

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

**Université de Blida 1**



**Faculté des sciences de la nature et de la vie**

**Département de biologie**

**Mémoire de fin d'étude**

**En vue de l'obtention du diplôme de master en Biologie**

**Option : Microbiologie**

**Sous le thème**

**Identification et étude du profil de résistance des  
bactéries isolées à partir de divers prélèvements  
pathologiques**

**Soutenu le : 13/07/2022**

**Réalisé par :**

- **M<sup>lle</sup>. HENNI Faiza**
- **M<sup>lle</sup>. LARADJ Sarah Narimaine**
- **M<sup>lle</sup>. BESKRA Manel Hidayet**

**Devant le jury :**

<b>Mme ZEROUTI K.</b>	<b>MCB</b>	<b>Université Blida -1</b>	<b>Présidente</b>
<b>Mme BOKRETA S.</b>	<b>MCB</b>	<b>Université Blida -1</b>	<b>Examinatrice</b>
<b>Mme HAMAIDI F.</b>	<b>Pr</b>	<b>Université Blida -1</b>	<b>Promotrice</b>
<b>Mme OUAHCHIA C.</b>	<b>MAB</b>	<b>Université Blida -1</b>	<b>Co-Promotrice</b>

**Promotion : 2021 - 2022**

## Remerciements

Dans un premier temps on remercie le bon Dieu, le tout puissant, de nous avoir donné la santé, la volonté et la patience pour mener à terme notre formation de master et de pouvoir réaliser ce mémoire.

Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements à l'ensemble du membre de jury :

Nous tenons à gratifier

**Mme. Zerouti K**

D'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.

Nous adressons nos vifs remerciements à

**Mme. Bokreta S**

Pour l'intérêt qu'elle a porté à notre travail en acceptant de l'examiner et de le juger.

Nous remercions également notre promotrice

**Mme. Hamaidi** et notre Co-promotrice **Mme. Ouhchia**

Pour leur encadrement, orientation et pour la confiance qu'elles nous ont témoignée tout au long de ce travail.

Nous remercions beaucoup

**Mr. Tefahi**

Pour son aide et son soutien.

Nos remerciements vont aussi à l'encontre

**Dr. Skander et Pr. Benslama**

Nous remercions énormément

Les doctorants **Mr. Boutekfa, Mr. Sebsi et Mme Henni.**

Enfin, nous adressons nos sincères sentiments de gratitude et de reconnaissance à nos familles et à toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

## Dédicace

Du profond de mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers,

### À ma chère mère

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices. Puisse Dieu, le très haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

### À mon père

Ce travail est dédié à mon père, qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études. Grâce à toi papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Je voudrais te remercier pour ton amour, ta générosité, ta compréhension.

### À mes chères sœurs Fatima Zohra, Abir et Feriel

Merci énormément pour votre soutien plus que précieux. Merci pour votre grand cœur toutes vos qualités qui seraient trop longues à énumérer. Ma vie ne serait pas aussi magique sans vos présences et votre amour.

### À mes trinômes Sarah et Manel

### À toute la promotion de microbiologie 2021 - 2022

Je t'aime de tout mon cœur.

Faiza



## Dédicace

Grace à dieu le tout puissant qui m'a aidé a traversé cette belle aventure universitaire, couronnée par un mémoire de fin d'étude.

**Je dédié ce modeste travail aux deux êtres les plus chers au monde mes parents, ma source d'énergie.**

Grâce à toi papa j'ai appris le sens de la responsabilité, Mama j'ai appris de toi le sens du sacrifice et à faire face à la vie dans tous ces sens.

**A ma sœur chérie**

Qui m'a toujours supporté dans mes moments les plus difficiles.

**A mon grand-père chérie Rabi yrahmo**

Qui aujourd'hui serait très content de sa petite sarssoura.

**A ma grande mère hanounna**

Qui n'a pas cessé de m'encourage et de me rappeler à chaque fois de ne pas baissé les bras.

**A mes petits frères Mehdi et Anes**

Que dieux les gardent pour moi

**Mes tante hannounatti, et mes oncles**

**Je dédié aussi ce travail à mes amis Faiza et Manel**

Avec qui j'ai fait un beau parcours sur le travail de ce mémoire puisse dieux les aider dans la réussite de leurs vies.

**A toute la promo de microbiologie 2021 - 2022.**

**Et enfin à tous ceux qui me sont chers.**

Sarah Narimaine



## Dédicace

Je dédie ce modeste travail

### **A ma Très Chère Mère**

Source inépuisable de tendresse, de patience et de sacrifice. Ta prière et ta Bénédiction m'ont été d'un grand secours tout au long de ma vie. Quoique je puisse dire et écrire, je ne pourrais exprimer ma grande affection et ma profonde reconnaissance. Puisse Dieu tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et Bonheur.

### **A mon Très Cher Père**

Pourriez-vous trouver dans ce travail le fruit de toutes vos peines et tous de vos efforts. En ce jour, j'espère réaliser l'un de tes rêves. Aucune dédicace ne saurait exprimer mes respects, ma reconnaissance et mon profond amour.

Puisse Dieu vous préserver et vous procurer santé et bonheur.

### **A mes deux Frères Mohamed et Mehdi et mes Sœurs Affef, Amina et Yousra**

Aucune dédicace ne peut exprimer la profondeur des sentiments fraternels et d'amour, d'attachement que j'éprouve à votre égard. Puisse dieu vous protéger, garder et renforcer notre fraternité.

**À Bibisha**, mon cher chat, nous nous rencontrerons au paradis, inchaallah.

**Mon neveu Wael**, mon bien-aimé, que Dieu te protège et prenne soin de toi.

### **A mes trinômes Sarah et Faiza**

**A toute la promotion de microbiologie 2021 - 2022**

Qu'Allah vous accorde le succès à vous tous.

Manel Hidayet



## Liste des tableaux

<b>Tableau I.</b> Corrélations clinico-bactériologiques entre les pathogènes habituellement identifiés et les types de plaies.....	4
<b>Tableau II.</b> Souches de référence utilisées.....	24
<b>Tableau III.</b> Total de prélèvements recueillis.....	25
<b>Tableau IV.</b> Résultats des tests de catalase et d'oxydase.....	60
<b>Tableau V.</b> Résultats d'identification biochimique des Entérobactéries.....	61
<b>Tableau VI.</b> Résultats des tests de confirmation de <i>S. aureus</i> .....	63
<b>Tableau VII.</b> Nombre des bactéries isolées à partir des urines selon l'espèce.....	63
<b>Tableau VIII.</b> Répartition globale des différentes espèces isolées à partir du pus.....	65
<b>Tableau IX.</b> Résultats des tests complémentaires.....	80

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Mécanismes d'action des antibiotiques.....	17
<b>Figure 2</b> : Différents mécanismes de résistances aux antibiotiques.....	19
<b>Figure 3</b> : Résistance par modification de la cible.....	20
<b>Figure 4</b> : Résistance par inactivation enzymatique.....	21
<b>Figure 5</b> : Résistance par mécanisme d'efflux.....	22
<b>Figure 6</b> : Méthode de prélèvement du pus par écouvillonnage.....	26
<b>Figure 7</b> : Etapes d'un Examen cytobactériologique des urines (ECBU).....	27
<b>Figure 8</b> : Etapes d'un Examen cytobactériologique du pus (ECBP).....	27
<b>Figure 9</b> : Technique d'ensemencement.....	29
<b>Figure 10</b> : Organigramme d'identification des BGN fermentaires.....	30
<b>Figure 11</b> : Organigramme d'identification des BGN non fermentaires.....	31
<b>Figure 12</b> : Organigramme d'identification de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	32
<b>Figure 13</b> : Technique de coloration de Gram.....	34
<b>Figure 14</b> : Présentation de la galerie API 20 E.....	35
<b>Figure 15</b> : Antibiogramme par méthode de diffusion.....	43
<b>Figure 16</b> : Répartition des prélèvements urinaires selon le sexe.....	47
<b>Figure 17</b> : Répartition des prélèvements urinaire selon les tranches d'âge.....	48
<b>Figure 18</b> : Taux de prélèvements urinaires positifs .....	48
<b>Figure 19</b> : Répartition des prélèvements urinaires positifs selon le sexe .....	49
<b>Figure 20</b> : Répartition des prélèvements de pus selon le sexe.....	50
<b>Figure 21</b> : Répartition des prélèvements de pus selon l'âge.....	51
<b>Figure 22</b> : Taux de prélèvements de pus positifs .....	51
<b>Figure 23</b> : Répartition des prélèvements de pus positifs selon le sexe.....	52
<b>Figure 24</b> : Répartition des résultats positifs selon le type de culture.....	53
<b>Figure 25</b> : Observation microscopique à l'état frais .....	54
<b>Figure 26</b> : Frottis coloré au bleu de méthylène.....	54
<b>Figure 27</b> : Aspect macroscopiques des différentes espèces d'entérobactéries .....	56
<b>Figure 28</b> : Aspect des colonies sur milieu chromogène .....	57

<b>Figure 29</b> : Aspect des colonies de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	58
<b>Figure 30</b> : Aspect des colonies de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	58
<b>Figure 31</b> : Réparations des résultats selon la coloration de Gram.....	59
<b>Figure 32</b> : Résultats de coloration de Gram .....	59
<b>Figure 33</b> : Résultat du test de coagulase.....	60
<b>Figure 34</b> : Galerie classique de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	62
<b>Figure 35</b> : Résistance des entérobactéries isolées à partir des urines aux antibiotiques.....	67
<b>Figure 36</b> : Résultats de l'étude de l'antibiorésistance des souches d' <i>E. coli</i> isolés à partir des urines.....	67
<b>Figure 37</b> : Résultats de l'étude de l'antibiorésistance des souches de <i>K. pneumoniae</i> isolées à partir des urines.....	68
<b>Figure 38</b> : Résultats de l'étude de l'antibiorésistance des souches de <i>P. mirabilis</i> isolées à partir des urines.....	69
<b>Figure 39</b> : Résultats de l'étude de l'antibiorésistance des souches de <i>S. aureus</i> isolés à partir des urines.....	70
<b>Figure 40</b> : Résistance des entérobactéries isolées à partir du pus aux antibiotiques.....	71
<b>Figure 41</b> : Zones d'inhibition des Entérobactéries par les antibiotiques testés.....	71
<b>Figure 42</b> : Résultats de l'étude de l'antibiorésistance des souches de <i>P. mirabilis</i> isolées à partir du pus.....	72
<b>Figure 43</b> : Résultats de l'étude de l'antibiorésistance des souches de <i>P. vulgaris</i> isolées à partir du pus.....	73
<b>Figure 44</b> : Résultats de l'étude de l'antibiorésistance des souches d' <i>E. coli</i> isolées à partir du pus.....	74
<b>Figure 45</b> : Résultats de l'étude de l'antibiorésistance des souches de <i>Klebsiella spp</i> isolées à partir du pus.....	75
<b>Figure 46</b> : Résultats de l'étude de l'antibiorésistance des souches de <i>Serratia spp</i> isolées à partir du pus.....	76
<b>Figure 47</b> : Résultats de l'étude de l'antibiorésistance des souches de <i>P. aeruginosa</i> isolées à partir du pus.....	78
<b>Figure 48</b> : Zones d'inhibition des souches de <i>P. aeruginosa</i> par les antibiotiques testés.....	78
<b>Figure 49</b> : Résultats de l'étude de l'antibiorésistance des souches de <i>S. aureus</i> isolés à partir du pus.....	79
<b>Figure 50</b> : Zones d'inhibition des souches de <i>S. aureus</i> par les antibiotiques testés.....	79
<b>Figure 51</b> : Résultats des tests complémentaires chez les entérobactéries.....	81

<b>Figure 52</b> : Résultat de test de synergie chez <i>P. aeruginosa</i> .....	82
<b>Figure 53</b> : Résultats de test de détection de la résistance inductible à la clindamycine.....	82
<b>Figure 54</b> : Résultat de test de screening.....	83

## Liste des abréviations

**ADH** : Arginine déshydrogénase

**AMC** : Amoxicilline + acide clavulanique

**AMX** : Amoxicilline

**AMP** : Ampécilline

**AT** : Aztréoname

**AK** : Amikacine

**BGN** : Bacilles à Gram négatif

**BGT** : Bouillon tamponné

**BHIB** : Brain heart infusion

**C3G** : Céphalosporines de troisième génération

**CAZ** : Céfotazidime

**CIT** : Citrate

**CTX** : Céfotaxime

**CIP** : Ciprofloxacine

**COT** : Trémithoprime + sulfémoxazol

**CX** : Céfoxitine

**CZ** : Céfazoline

**CD** : Clindamycine

**CN** : Gentamycine

**C** : Chloramphénicol

**DO** : Densité optique

**E** : Erythromycine

**EBLSE** : Entérobactéries productrices de  $\beta$ - lactamases à spectre élargi

**ECBU** : Examen cytobactériologique des urines

**ECBP** : Examen cytobactériologique du pus

**EPH** : Etablissement Public Hospitalier

**FC** : Acide fusidique

**GSF** : Gélose au sang frais

**GEL** : Gélatinase

**GN** : Gélose nutritif

**H<sub>2</sub>S** : Thiosulfate de sodium

**LE** : Levofloxacin

**IMP** : Imipénème

**IND** : Indole

**LDC** : Lysine décarboxylase

**LPS** : Lipopolysaccharides

**McF** : Mac Farland

**MSA** : Mannitol salt agar (gélose Chapman)

**MH** : Muller Hinton

**NA** : Acide nalidixique

**ODC** : Ornithine décarboxylase

**ONPG** : L'orthonitrophényl-β-galactoside (ou 2-nitrophényl-β-D-galactopyrannoside)

**OX** : Oxacilline

**PLP** : Protéine liant la pénicilline

**PC** : Pépiracilline

**P** : Pénicilline

**RIF** : Rifampicine

**TE** : Tétracycline

**TC** : Ticarcilline

**TCC** : Ticarcilline + acide clavulanique

**TOB** : Tobramycine

**TDA** : Tryptophane désaminase

**UI** : Infection urinaire

**URE** : Urée

**VP** : Voges-Proskauer

**VA** : Vancomycine

## Résumé

Les bactéries sont à l'origine de réels problèmes de santé publique pour leur implication dans de nombreuses maladies. La résistance aux antibiotiques est devenue l'un des problèmes les plus importants dans le monde.

