG	+	+	+	+	-	-	+	-
ADH	d	-	-	-	-	-	+	-
LDC	d	+	d	d	-	-	-	-
ODC	d	-	d	d	+	+	+	-
Citrate	-	+	+	+	d	-	+	+
Uréase	-	+	-	±	-	+	-	-
TDA	-	-	-	-	+	+	-	-
Indole	+	-	-	+	-	+	-	-
VP	-	+	-	+	-	-	+	-
Mannitole	+	+	+	+	-	-	+	-
Mobilité	±	-	-	-	+	+	+	+
Saccharose	d	+	+	+	-	-	+	-
Lactose	+	+	+	+	-	-	+	-
Gaz	+	+	+	+	-	+	+	-
H ₂ S	-	-	-	-	+	-	-	-
MEVAG	Aéro-anaérobie facultatif	Aéro-anaérobie facultatif	Aéro-anaérobie facultatif	Aéro-anaérobie facultatif	Aéro-anaérobie facultatif	Aéro-anaérobie facultatif	Aéro-anaérobie facultatif	Aérobie strict
Catalase	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxydase	-	-	-	-	-	-	-	+

(Le Minor et Viron, 1990)

Tableau n°9 : caractères biochimiques des bacilles à Gram négatifs :