Cette étude consiste à isoler, à identifier et à étudier le profil de résistance des bactéries responsables de deux types d'infections (infection urinaire et infection du pied diabétique).

Cent dix-huit (118) prélèvements d'urines et cent cinq (105) prélèvements du pus provenant de différents établissements de santé ont été analysés au niveau du laboratoire d'hygiène de la Wilaya de Blida. Les résultats étaient positifs dans 37% des prélèvements urinaires et 90% des prélèvements du pus.

42 souches bactériennes ont été isolées à partir des prélèvements urinaires dont 90,5 % souches étaient des bactéries à Gram négatif (famille des entérobactéries) avec une prédominance d'*E. coli* (50%).

L'examen cyto bactériologique du pus a révélé que sur 111 souches pathogènes isolées 78 étaient des bactéries à Gram négatif (70,31 %) et 33 des bactéries à Gram positif (29,72%). Les espèces les plus incriminées étaient : *Staphylococcus aureus* (29,72%), *Proteus mirabilis* (21,62%) et *Pseudomonas aeruginosa* (10,81%).

L'étude de l'antibiorésistance a démontré que les souches d'*Enterobacteriaceae* isolées étaient résistantes à la majorité des antibiotiques appartenant à la famille des  $\beta$  – lactamines. Les souches de *Staphylococcus aureus* ont exprimé une résistance très élevée vis-à-vis de l'Oxacilline et de l'acide fusidique. Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* étaient totalement résistantes à la Céfotazidime et au Ticarcilline.

Les résultats de l'antibiogramme des souches isolées a permis de mettre en évidence la présence de taux élevés de résistance aux principales familles d'antibiotiques testées. Le nombre des bactéries multirésistantes était de 64 représentantes 43,79 % des isolats, dont 61,2 % des entérobactéries et 38,8% *Staphylococcus aureus*.

**Mots clés :** Bactéries, Infection urinaire, Infection du pied diabétique, antibiorésistance.

## Abstract

Bacteria are a real public health problem because of their involvement in many diseases. Their resistance to antibiotics has become one of the most important problems in the world.

This study consists of isolating, identifying and studying the resistance profile of bacteria responsible for two types of infections (urinary tract infection and diabetic foot infection).

One hundred and eighteen (118) urine samples and one hundred and five (105) pus samples from different health institutions were analysed at the hygiene laboratory of the Wilaya of Blida. The results were positive in 37% of urine samples and 90% of pus samples.

42 bacterial strains were isolated from the urine samples of which 90.5% were Gram-negative bacteria (family Enterobacteriaceae) with a predominance of *E. coli* (50%).

Cytobacteriological examination of the pus revealed that out of 111 pathogenic strains isolated 78 were Gram-negative bacteria (70.31%) and 33 Gram-positive bacteria (29.72%). The most incriminated species were: *Staphylococcus aureus* (29.72%), *Proteus mirabilis* (21.62%) and *Pseudomonas aeruginosa* (10.81%).

The antibiotic resistance study showed that the Enterobacteriaceae strains isolated were resistant to the majority of antibiotics belonging to the  $\beta$ -lactam family. *Staphylococcus aureus* strains expressed very high resistance to Oxacillin and fusidic acid. *Pseudomonas aeruginosa* strains were fully resistant to Ceftazidime and Ticarcillin.

The antibiogram results of the isolated strains showed high levels of resistance to the main families of antibiotics tested. The number of multiresistant bacteria was 64 representing 43.79% of the isolates, including 61.2% of enterobacteriaceae and 38.8% *Staphylococcus aureus*.

**Key words:** Bacteria, Urinary tract infection, Diabetic foot infection, antibiotic resistance.

## ملخص

تعد البكتيريا من اهم مصادر مشاكل الصحة العامة وذلك بسبب مشاركتها في العديد من الأمراض. حيث أصبحت مقاومتها للمضادات الحيوية واحدة من أكبر المشاكل في العالم.

تهدف هذه الدراسة الى عزل وتحديد ودراسة خصائص مقاومة البكتيريا المسؤولة عن نوعين من العدوى (عدوى المسالك البولية وعدوى القدم السكرية).

تم تحليل مائة وثمانية عشر (118) عينة بول ومائة وخمسة (105) عينة قيح اخذت من مؤسسات صحية مختلفة في مختبر النظافة. كانت النتائج إيجابية في 37% من عينات البول و90% من عينات القيح.

تم عزل 42 سلالة بكتيرية من عينات البول منها (90.5%) بكتريا سالبة الجرام (فصيلة Enterobacteriaceae) والنسبة الأكبر كانت لبكتريا *E. coli* (50%).

أظهر فحص عينات القيح أنه من أصل 111 سلالة ممرضة تم عزلها، 78 كانت سالبة الجرام (70.3%) و33 موجبة الجرام (29.72%). الأنواع الأكثر انتشارا هي: *Staphylococcus aureus* (29.72%) , *Proteus mirabilis* (21.62%) و *Pseudomonas aeruginosa* (10.81%).

أظهرت دراسة مقاومة المضادات الحيوية أن سلالات المعوية المعزولة كانت مقاومة لمعظم المضادات الحيوية التي تنتمي إلى عائلة بيتا-لاكتام. تُظهر سلالات المكورات العنقودية الذهبية مقاومة عالية جدًا للأوكساسيلين وحمض الفوسيديك. كانت سلالات *Pseudomonas aeruginosa* مقاومة تمامًا لـ Ticarcillin و Ceftazidime.

اظهر تحليل نتائج المضادات الحيوية للسلالات المعزولة وجود معدلات مقاومة عالية للعائلات الرئيسية للمضادات الحيوية المدروسة. كان عدد البكتيريا متعددة المقاومة 64 تمثل 43.79% من العزلات منها 61.2% من البكتيريا المعوية و 38.8% *Staphylococcus aureus*

**الكلمات المفتاحية:** البكتيريا، عدوى المسالك البولية، عدوى القدم السكرية، مقاومة المضادات الحيوية.

# ***Introduction***

De nombreuses maladies humaines sont dues à l'action d'agents pathogènes microscopiques (**Bertholom, 2016**).

Les infections urinaires et les infections du pied diabétique restent très fréquentes, elles posent un problème de prise en charge thérapeutique vu leur fréquence, leur récurrence et la fragilité du terrain sur lequel elles interviennent. Leur caractère est souvent poly ou monocrobie et multirésistant aux antibiotiques (**Ouerdane et al., 2012**).

Dans ce contexte, la lutte contre l'antibiorésistance apparaît essentielle. Cette résistance ne peut pas être totalement éliminée, mais il est impératif de prévenir les sociétés de prendre des mesures afin de limiter ce phénomène (**Sophie, 2014**).

Les infections urinaires se produisent lorsque des bactéries uropathogènes se logent dans le tractus urinaire et le colonisent (**Mach et al., 2020**). Ce sont les infections bactériennes les plus communes, elles touchent près de 250 millions de personnes chaque année dans le monde (**Isnard, 2015**).

Chez l'adulte, c'est une cause fréquente de morbidité, située en seconde position après les infections respiratoires (**Larabi, 2003**) et imposent un fardeau économique considérable à la société (**Foxman et al., 2000**).

L'examen cytot bactériologique des urines (ECBU) est l'examen clé et le seul qui permet d'affirmer le diagnostic et de guider le traitement de l'infection urinaire (**Prakash et Ramasubramanian, 2016**).

La part importante prise par les IU dans l'ensemble des maladies infectieuses, l'évolution de l'épidémiologie et des résistances bactériennes de ces infections incitent les sociétés savantes à mettre régulièrement leurs recommandations à jour (**Bruyère et al., 2020**).

Le diabète peut être considéré comme une pandémie puisque, dans le monde, 622 millions d'individus en seront a priori atteints à l'horizon 2040 (**Lavigne et al., 2011**). Il constitue la cause cinquième de mortalité dans le monde, il est donc considéré comme un problème majeur de santé publique (**Jaacks et al., 2016**).

Les personnes diabétiques sont sujettes pour développer des plaies du pied potentiellement grave appelé « infection du pied du diabétique », qui se caractérisent par la multiplicité de souches souvent multi-résistantes (**Fourniols, 2017**). Cette infection entraîne des dégâts tissulaires avec ou sans réponse inflammatoire de l'organisme (**Semneville, 2008**).

et sont responsables de près de 70 % des amputations des membres inférieurs pouvant mettre en péril la vie du patient (**Dalibon, 2018**).

Elles sont aussi une cause non négligeable d'antibiothérapie non justifiée et participe à ce titre à l'aggravation de la résistance bactérienne et son extension au travers les soins (**Ahmadishooli et al., 2020**).

Il est donc primordial de connaître l'écologie bactérienne de ces infections dans les institutions de santé pour permettre une prise en charge adéquate et un usage optimal d'antibiotique dans l'espoir de réduire l'émergence des bactéries multirésistantes (**Michalek et al., 2020**).

C'est dans ce cadre que s'inscrit cette étude et dont l'objectif principal est de rechercher, d'identifier et d'étudier le profil de résistance des bactéries responsables des infections urinaires et des infections du pied diabétique au niveau du laboratoire d'hygiène de Blida en vue d'améliorer la prise en charge, prévenir un échec thérapeutique et de diminuer le risque de mortalité tout en respectant les étapes suivantes :

- ✓ Isolement, purification et identification biochimique des bactéries en cause.
- ✓ Etablissement d'un profil de résistance des germes isolés vis-à-vis quelques antibiotiques.

# Synthèse bibliographique

## **I. MICROORGANISMES ET INFECTIONS**

### **I.1. Infections urinaires**

Les urines d'un sujet normal ne contiennent que les germes de contamination mictionnelle, soit en général moins de  $10^3$  bactéries/ml, en cas d'infection urinaire, la multiplication de bactéries dans les voies urinaires entraîne une bactériurie matinale de  $10^5$  à  $10^9$  bactéries/ml (**Dauriac, 2017**).

Une infection urinaire est définie par la présence de micro-organismes dans l'urine, qui peuvent générer une réponse inflammatoire (au moins à  $10^5$  germes par ml d'urine accompagnée d'une leucocyturie pathologique  $>10^4$  par ml d'urine) (**Prakash et Ramasubramanian, 2016**). Elle peut être situées au niveau des voies urinaires basses ou hautes (**François et al., 2013**).

La flore microbienne des infections urinaires reste stable dans le temps avec *Escherichia coli* comme chef de file. Ce dernier est le germe le plus fréquemment rencontré, quelle que soit la forme clinique (**Hakkache, 2015**). L'infection urinaire peut être communautaire ou bien nosocomiale (**Mongoyi et al., 2021**).

### **I.1.2 Infection urinaire nosocomiale (Infection liée au soin)**

Une infection nosocomiale ou une infection liée au soin est une infection qui est contractée au cours du séjour du patient dans un hôpital ou dans un autre type d'institution de soins (**Prescott et al., 2010**).

Une infection urinaire nosocomiale est acquise dans une structure de soin ou d'une manière plus générale reliée à la prise en charge du patient. Les symptômes cliniques apparaissent qu'après la 48<sup>ème</sup> heure d'hospitalisation (**Bissan, 2011**).

### I.1.3 Infection urinaire communautaire

L'infection urinaire est d'origine communautaire lorsqu'elle est acquise hors de l'hôpital (Saimi, 2014). Elle représente le second site d'infection bactérienne communautaire après l'appareil respiratoire (Briquet, 2016).

### I.2 Infections du pied diabétique

L'infection du pied diabétique est définie par une invasion tissulaire avec multiplication des microorganismes entraînant des dégâts tissulaires avec ou sans réponse inflammatoire de l'organisme (Pedgrift, 2011). Elle peut être superficielle mais avec un risque d'atteinte profonde pouvant menacer les tissus, les gaines et tendons, et surtout les structures osseuses (Pellegrini et al., 2021).

L'infection est souvent polymicrobienne et de diffusion rapide. Elle est favorisée par le déséquilibre glycémique qu'elle aggrave et l'artériopathie qui empêche l'apport des facteurs anti-infectieux circulant dans le sang des patients (cellules, médiateurs chimiques, antibiotiques) (Pedgrift, 2011). La nature du pathogène influe directement sur le type de la plaie du pied et sa gravité notamment (Tableau I).

**Tableau I.** Corrélations clinico-bactériologiques entre les pathogènes habituellement identifiés et les types de plaies

Type de plaie du pied	Pathogènes
Plaie superficielle récente sans antibiothérapie récente	Streptocoques $\beta$ -hémolytiques <i>Staphylococcus aureus</i>
Plaie chronique ( $\geq 1$ mois) Plaie antérieurement traitée par des antibiotiques	Streptocoques $\beta$ -hémolytiques <i>Staphylococcus aureus</i> Entérobactéries
Plaie traitée par des céphalosporines d'évolution défavorable	Entérocoques
Lésion macérée	<i>Pseudomonas sp</i> (fréquemment en association avec d'autres bactéries)

Plaie de longue durée (ulcère $\geq$ 6 mois) Traitement antérieur par des antibiotiques à large spectre	Association de cocci à Gram positif aérobies ( <i>Staphylococcus aureus</i> , streptocoques $\beta$ hémolytiques, staphylocoques à coagulase négative, entérocoques) et de bacilles à Gram négatif (entérobactéries, bacilles à Gram négatif non fermentatifs, <i>Pseudomonas sp.</i> ) $\pm$ corynébactéries, $\pm$ <i>Candida sp</i>
Odeur nauséabonde, Nécrose, Gangrène	Cocci à Gram positif aérobies, Entérobactéries, Bacilles à Gram négatif non fermentatifs ( <i>Pseudomonas sp</i> ) Anaérobies stricts

(Lipsky, 2004)

## II. APERÇU SUR QUELQUES GROUPES DE MICROORGANISMES

### II.1. Bacilles à Gram négatif fermentaires

#### II.1.1 Famille des *Enterobacteriaceae*

Les Entérobactéries sont des bacilles à Gram négatif, aéro-anaérobies facultatifs. Cette famille renferme un nombre très élevé de genres et d'espèces.

##### II.1.1.2 Taxonomie

Domaine : Bactéria

Phylum : Protéobacteria

Ordre : Enterobacteriales

Famille : *Enterobacteriaceae* (Madigan et Martinko, 2007).

**Genre** : Les genres de cette famille sont regroupés en cinq tribus, d'après leurs propriétés fermentatives : *Escherichiae*, *Klebsielleae*, *Salmonelleae*, *Proteae*, *Yersinia*, *Erwiniae*.

**Espèce** : 130 espèces sont actuellement répertoriées. Les espèces les plus communément isolées en bactériologie clinique appartiennent aux genres : *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella* et *Yersinia* (Khayar, 2011).

##### II.1.1.2 Habitat et pouvoir pathogène

Les entérobactéries sont des hôtes du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux où ils sont retrouvés soit à l'état de pathogène soit à l'état de commensaux, mais cette localisation digestive n'est pas exclusive. Leur abondance dans l'intestin, leur mobilité, la rapidité de leur multiplication, l'acquisition fréquente de mécanismes de résistance aux antibiotiques expliquent qu'elles soient les bactéries les plus souvent impliquées en pathologie infectieuse humaine surtout en milieu hospitalier (Jan, 2020 ; Bouguenoun, 2017).

On les retrouve également dans l'environnement où ils participent à la dégradation des matières organiques, à l'altération des plantes suite à des nécroses, à une dégénérescence ou à un ramollissement (Dembélé, 2020).

### **I.1.1.3 Caractères bactériologiques**

#### **✚ Caractères morphologiques**

Les entérobactéries sont des bacilles à Gram négatif. Leur dimension varie de 2 à 3 µm de long et de 0,3 à 1 µm de large. Ils sont non sporulés et peuvent être capsulés (*Klebsiella*), le plus souvent mobiles grâce à une ciliature péritriche. Certains genres comme *Klebsiella* et *Shigella* sont immobiles. La plupart des espèces pathogènes pour l'homme possèdent des facteurs d'adhésion soit fimbriae ou pili communs (**Gadou, 2019**).

Les entérobactéries se définissent par des antigènes de paroi « somatiques » ou antigènes O. Ils sont composés de lipopolysaccharides (LPS) complexes, très toxiques dite endotoxine bactérienne, qui est thermostable et résiste à l'alcool et à l'acide (**Denis et al., 2016**).

D'autres entérobactéries mobiles possèdent en plus des antigènes de flagelle (« flagellaires ») ou antigènes H. Ils possèdent un antigène d'enveloppe ou antigène K de nature polysaccharidique. Ils masquent l'agglutination par les anticorps anti O qui peut être restituée après chauffage de la souche car ils sont détruits par ébullition de deux heures. Ce sont des antigènes de surface (**Denis et al., 2016**).

#### **✚ Caractères cultureux**

Les entérobactéries se développent rapidement *in vitro* sur des milieux ordinaires, en aéro-anaérobie (18-24h), sauf les genres *Yersinia* et *Shigella* qui nécessitent au moins 48 heures d'incubation. La température optimale de croissance est de 35 à 37 °C.

Pour la plupart des espèces, les colonies formées sont habituellement lisses, brillantes, de structure homogène (type « smooth »). Après cultures successives, on peut avoir des colonies à surface sèche rugueuse (type « rough ») (**Khayar, 2011**).

On distingue 5 types de colonies :

- ✓ Colonies S (smooth) : arrondies, lisses, humides, blanches ou translucides.
- ✓ Colonies R (rugueuses) : sèches à contours irréguliers et mates (bactéries vieilles ou anormales).
- ✓ Colonies M (muqueuses) : grosses colonies ± confluentes (*Klebsiella spp*).
- ✓ Colonies envahissantes ou nappantes : formation d'un tapis uniforme (*Proteus*).

- ✓ Colonies naines : elles s'observent avec des souches déficientes dans certaines de leurs chaînes métaboliques. Elles ne sont pas exceptionnelles chez les *Escherichia coli* isolées des infections urinaires. (Akel, 2014).

### **Caractères biochimiques**

Les entérobactéries se définissent par leur pouvoir fermentaire du glucose avec ou sans production de gaz et réduisent les nitrates en nitrites ; sauf certaines souches d'*Erwinia* et *Yersinia*. Elles ne produisent pas d'oxydase et possèdent une catalase ; sauf *Shigella dysenteriae* sérotype 1. Ces caractères permettent de différencier les entérobactéries des autres bacilles à Gram négatif qui peuvent être cultivés sur des milieux ordinaires (Denis et al., 2016).

#### **I.1.1.3 Principaux genres impliqués**

##### ➤ *Escherichia coli*

*E. coli* ou colibacille est une bactérie asporulée mesurant 2 à 4 µm de long sur 0,4 à 0,6 µm de large. C'est une bactérie fine et allongée à extrémités arrondies, mobile grâce à une ciliature péritriche, catalase positive et oxydase négatif. Elle se développe en 24 heures à 37°C sur les milieux gélosés en donnant des colonies rondes, lisses, à bords réguliers, de 2 à 3 mm de diamètre, non pigmentées. Sur les milieux lactosés, les colonies sont généralement lactose positif. Sur gélose au sang, elles peuvent être hémolytiques (Gadou, 2019).

##### ➤ *Klebsiella spp*

Les Klebsielles sont des bacilles à Gram négatif, se présentant de manière isolée, groupés en diplobacilles ou en courtes chaînettes. Elle se distingue par son immobilité constante, asporogène, capsulée (Belbel, 2013).

Sur le plan médical, *Klebsiella pneumoniae* est la plus importante. C'est un habitant naturel du microbiome du tractus gastro-intestinal de l'homme et des animaux en bonne santé. Il s'agit d'un pathogène opportuniste associé à l'hôpital, représentant environ un tiers de toutes les infections à Gram négatif. Il est impliqué dans les infections extra-intestinales, y compris les infections des voies urinaires, la cystite, les pneumonies, les infections des plaies chirurgicales et les infections potentiellement mortelles, telles que l'endocardite et la septicémie (Navon-Venezia et al., 2017).

➤ ***Citrobacter spp***

Il s'agit de bacilles ou de coccobacilles Gram négatif et facultativement anaérobiques de 0,6 à 6 µm de long et de 0,3 à 1 µm de diamètre dont la mobilité est assurée par des flagelles péritriches. Les bactéries du genre *Citrobacter* fermentent le mannitol et produisent du H<sub>2</sub>S gazeux. Elles utilisent le citrate de sodium comme unique source de carbone. Le genre peut être divisé en 43 sérogroupes O selon l'antigène O du lipopolysaccharide (LPS) et en 20 groupes selon la composition en sucres du LPS (**Knirel et al., 2002**).

➤ ***Proteus spp***

Les *Proteus* sont des bacilles à Gram négatif polymorphes leur taille est de 0,4 à 0,8 µm de diamètre et 1,0 à 3,0 µm de longueur, très mobiles, non sporulés, non-capsulés. Ce ne sont pas des bactéries exigeantes. Elles poussent sur des milieux ordinaires, et produisent des cellules de forme allongées abondamment couvertes de flagelles. En milieu gélosé, les *Proteus* peuvent envahir la surface du milieu et présentent une odeur désagréable caractéristique (odeur pourrie) (**Cattoir et al, 2016**).

Les *Proteus* se distinguent facilement des autres entérobactéries par leurs caractères biochimiques à savoir : uréase très active, la production d'H<sub>2</sub>S, possèdent une gélatinase et leur faible pouvoir glucidolytique avec une résistance naturelle à la colistine (**Pepperell et al., 2002**).

Les espèces du genre *Proteus* sont le plus souvent considérées comme pathogènes chez les enfants et opportunistes chez les personnes âgées et immunodéprimées. On les rencontre dans les infections urinaires chroniques, dans les méningites du nourrisson, parfois dans des septicémies (**Knirel et al., 2002**).

➤ ***Serratia spp***

Les *Serratia* sont des bâtonnets Gram négatif avec une longueur de 0,5 à 0,8 et une largeur de 0,9 à 2,0. Mobiles par des flagelles péritriches et non endospores, certaines souches de *Serratia spp* sont capables de produire un pigment connu sous le nom de prodigiosine, dont la couleur varie du rouge foncé au rose, en fonction de l'âge des colonies. Ce genre comporte actuellement dix espèces dont *S. marcescens* est l'espèce la plus fréquente au sein de ce genre (90 % des isollements humains) (**Khanna et al., 2013**).

Chez l'homme, *S. marcescens* est la plus couramment isolée des infections des voies urinaires, des infections des plaies, de la pneumonie nosocomiale, des plaies chirurgicales et des infections de la circulation sanguine, principalement chez les patients des unités de soins intensifs (**Fedrigo et al., 2011**).

Les *Serratia* opposent une résistance naturelle aux antibiotiques polypeptidiques et sont d'ailleurs très souvent polyrésistantes, ce qui explique leurs isollements de plus en plus à l'hôpital (**Batah, 2016**).

➤ *Providencia spp*

Les *Providencia spp* sont des bacilles Gram négatif, mobiles qui ne fermentent pas le lactose (**Randall, 2009**). Contrairement aux autres entérobactéries, toutes ces espèces possèdent des enzymes (le tryptophane désaminase et la phénylalanine désaminase), constituant ainsi un test idéal pour leur identification (**Pepperell et al., 2002**).

Ce sont des pathogènes opportunistes responsables d'infections urinaires en particulier chez les patients hospitalisés, les personnes portant des sondes urinaires à long terme et les personnes âgées dans les établissements de soins (**Wie, 2015**).

➤ *Enterobacter*

Les *Enterobacter spp* sont des germes qui colonisent souvent les patients hospitalisés et plus particulièrement ceux traités par des antibiotiques. Ils ont été associés à des épidémies nosocomiales et sont considérés comme des pathogènes opportunistes (**Davin-Regli et al., 2019**).

Les facteurs qui influencent la pathogénicité et la virulence d'*Enterobacter spp* ne sont pas bien élucidés (**Cunningham et al., 2018**).

## **II.2 Bacilles à Gram négatif non fermentaires**

### **II.2.1. *Pseudomonas aeruginosa***

*Pseudomonas aeruginosa* fait partie de la famille des *Pseudomonaceae*. C'est un bacille Gram négatif, non fermentatif. Un pathogène opportuniste responsable d'infections nosocomiales graves et mortelles chez les personnes immunodéprimées et d'infections chroniques chez les patients atteints de mucoviscidose et chez les diabétiques (**Lister et al., 2009**).

### **II.2.1 Taxonomie**

Domaine : Bacteria

Phylum : Proteobacteria

Classe : Gammaproteobacteria

Ordre : Pseudomonadales

Famille : *Pseudomonadaceae*

Genre : *Pseudomonas* (Delarras, 2014).

### **II.2.2 Habitat et pouvoir pathogène**

*P. aeruginosa* est un germe hydrotellurique, présent essentiellement dans les environnements humides. C'est une bactérie ubiquitaire et résistante dans l'environnement, répandue dans les eaux polluées ou non, les sols humides et les végétaux où elle vit à l'état saprophyte. *P. aeruginosa* peut être transitoirement présent chez l'homme et les animaux, au niveau du tractus digestif (selles), de la peau (plis cutanés humides), du conduit auditif externe ou du nasopharynx (Delarras, 2014).

Dans les infections communautaires, elle est responsable principalement de bronchopneumopathies évoluant sur un mode chronique dans la mucoviscidose et les affections respiratoires dues à la dilatation des bronches, d'otites externes, d'endophtalmies après traumatisme, d'infections cutanées dans les ulcères (Delarras, 2014).

Dans les infections nosocomiales, elle est impliquée dans les pneumopathies chez les malades sous respirateur, les infections urinaires chez les malades sondés, les infections cutanées secondaires à des brûlures, les infections ostéoarticulaires sur matériel (Fuentefria et al., 2011).

### II.2.3 Caractères bactériologiques

#### ✚ Caractères morphologiques

Il s'agit d'un bacille à Gram négatif de 1 à 3  $\mu\text{m}$  de long et de 0,5 à 0,8  $\mu\text{m}$  de large. *P. aeruginosa* est une bactérie dépourvue de spores et de capsules, mobile grâce à la présence d'un flagelle mono-triche polaire (Delarras, 2014).

#### ✚ Caractères cultureux

Le bacille pyocyanique est une bactérie à besoins très limité et en croissance sur des milieux synthétiques simples. Elle pousse facilement à 37 °C pendant 24 heures, Elle peut croître entre 5 et 42°C avec un optimum de 30 °C. Par contre, elle supporte de moindres variations de pH (6,5 à 7,5) avec un pH optimal de 7,2 (Saussereau, 2013).

C'est une bactérie aérobie possédant un métabolisme oxydatif, mais en absence d'oxygène elle peut utiliser les nitrates comme accepteur d'électrons (Cottalorda, 2020). Elle est caractérisée par une odeur florale (Flandrois, 1997).

#### ✚ Caractères biochimiques

C'est une bactérie dépourvue d'enzymes dégradant le lactose et dégageant une odeur de raisin ou seringa (Flandrois, 1997).

*P. aeruginosa* produit deux types de pigments (fluorescent ou non) qui servent à son identification, ils peuvent être mis en évidence dans les milieux de King B et King A :

- **Pyoverdine** : pigment jaune-vert fluorescent, soluble dans l'eau, insoluble dans le chloroforme.
- **Pyocyanine** : (phénazinique) pigment bleu-vert non fluorescent soluble dans l'eau et le chloroforme, *Pseudomonas aeruginosa* est la seule espèce à le produire (Delarras, 2007).

## **II.3 Cocci à gram positif**

### **II.3.1 *Staphylococcus aureus***

Les staphylocoques sont des Cocci à Gram positif qui tendent à se regrouper en amas. Ils produisent une catalase et sont aéro-anaérobie facultatifs et immobiles. *Staphylococcus aureus* (ou staphylocoque doré) est une espèce qui occupe une place très importante dans les infections communautaires et nosocomiales (Denis et al., 2016).

#### **II.3.1.1 Taxonomie**

Domaine : Bacteria

Phylum : Firmicutes

Classe : Bacilli

Ordre : Bacillales

Famille : *Staphylococcaceae*

Genre : *Staphylococcus* (Delarras, 2007)

#### **II.3.1.2 Habitat et pouvoir pathogène**

C'est une bactérie très répandue chez l'homme et dans de nombreuses espèces animales. Chez l'homme environ un tiers des sujets sont des porteurs sains qui hébergent la bactérie au niveau des muqueuses et des zones cutanées humides (Hadji et al., 2020).

Les infections à *S. aureus* sont très fréquentes et apparaissent sous des aspects cliniques très variées. Elles sont suppuratives, nécrotiques ou entériques (Fongoro, 2022).

#### **II.3.1.3 Caractères bactériologiques**

##### **Caractères morphologiques**

C'est une bactérie immobile, non sporulée qui ne possède pas de capsule visible au microscope optique sauf dans de très rares souches, d'autres sont entourées d'une pseudocapsule (Fauchère et Avril, 2002).

**✚ Caractères cultureux**

*S. aureus* est aérobie anaérobie facultatif et pousse facilement sur milieu ordinaire. Certains facteurs de croissance sont indispensables comme la vitamine B1 et l'acide nicotinique. Ce microorganisme n'exige pas de biotine ni de tryptophane. La température de croissance est de 37°C mais la culture est possible entre 10 et 45°C, avec un pH optimal de 7,5. Il produit un pigment jaune doré (Ibrahim et al., 2014).

**✚ Caractères biochimiques**

*Staphylococcus aureus* a un métabolisme aérobie prédominant et anaérobie facultatif. Ces bactéries possèdent une activité catalase, coagulas, phosphatase, ainsi que des nucléases thermostables mais pas d'oxydase. Elles sont hémolytiques, ont la capacité de liquéfier la gélatine et de fermenter de nombreux sucres comme le glucose, le saccharose, le lactose et le mannitol. Le diagnostic permettant de distinguer *S. aureus* des autres espèces est basé sur des tests réalisés sur colonies tels que l'identification du facteur agglomérant, de la coagulase, des hémolysines et de la désoxyribonucléase thermostable ou thermo nucléase (Walana et al., 2020).

### III. ANTIBIOTIQUES ET ANTIBIORESISTANCE

#### III.1. Antibiotiques

##### III.1.1 Définition

Un antibiotique (du grec *anti*, contre et *bios*, la vie) est une substance chimique naturelle, synthétique, ou semi synthétique ayant un mode d'action spécifique contre les bactéries. La majorité des antibiotiques sont des molécules naturelles, produites essentiellement par des bactéries ou certains champignons afin d'éliminer les micro-organismes sensibles (effet bactéricide) ou d'inhiber leur croissance (effet bactériostatique) (Kohanski et al., 2010).

##### III.1.2 Modes d'action des antibiotiques

La plupart des antibiotiques inhibent des voies métaboliques de la bactérie. Chaque famille d'antibiotique possède son propre site d'action (Figure 1). Selon Caruba et Jaccoulet (2015), on distingue :

###### a. Antibiotiques agissant sur la synthèse du peptidoglycane

L'action des antibiotiques permet d'empêcher la synthèse de la transpeptidase et donc celle du peptidoglycane. Après avoir inhibé la synthèse du peptidoglycane, la paroi ne peut plus être formée et la bactérie se désorganise. L'eau y entre par osmose, cela permet d'empêcher la bactérie de former de nouvelles bactéries et de détruire celles déjà présentes. Les  $\beta$ -lactamines fonctionnent de cette façon (Fleury, 2019).

- ✚ **La famille des  $\beta$ -lactamines** : Elles ont en commun un noyau  $\beta$ -lactame. On distingue :
  - ✓ *Les pénicillines* : possèdent un cycle thiazolidine accolé au noyau  $\beta$ -lactame ;
  - ✓ *Les céphalosporines (céphèmes)* : sont constituées d'un noyau  $\beta$ -lactame associé à un noyau de dihydrothiazine ;
  - ✓ *Les monobactames et les carbapénèmes*.
- ✚ **Les glycopeptides** : Ce groupe comprend la vancomycine et la teicoplanine.
- ✚ **La fosfomycine**

**b. Antibiotiques inhibant la synthèse protéique**

L'antibiotique inhibe la synthèse protéique de la bactérie en s'attaquant aux ribosomes. Il se fixe sur une des deux sous-unités (30S et 50S) des ribosomes afin d'empêcher la formation de la chaîne polypeptidique, c'est à dire de la protéine.

Les aminosides, les tétracyclines, les phénicolés, les macrolides, les lincosamides et les streptogramines sont des antibiotiques qui peuvent inhiber par différents mécanismes l'élongation de la chaîne polypeptidique chez les bactéries (**Fleury, 2019**).

**c. Antibiotiques agissant sur les acides nucléiques**

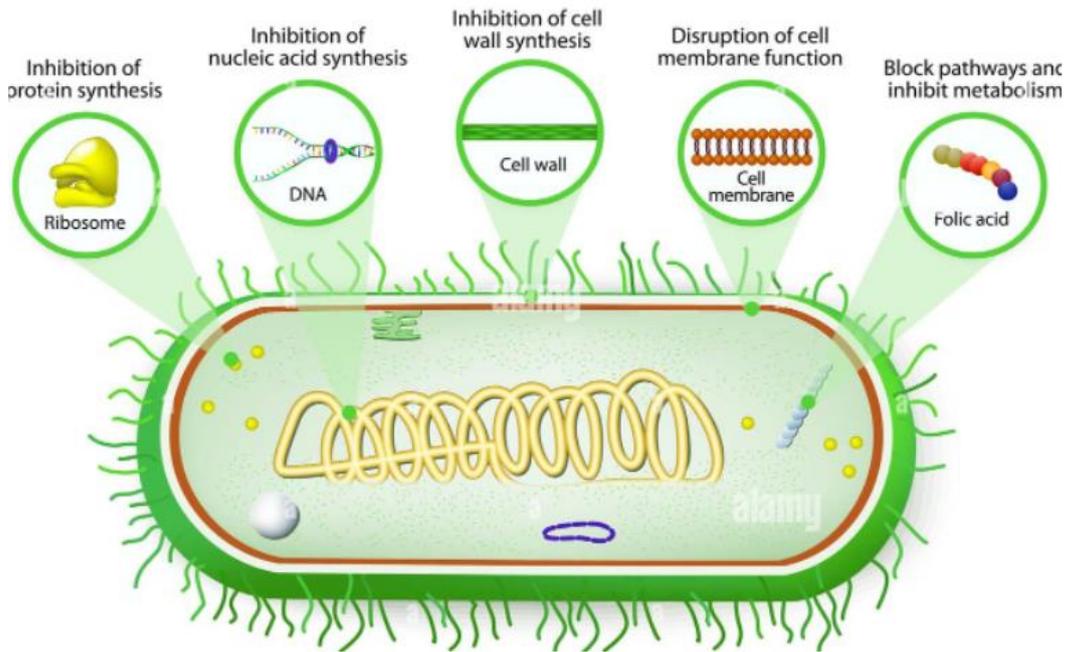
Les antibiotiques suivant ce mode d'action peuvent se fixer sur l'ADN et donc empêcher la progression de l'ADN polymérase sur l'ADN, responsables de la réplication de l'ADN. Cela entraîne une inhibition de la réplication de l'ADN ce qui est indispensable à la formation de nouvelles bactéries.

Parmi ces antibiotiques, on peut citer : les sulfamides, les triméthoprimes, les quinolones (les quinolones de 1<sup>ère</sup> génération : l'acide nalidixique et les quinolones de 2<sup>ème</sup> génération ou fluoroquinolones), les nitro-imidazoles et les rifamycines (**Fleury, 2019**).

**d. Antibiotiques agissant sur les membranes**

Certains antibiotiques agissent grâce à des propriétés de surfactant. Cette propriété permet aux antibiotiques de s'insérer entre les phospholipides externes. Cela entraîne une augmentation anormale de la perméabilité membranaire, ce qui entraîne une fuite de substances intracellulaires à travers la membrane plasmique et la mort des bactéries.

Parmi ces antibiotiques, on retrouve : les polymyxines (la colistine) et les nitrofuranes (**Fleury, 2019**).



**Figure 1** : Mécanismes d'action des antibiotiques (**Madigan et al., 2000**)

## III.2 Antibiorésistance

### III.2.1 Définition de la résistance

On parle de résistance bactérienne quand un micro-organisme s'adapte au milieu et réussit à modifier son métabolisme pour continuer à se développer en présence de l'ATB qui devrait le détruire. La résistance des bactéries aux ATBs est rencontrée en milieu communautaire (c'est à dire en dehors du milieu hospitalier) ou en milieu hospitalier (**Springman et al., 2009**).

Ce phénomène résulte d'une coévolution par sélection naturelle entre des organismes sécrétant des antibiotiques et des organismes cibles qui tendent à s'y adapter, les antibiotiques exerçant une pression sélective très forte, en éliminant les bactéries sensibles. Il s'ensuit que les bactéries exposées à ces antibiotiques ont alors dû développer des mécanismes de résistance, parfois contre les antibiotiques qu'elles même produisent par des mutations pour survivre et reproduire, en transmettant à leur descendance leurs gènes de résistance, produisant rapidement une génération de bactéries pleinement ou majoritairement résistantes (**Julian et Dorothy, 2010**).

### **III.2.2 Mécanisme de résistance aux antibiotiques**

La résistance bactérienne aux antibiotiques aurait deux origines essentielles, naturelle (programmée au niveau du pool génomique) et acquise (développée en fonction des conditions métaboliques) (**Julian et Dorothy, 2010**).

#### **III.2.2.1 Résistance naturelle et acquise**

##### **a. Résistance naturelle (intrinsèque)**

La résistance naturelle ou intrinsèque est un caractère d'espèce qui touche toutes les bactéries de l'espèce considérée (**Lozniewski et al., 2010**).

Elle est permanente, stable et transmissible à la descendance (transmission verticale) lors de la division cellulaire, mais elle n'est généralement pas transférable d'une bactérie à l'autre (transmission horizontale) (**Pierrot, 2015**).

##### **b. Résistance acquise**

C'est l'acquisition de nouveaux gènes capables de rendre la bactérie insensible à un antibiotique ou à un groupe d'antibiotiques. Ce nouveau gène peut être obtenu soit par mutation au niveau du chromosome qui est un phénomène rare soit par transfert d'ADN de plasmides conjugatifs ou de transposons (**Mohamedi et al., 2001**).

La résistance acquise est moins stable, mais elle se propage souvent de façon importante dans le monde bactérien (**Lozniewski et al., 2010**).

- ✓ **La résistance chromosomique** : elle résulte d'une mutation. C'est un phénomène rare qui n'est pas provoqué par la présence de l'antibiotique (au hasard), mais l'antibiotique révèle la mutation de résistance en sélectionnant les bactéries mutantes résistantes (ou plus exactement, en détruisant les autres bactéries de l'espèce, celles restées sensibles à l'action de l'antibiotique). L'apparition d'une mutation ne favorise pas l'apparition d'autres mutations de résistance à d'autres antibiotiques (**Lozniewski et al., 2010**).
  
- ✓ **La résistance extra chromosomique** : la résistance peut provenir de l'acquisition d'ADN étranger par le biais de plasmides, de bactériophages ou de transposons. On parle de

transfert horizontal de gènes de résistance et les mécanismes utilisés sont la conjugaison, la transduction et la transformation (Lozeniewski et al., 2010).

### III.2.2.2 Mécanismes biochimiques de la résistance aux antibiotiques

Les bactéries ont développé différents mécanismes afin de neutraliser l'action des agents antibactériens, une même bactérie peut présenter plusieurs de ces mécanismes de résistance (Bevilacqua, 2011) (Figure 2).

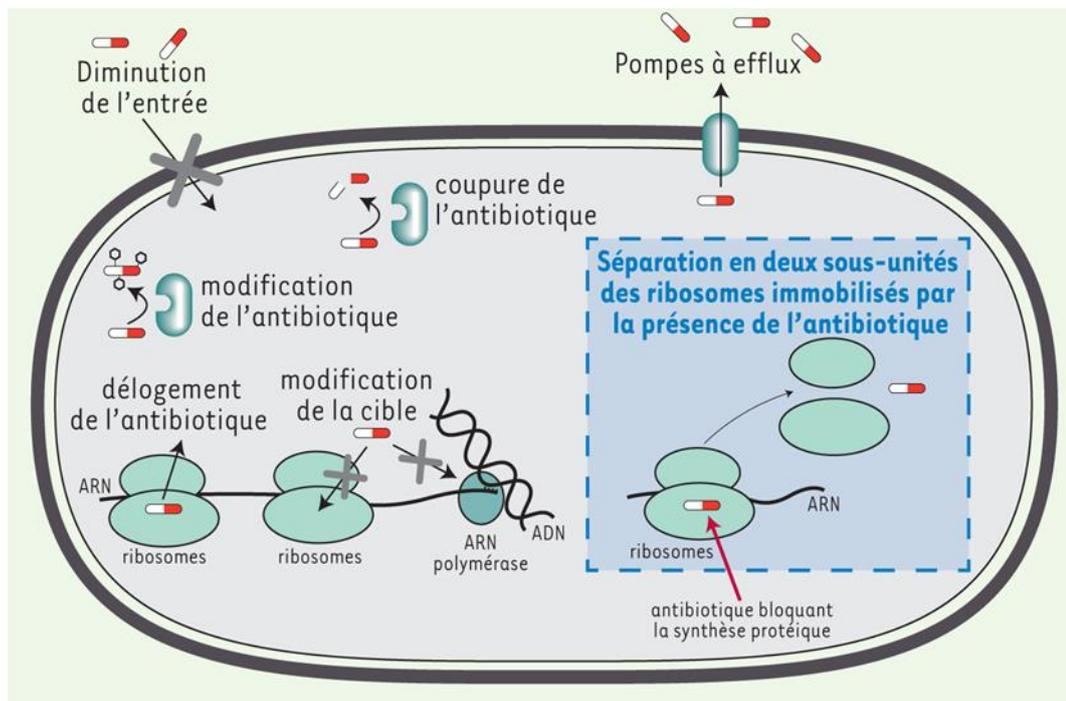


Figure 2 : Différents mécanismes de résistances aux antibiotiques (Duval et Cossart, 2019)

Selon Muylaert et al., (2012), on peut classer les mécanismes de résistance en 4 groupes :

#### a. Modification de la cible

- ✓ **Modification des PLP** : la résistance à la méticilline (et à l'ensemble des  $\beta$ -lactamines) chez *Staphylococcus aureus* est due à la présence d'une PLP ayant une très faible affinité pour les  $\beta$ -lactamines ; cette nouvelle PLP est due à une acquisition d'un gène chromosomique appelé « mec A », l'expression phénotypique de la résistance est variable (résistance hétérogène) et dépend des conditions de culture (Nauciel, 2000) (Figure 3).

- ✓ **Modifications du précurseur du peptidoglycane** : le remplacement de la D-Ala terminale par un groupement lactate sur le précurseur du peptidoglycane entraîne une résistance aux glycopeptides chez les entérocoques. L'affinité des glycopeptides pour la séquence D-Ala-D-lactate est en effet beaucoup plus faible que pour la séquence habituelle, D-Ala-D-Ala (Nauciel, 2000).
- ✓ **Modification des ribosomes** : la méthylation d'une adénine au niveau de l'ARN ribosomal entraîne la résistance aux macrolides, aux lincosamides et à la streptogramine B en empêchant leur fixation sur le ribosome. La méthylase impliquée dans ce phénomène est codée par un gène appelé (Erythromycine résistance méthylase) dont il existe différentes variétés (Nauciel, 2000).

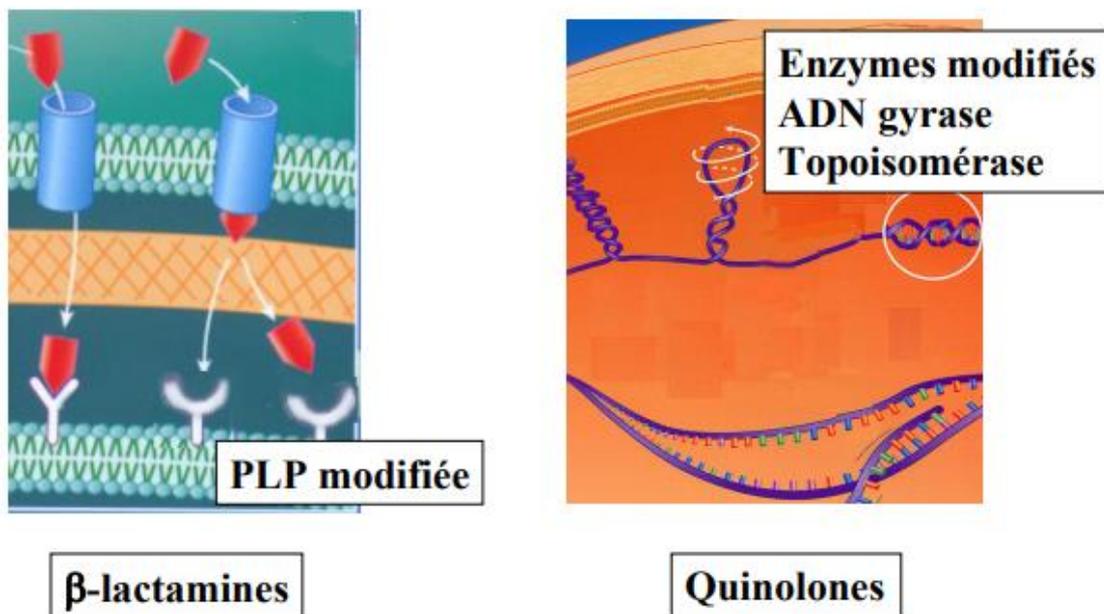
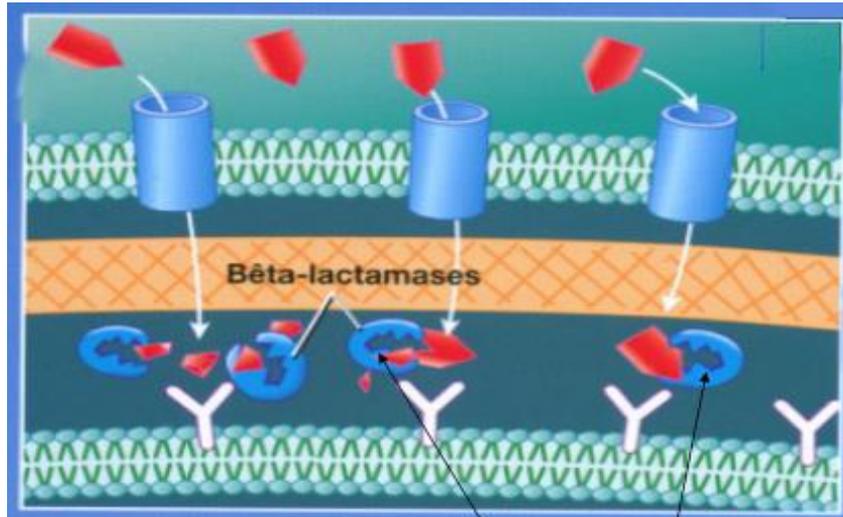


Figure 3 : Résistance par modification de la cible (Archambaud, 2009)

#### b. Inactivation de l'antibiotique

La production d'enzymes inactivantes, est la plus puissante et la plus robuste des mécanismes de résistance. Des centaines d'enzymes peuvent inactiver l'antimicrobien dans la cellule, dans l'espace périplasmique ou à l'extérieur de la cellule. Ils peuvent agir sur la molécule antimicrobienne en perturbant sa structure ou en catalysant une réaction qui le modifie chimiquement (les bêta lactamases) (Willey et al., 2008 ; Denis et al., 2007) (Figure 4).



**Figure 4** : Résistance par inactivation enzymatique (Archambaud, 2009)

**c. Diminution de la perméabilité**

Les bactéries possèdent une membrane cytoplasmique qui sépare leur cytoplasme du milieu externe. Le passage des antibiotiques se fait par diffusion passive à travers les canaux que forment les protéines canaliculaires nommées porines. Les mutations des porines joueraient un rôle important dans l'émergence d'une résistance, particulièrement à la suite d'une réduction du calibre des canaux ou du nombre de porines cela aura pour conséquence une réduction ou un blocage de la pénétration de l'antibiotique jusqu'au site d'action (Davin et al., 2020).

**d. Excrétion de l'antibiotique par un mécanisme d'efflux**

Les pompes d'efflux sont des protéines utilisées par les bactéries comme mécanisme d'extrusion de composés considérés toxiques (détergents, antiseptiques et antibiotiques). Ces mécanismes conduisent au rejet de ces molécules vers le milieu extérieur, assurant ainsi un niveau de concentration intracellulaire faible, en dessous du seuil d'efficacité. Les gènes codant pour ces structures protéiques sont présents chez presque toutes les bactéries et se localisent sur le chromosome ou sur un plasmide (Boulant et al., 2020) (Figure 5).

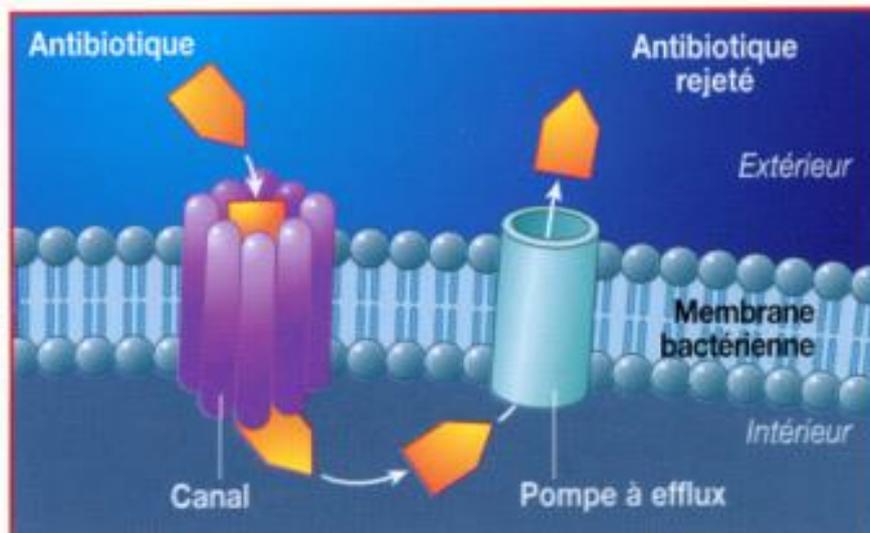


Figure 5 : Résistance par mécanisme d'efflux (Archambaud, 2009)

### III.2.3 Antibiorésistance chez les Entérobactéries

Les entérobactéries naturellement résistantes aux macrolides, aux lincosamides et aux synergistines. Elles sont habituellement sensibles aux : pénicolles, tétracyclines, sulfamides, triméthoprime, nitrofuranes, fosfomycine et polymyxine (Limat et al., 2018).

Cependant la plupart des espèces de *Proteus*, de *Morganella*, de *Providencia* et de *Serratia* sont résistantes aux tétracyclines, aux nitrofuranes et à la polymyxine. La rifampicine n'est active que sur certaines espèces d'entérobactéries (Goro, 2021).

Un nombre croissant de souches, en particulier dans le genre *Enterobacter*, *Serratia*, *Klebsiella* et *Providencia*, quelques souches de *Proteus* indole-positif et des souches d'*Escherichia coli* cephalotine résistance, possèdent des bêta lactamases qui augmentent le phénomène de résistance à de nombreux antibiotiques du groupe des bêta-lactamases (Goro, 2021).

L'émergence et l'augmentation potentielle de souches d'entérobactéries productrices de BLSE (bêta lactamases à spectre élargi) en particulier chez *K. pneumoniae* constituent un phénomène inquiétant. La détection de ces souches n'est pas seulement importante pour le patient mais également dans le cadre de la surveillance des infections nosocomiales (Goro, 2021).

### III.2.4 Antibiorésistance chez *Pseudomonas aeruginosa*

*P. aeruginosa* possède une membrane externe faiblement perméable, ce qui lui confère une résistance naturelle à de nombreux antibiotiques, dont la plupart des  $\beta$ -lactamines hydrophiles. Ce germe est naturellement résistant : aux macrolides, aux tétracyclines, à la Rifampicine, au Chloramphénicol, aux sulfamides et aux Glycopeptides (**Traoré, 2019**).

La résistance acquise chez *P. aeruginosa* peut être liée à la production de BLSE ou de carbapénémase, mais le plus souvent à l'hyperproduction de céphalosporinase pour la résistance à la Céfotaxime ou la perte de porines pour la résistance à l'Imipénème, qui sont des phénomènes réversibles au niveau d'une population bactérienne. Ces mécanismes de résistance par mutation s'accompagnent en effet généralement d'une réduction du fitness qui donne à ces souches un désavantage compétitif par rapport aux souches non mutées (**Lucet et birgand, 2011**).

### II.2.5 Antibiorésistances chez *Staphylococcus aureus*

C'est au début des années 1960, que les premières souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline (SARM) sont apparues après introduction de la méticilline, première bêtalactamine résistantes aux pénicillinases (**Scancic et al., 2002**).

L'émergence et la propagation de la résistance médiée par la pénicillinase chez *S. aureus* sont appelées la première vague de résistance. Le taux de résistance à la pénicilline dépasse maintenant 90% des isolats humains de *S. aureus*, ce qui rend l'utilisation de la pénicilline essentiellement inutile dans le traitement de ce type d'infections (**Peacock et Paterson, 2015**).

Le mécanisme de résistance à la pénicilline est médié par le gène plasmidique blaZ, qui code pour la production d'une enzyme de  $\beta$ -lactamase ou pénicillinase qui hydrolyse le cycle  $\beta$ -lactame de la pénicilline et la rend inactive (**Arumugam et al., 2017**).

***Partie expérimentale***

# **Matériel et méthodes**

Cette étude a été réalisée au niveau du laboratoire d'hygiène de Blida durant une période de trois mois (Mars au mois de Mai 2022).

Les échantillons de pus et des urines ont été prélevés à partir de l'EPH de Blida, des EPSP de Blida et d'une clinique privée situés dans la wilaya de Blida.

## **I.1 Matériel**

### **a. Matériel non biologique**

Le matériel non biologique est représenté dans l'**Annexe I**.

### **b. Matériel biologique**

Représenté par les prélèvements, les souches de références et le plasma humain utilisé pour le test de coagulase (**Annexe II**).

**Tableau II.** Souches de référence utilisées

<b>Souches</b>	<b>Types de résistance</b>	<b>Référence</b>
<i>Staphylococcus aureus</i>	Sensible	ATCC 25923
<i>Staphylococcus aureus</i>	Résistant	ATCC 43300
<i>Escherichia coli</i>	Sensible	ATCC 25922

## **I.2 Méthodes**

### **I.2.1. Types de prélèvements**

Les produits biologiques sur lesquels nous avons effectué cette étude sont :

- Les urines provenant de personnes coopératives (non hospitalisées).
- Le pus du pied diabétique de patients hospitalisés et de personnes coopératives.

**Tableau III.** Total de prélèvements recueillis.

Types de prélèvement	Provenance de prélèvement	
	Pus du pied diabétique	EPH Blida
43		62
Urines	Personnes non hospitalisées	
	118	
<b>TOTAL = 223</b>		

Les prélèvements reçus sont accompagnés d'une fiche de renseignement qui comporte :

- ✓ Nom et prénom ;
- ✓ Age et sexe ;
- ✓ Service d'hospitalisation ;
- ✓ Nature de prélèvements ;
- ✓ Antibiothérapie en cours.

### **I.2.2 Méthodes de prélèvement**

#### **✚ Prélèvement des urines**

Le recueil de l'urine est une étape primordiale qui conditionne la qualité des résultats de l'ECBU. Il doit donc être fait dans des conditions d'asepsie rigoureuse.

- ✓ Se désinfecter les mains puis effectuer une toilette vulvaire ou un nettoyage du méat urinaire à l'eau et au savon.
- ✓ Éliminer le 1<sup>er</sup> jet d'urine et effectuer le prélèvement dans un récipient stérile prévu à cet effet.
- ✓ Le récipient doit être bien fermé et le prélèvement doit être traité dans les deux heures suivant leur recueil ou conservé au réfrigérateur à +4°C avant qu'il ne soit envoyé au laboratoire et traité dans les 18 heures.

### **✚ Prélèvement de pus**

Le prélèvements appelés “pus” englobent toutes les suppurations qu’elles soient superficielles ou profondes.

- ✓ On doit d’abord nettoyer la plaie avec une gaze imbibée de sérum physiologique stérile.
- ✓ Si le pus est localisé dans la partie supérieure de la plaie, la méthode utilisée consiste à passer un écouvillon stérile sur la surface, en faisant un mouvement superficiel (**Figure 6**).
- ✓ Dans le cas où le pus est localisé dans un abcès superficiel fermé ou dans une cavité, le pus est récolté par ponction à l’aide d’une seringue stérile.

On doit acheminer l’écouvillon humidifié par un bouillon (BHIB) au laboratoire afin d’éviter la dessiccation de prélèvement.



**Figure 6 : Méthode de prélèvement du pus par écouvillonnage (Photos originales, 2022)**

### **I.2.3 Méthodologie de diagnostic**

Les **figures 7 et 8** illustrent les principales étapes du diagnostic d’un Examen cytobactériologique des urines et celui du pus.

#### **I.2.3.1 Etude cytologique**

Tout prélèvement doit passer par une étude cytologique pour la détection des hématies et de leucocytes.

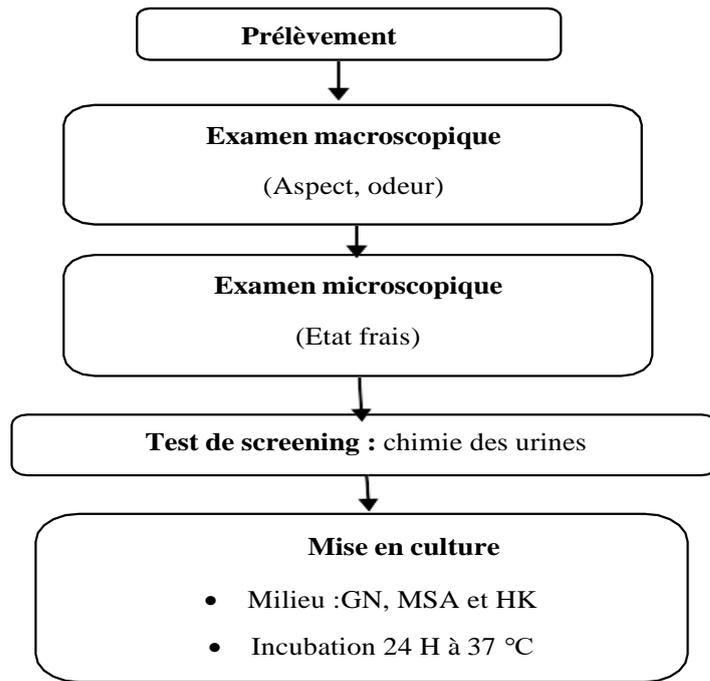


Figure 7 : Etapes d'un Examen cytotbactériologique des urines (ECBU)

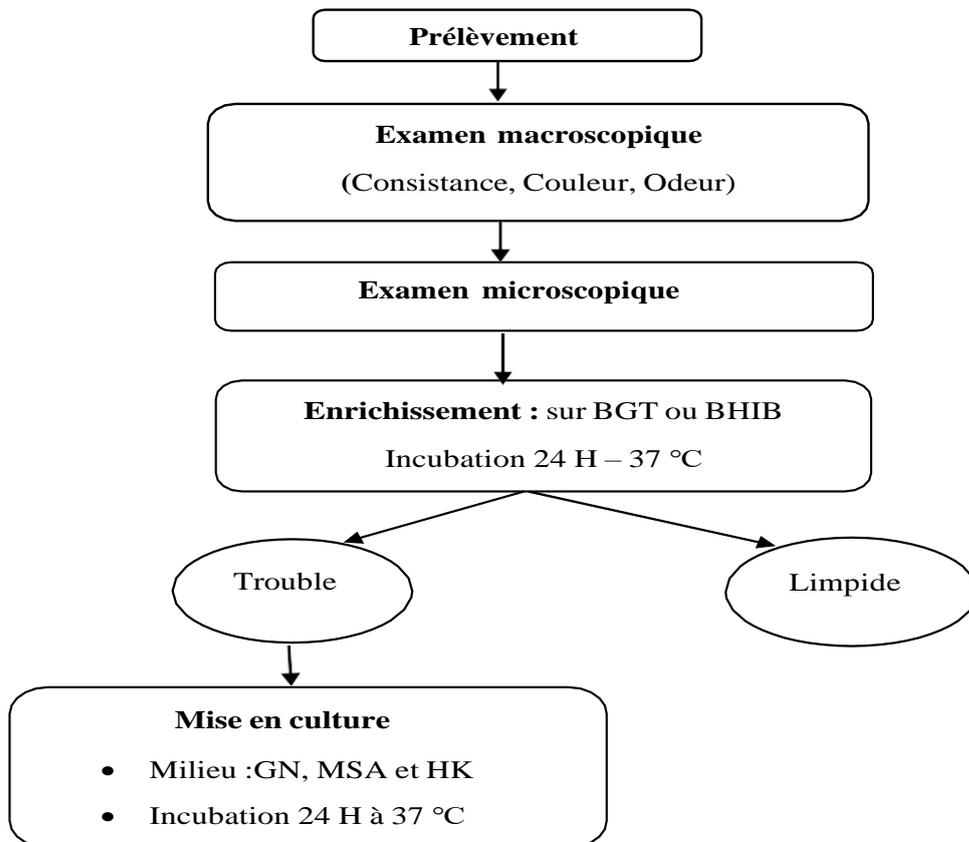


Figure 8 : Etapes d'un Examen cytotbactériologique du pus (ECBP)

## 1) Examen macroscopique des prélèvements

### a) Urines

- ✓ **Aspect** : limpide ou trouble.
- ✓ **Couleur** : hématurique ou non.
- ✓ **Odeur** : safranée.
- ✓ **Test de screening** (chimie des urines).

### b) Pus

- ✓ **Couleur** : elle va du jaune-vert au rouge-brun. Une couleur rouge est généralement due à un mélange des urines avec du sang ou de l'hémoglobine.
- ✓ **Consistance** : elle peut aller d'un liquide trouble à une matière très épaisse et collante.
- ✓ **Odeur** : fétide.

## 2) Examens microscopiques des prélèvements

### a) Urines

L'examen microscopique permet de décrire la morphologie, la mobilité des bactéries vivantes ainsi que les différentes numérations (polynucléaires, hématies, bactéries, cristaux et d'autres cellule).

#### **Etat frais**

Il nous oriente sur la morphologie, la mobilité et le mode de regroupement. Il permet d'évaluer la quantité des bactéries et la présence de leucocytes, de globules rouges et de levures.

A l'aide d'une pipette Pasteur, on dépose sur lame propre et stérile une goutte d'urine et on la recouvre par une lamelle, puis on observe au microscope optique à l'objectif (Gx40).

### b) Pus

#### **Examen direct**

État frais ou coloration au bleu de méthylène. Cet examen permet d'apprécier l'importance des polynucléaires, l'aspect mon-microbien ou polymicrobien de la suppuration.

### I.2.3.2 Etude bactériologique

Le but est de rechercher, d'isoler et d'identifier les bactéries présentes dans les prélèvements

#### 1) Isolement

L'isolement vise à obtenir des colonies distinctes et bien séparées les unes des autres. L'isolement est effectué sur les milieux de cultures suivants : Gélose Nutritive (GN), gélose Hektoen (HK), gélose Chapman et gélose au sang frais (GSF).

#### Enrichissement

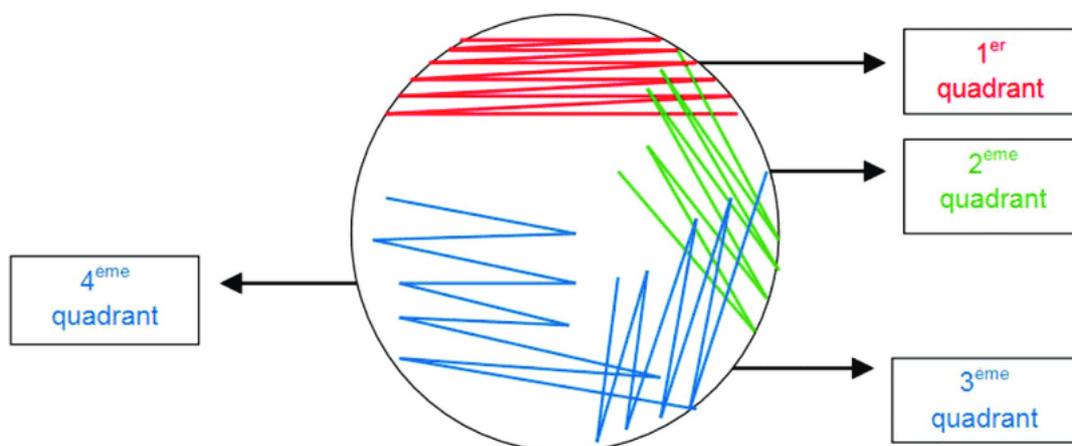
##### a) Urines

On homogénéise le prélèvement d'urine, puis on ensemence les boîtes de GN, HK et MSA à l'aide d'une pipette Pasteur stérile selon la méthode des 4 quadrants (**Figure 9**). Les boîtes seront incubées à 37°C /18 à 24h.

- **Lecture des boîtes** : une culture est dite positive lorsque les numérations sont supérieures ou égales à  $10^4$  bactéries/ml et d'aspect mono-microbien.

##### b) Pus

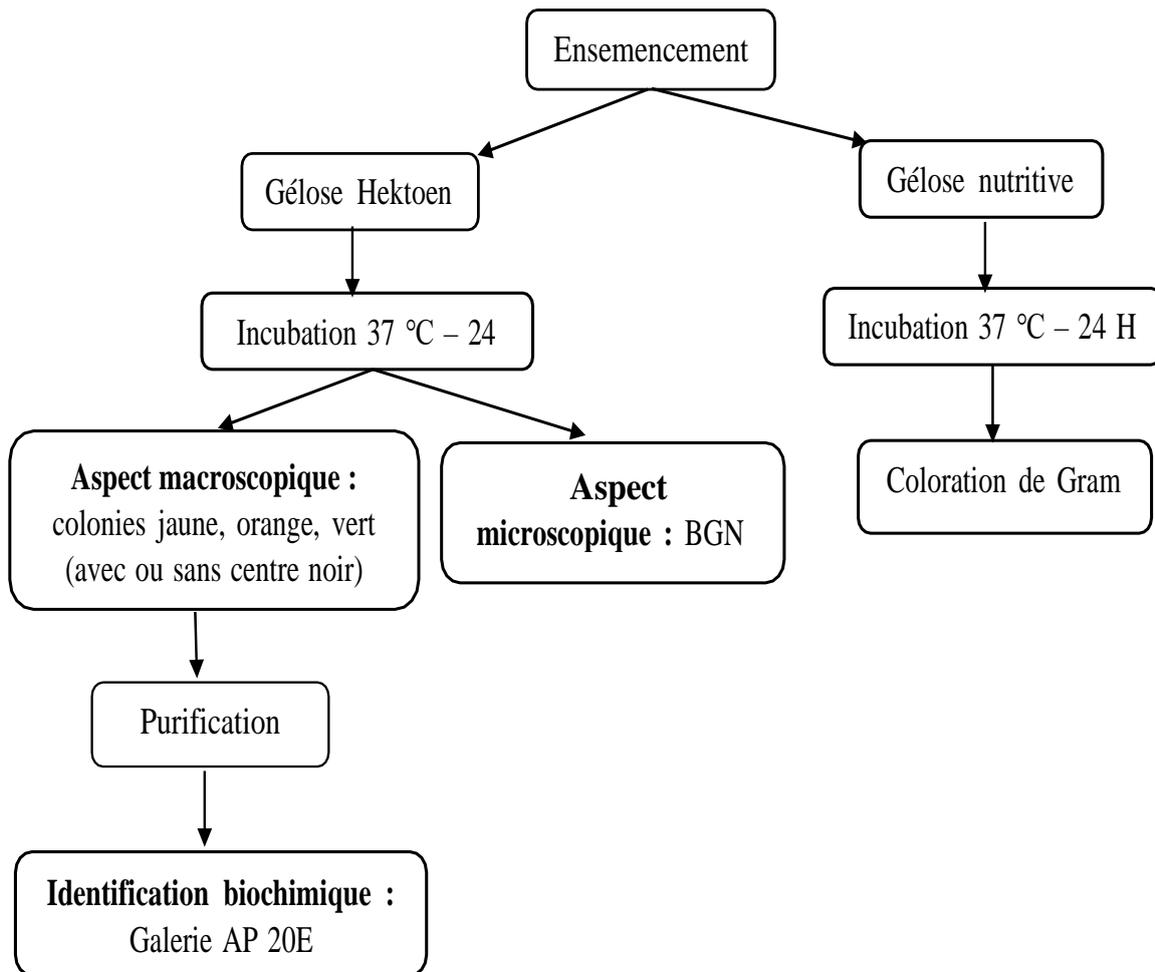
Avant l'ensemencement un enrichissement doit être réalisé soit sur le bouillon tamponné (BGT) ou le bouillon Brain Heart Infusion (BHIB). Les boîtes de GN, HK, MSA et GS sont ensemencées à l'aide d'une pipette pasteur stérile selon la méthode de quatre quadrants (Figure). Les boîtes seront incubées à 37°C /18 à 24h.



**Figure 9** : Technique d'ensemencement (Pierre, 2019).

**Mise en culture**

Pour la mise en culture des BGN fermentaires, non fermentaires et *Staphylococcus aureus*, nous avons suivi les étapes suivantes illustrés par les **figures 10, 11 et 12**.



**Figure 10** : Organigramme d'identification des BGN fermentaires

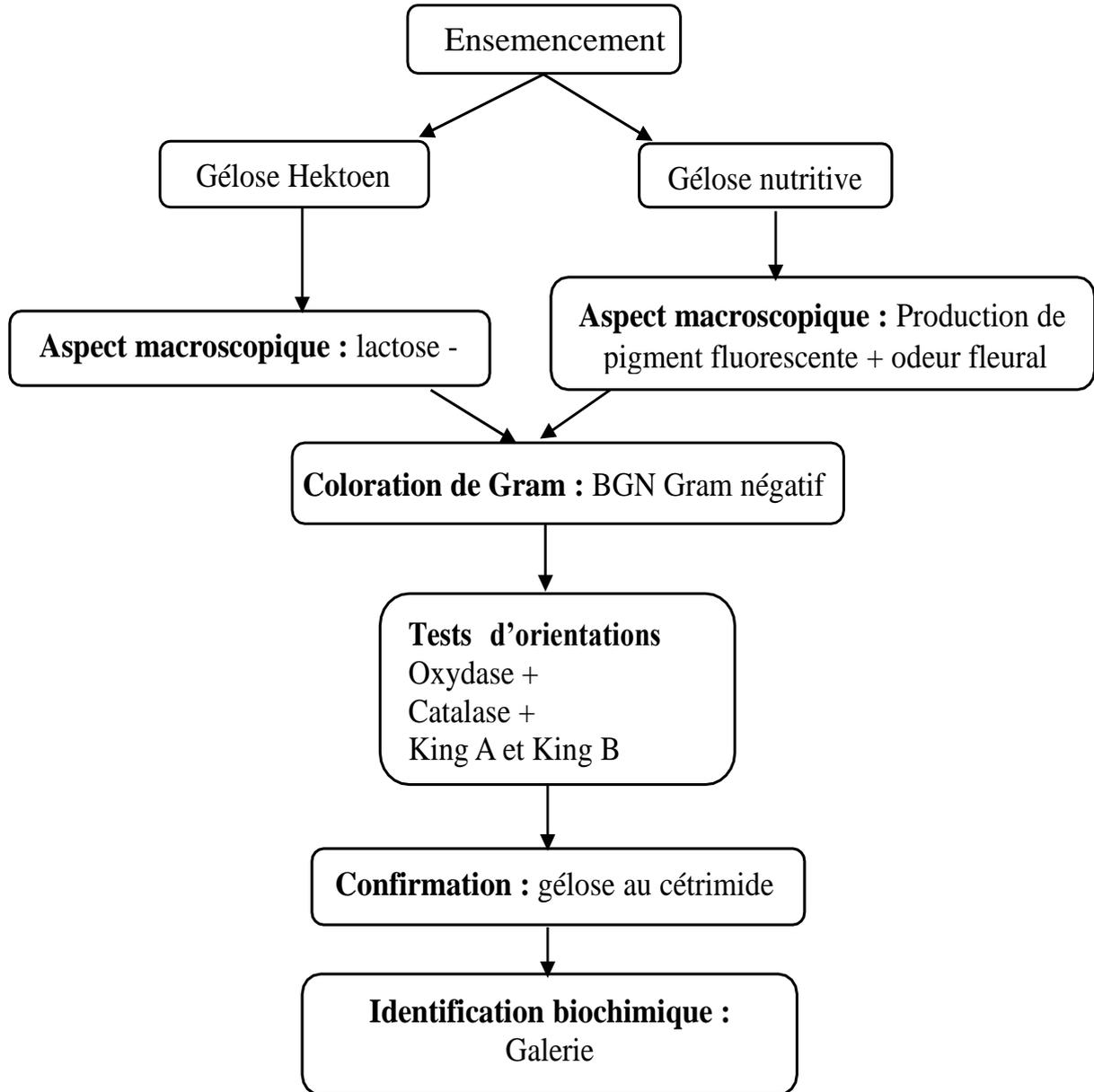
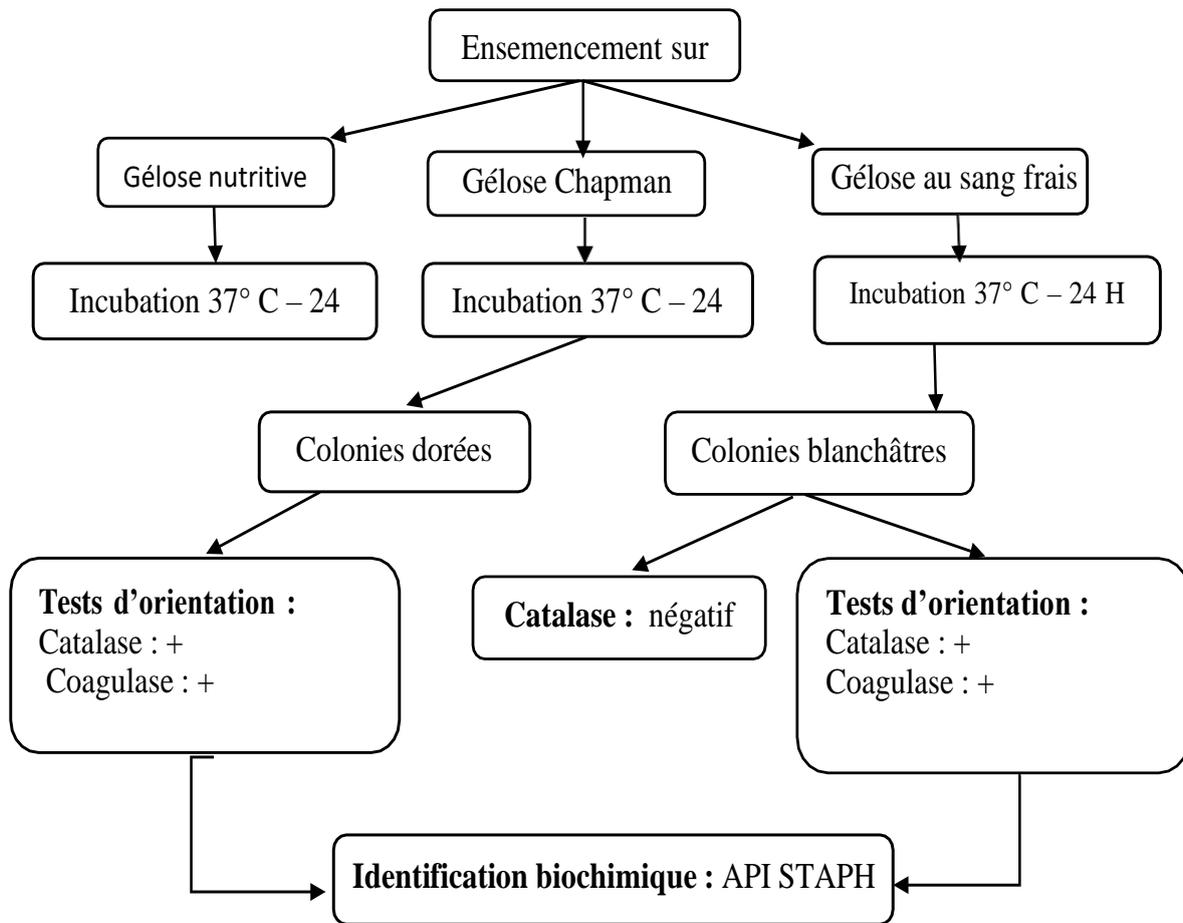


Figure 11 : Organigramme d'identification des BGN non fermentaires



**Figure 12 :** Organigramme d'identification de *Staphylococcus aureus*

### ✚ Examen macroscopique

Après l'obtention d'une culture, on examine l'aspect des colonies selon les critères macroscopiques suivantes : la forme, la taille, la couleur, le bord, l'opacité, l'élévation et la surface.

Toute colonie pigmentée en jaune dorée, lisse, bombée et plus ou moins grosse, dégradant le mannitol sur milieu Chapman, est suspectée d'être *Staphylococcus aureus*. Les colonies pigmentées en blanc sont suspectées d'être des staphylocoques à coagulase négative.

Toute colonie pigmentée en orange, vert ou noir sur les milieux Hektoen est suspectée d'être une Entérobactérie ou *Pseudomonas aeruginosa*.

Les colonies grosses, envahissant la surface de la gélose en ondes concentriques sur GN ou HK sont suspectées d'être *Proteus spp.* Cette propriété est liée à la mobilité exceptionnelle que lui confèrent plusieurs centaines de flagelles.

## 2) Purification

La purification se fait sur le même type de milieux ou sur milieu chromogène jusqu'à l'obtention d'un isolat pur présentant les mêmes caractéristiques que celui obtenu en premier isolement.

## 3) Examens microscopiques après culture

### ➤ Examen microscopique à l'état frais

L'examen microscopique permet de mettre en évidence : la mobilité, la morphologie et le mode de regroupement.

Sur une lame stérile, on dépose une goutte d'eau physiologique. Ensuite, on rajoute une colonie prélevée à partir d'une culture bactérienne pure. On doit homogénéiser bien et on recouvre la lame par une lamelle en évitant les bulles d'air. Puis, on passe à l'observation sous microscope ( $G \times 40$ ).

### ➤ Coloration de Gram

C'est la coloration de référence en bactériologie. Elle permet de distinguer entre les bactéries à Gram positif (+) et les bactéries à Gram négatif (-) en se basant sur les propriétés de la paroi bactérienne :

- Les bactéries à Gram positif qui sont riches en peptidoglycane et pauvres en lipide.
- Les bactéries à Gram négatif qui sont pauvres en peptidoglycane et riches en lipide.

Elle se déroule en deux étapes : préparation de frottis et coloration (**Figure 13**).

#### a) Réalisation d'un frottis

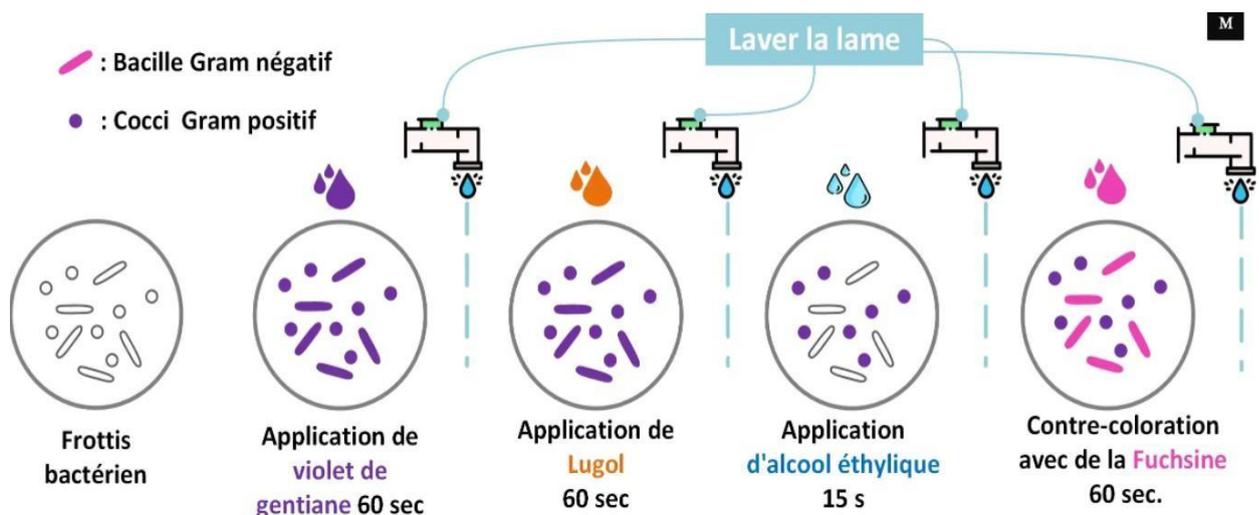
- ✓ On dépose une goutte d'eau physiologique stérile sur une lame.
- ✓ On cherche une colonie bien isolée sur la gélose.
- ✓ A l'aide d'une pipette Pasteur, on prélève un fragment de cette colonie et on la dépose sur la goutte.
- ✓ On étale soigneusement en une couche mince.

- ✓ La préparation est séchée et fixée au-dessus de la flamme du bec Bunsen sans trop la chauffer.

Le frottis étant fixé, on peut alors effectuer la coloration désirée.

### b) Coloration

- ✓ On recouvre la lame avec le violet de gentiane et on le laisse agir une minute.
- ✓ On rince à l'eau.
- ✓ On recouvre la lame avec le Lugol pendant une minute.
- ✓ On décolore à l'alcool pendant 20 secondes.
- ✓ On rince à l'eau.
- ✓ On recolore le frottis avec la fushine et laisser agir pendant une minute.
- ✓ On rince à l'eau et on le laisse sécher.
- ✓ On met une goutte d'huile à immersion sur le frottis.
- ✓ Et on observe au microscope optique à l'objectif (G x 100).



**Figure 13 :** Technique de coloration de Gram (Procop *et al.*, 2019)

### c) Lecture

- ✓ Les bactéries colorées en violet ont gardé leur coloration primaire grâce à leur paroi épaisse et pauvre en lipide : Ce sont des bactéries Gram positifs.
- ✓ Les bactéries colorées en rose ont perdu leur première coloration à cause de leur paroi riche en lipide et qui laisse diffuser l'alcool, celui-ci décolore le contenu intracellulaire. Ce sont des bactéries Gram négatifs.

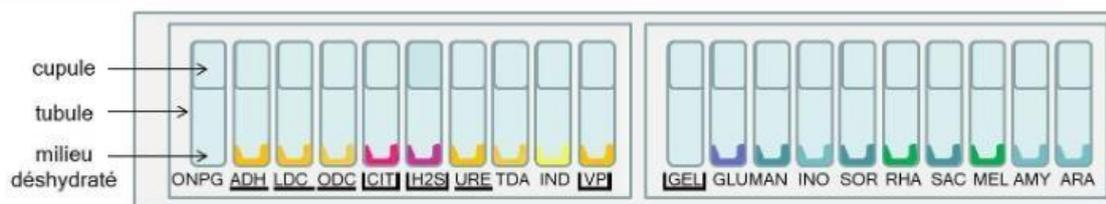
#### 4) Identification biochimique

##### A. Identification des bacilles à Gram négatif fermentaire

###### ✚ Galerie API 20E (Galerie miniaturisée)

La galerie api 20E est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et d'autres bacilles à Gram négatif, comprenant 20 tests biochimiques miniaturisés contenant des substrats déshydratés pour la mise en évidence d'activités enzymatiques ou de fermentation de sucres (Stearns et Surette, 2019) (Figure 14).

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés suite à l'addition de réactifs. La lecture des résultats se fait à l'aide d'un tableau de lecture et l'identification est obtenue à partir du catalogue analytique ou un logiciel d'identification (Bio Mérieux).



**Figure 14** : Présentation de la galerie API 20 E (Stearns et Surette, 2019)

##### a) Préparation de l'inoculum

À partir d'une culture pure de 18 à 24h, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies isolées et parfaitement identiques, puis les mettre dans 5 ml d'eau distillée stérile afin d'obtenir une suspension bactérienne de 0,5 McF.

##### b) Préparation de la galerie

On marque le plateau avec le numéro d'identification, la date et les initiales, puis on réunit fond et couvercle d'une boîte d'incubation et on répartit environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.

##### c) Inoculation de la galerie

- ✓ On introduit la suspension bactérienne 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, on doit remplir tube et cupule.
- ✓ Pour les autres tests, on remplit uniquement les tubes (et non les cupules).
- ✓ Pour les tests : ADH, LDC, ODC, H<sub>2</sub>S, URE on doit créer une anaérobiose en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
- ✓ On referme la boîte d'incubation.
- ✓ Et on Incube à 36°C ± 2°C pendant 18-24 heures.

#### **d) Lecture**

Pour certains tests, on doit ajouter des réactifs pour assurer la lecture.

- Test TDA : on ajoute 1 goutte de réactif TDA.
- Test IND : on ajoute 1 goutte de réactif JAMES.
- Test VP : on ajoute 1 goutte des réactifs VP 1 et VP 2 (Attendre au minimum 10 minutes).

Après la comparaison des couleurs obtenues aux couleurs définissant le résultat positif ou négatif, on obtient un chiffre numérique qu'on introduit dans le logiciel d'identification qui nous donne l'espèce qui correspond au code (**Annex III**).

## **B. Identification des bacilles à Gram négatif non fermentaire**

### **B.1 Tests d'orientation**

#### **✚ Test d'oxydase**

Le test d'oxydase est le plus utile pour différencier entre les BGN non oxydatif (Entérobactéries et *Acinetobacter*) et les BGN oxydatifs (*Pseudomonas*, *Pasteurella*) (**Willey et al., 2021**).

Ce test est utilisé pour identifier les bactéries qui produisent le cytochrome oxydase, une enzyme de la chaîne respiratoire bactérienne. Lorsqu'elle est présente, le cytochrome-oxydase oxyde le réactif tétraméthyl phénylène diamine en indophénols produit final de couleur pourpre. En l'absence d'enzyme, le réactif reste réduit et incolore.

Sur une lame, on dépose le disque d'oxydase que l'on humidifie avec de l'eau physiologique.

Ensuite avec une pipette pasteur boutonnée, on prend une colonie isolée et on la gratte sur le disque.

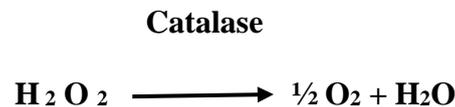
❖ **Lecture**

Lecture immédiate :

- ✓ Oxydase positive : le disque prend une teinte bleue ou violette.
- ✓ Oxydase négative : le disque reste incolore.

✚ **Test de catalase**

Pendant la respiration aérobie, certaines bactéries produisent du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), celui-ci est très toxique et certaines bactéries sont capables de le dégrader grâce à des enzymes qu'elles synthétisent (**Green et Goldman, 2021**).



Sur une lame propre on dépose, une à deux gouttes d'eau oxygénée, ensuite prendre une colonie isolée avec une pipette pasteur boutonnée et stérile et la déposer sur la lame.

❖ **Lecture**

- ✓ **Catalase +** : dégagement de bulle d'O<sub>2</sub>.
- ✓ **Catalase -** : absence de bulle d'O<sub>2</sub>.

✚ **Milieu King A et King B**

Le milieu de King B permet la détection de la synthèse de pyoverdine, pigment élaboré par *Pseudomonas aeruginosa* et d'autres *Pseudomonas*. Utilisé en parallèle avec le milieu de King A (détection de la pyocyanine), Il permet d'orienter l'identification de *Pseudomonas aeruginosa* (**Ryan et al., 2018**)

L'ensemencement se fait en faisant une strie médiane à la surface de la gélose. Puis on incube pendant 24 à 48 heures à 30°C.

❖ **Lecture**

Une synthèse de pyoverdine se traduit par une coloration verte fluorescente.

### **Gélose au cétrimide**

La gélose au cétrimide est un milieu sélectif destiné à l'isolement et au dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa* dans les produits biologiques. Le milieu favorise également la production de pigments fluorescents (pyoverdines) par certaines souches de *Pseudomonas aeruginosa*.

Les boîtes sont ensemencées à l'aide d'une pipette Pasteur stérile selon la méthode de quatre quadrants et seront incubées à 30-35 C° /18 à 24h.

#### ❖ **Lecture**

*Pseudomonas aeruginosa* peut présenter les aspects suivants :

- ✓ Pigmentation caractéristique jaune-vert et une fluorescence sous ultra-violets à 254 nm.
- ✓ Colonies muqueuses, grisâtres, pigmentées ou non.

### **B.2 Galerie classique**

#### **Gélose TSI (Triple Sugar Iron)**

Permet de mettre en évidence la fermentation du saccharose, du lactose et du glucose avec ou sans dégagement de gaz et production d'hydrogène sulfuré H<sub>2</sub>S (**Ryan et al., 2018**).

À partir d'une suspension bactérienne en eau distillée stérile d'une colonie isolée suspecte prélevée à partir d'un milieu d'isolement sélectif, on ensemence la surface inclinée par stries et le culot par piqûre centrale.

Les tubes sont ensuite incubés à 37°C pendant 24 heures (bouchon desserré) de manière à favoriser les échanges gazeux dans l'étuve.

#### ❖ **Lecture**

##### ➤ **Fermentation de glucose**

- Culot rouge : glucose non fermenté ;
- Culot jaune : glucose fermenté.

##### ➤ **Fermentation du lactose et/ou du saccharose**

- Pente inclinée rouge : lactose et saccharose non fermentés ;
- Pente inclinée jaune : lactose et/ou saccharose fermenté(s).

##### ➤ **Production de gaz**

Apparition de gaz dans le culot.

➤ **Formation d'H<sub>2</sub>S**

- Formation d'une coloration noire entre le culot et la pente ou le long de la piqûre.

✚ **Citrate de Simmons**

Ce milieu permet de révéler la capacité des bactéries à utiliser le citrate comme une seule source de carbone (**Riedel at al., 2019**).

On prépare une suspension bactérienne de la colonie isolée et on l'ensemence par des stries longitudinale la pente du milieu. L'incubation se fait à 37°C pendant 24h.

❖ **Lecture**

- ✓ Citrate de Simmons positif : virage de couleur en bleu.
- ✓ Citrate de Simmons négatif : pas de virage de couleur.

✚ **Mannitol Mobilité**

Le milieu mannitol mobilité permet d'étudier la mobilité des germes, et la recherche de la fermentation du mannitol (produit de réduction du D-mannose) (**Cappuccino et Welsh, 2020**).

À l'aide d'une pipette Pasteur, on ensemence le milieu par piqure centrale avec la souche à étudier puis on incube le milieu à 37°C pendant 18h à 24h.

❖ **Lecture**

- ✓ Virage de la couleur du milieu vers le jaune indique la dégradation du mannitol.
- ✓ Diffusion des germes autour de la piqure en tour-billant indique la mobilité.

✚ **LDC /ODC et ADH**

Le diagnostic différentiel des espèces appartenant aux familles des *Enterobacteriaceae*, *Vibrionaceae* et *Pseudomonadaceae*, met en évidence la recherche de la lysine décarboxylase (LDC), de l'ornithine décarboxylase (ODC) et de l'arginine dihydrolase (ADH). Les Décarboxylases (LDC, ODC) constituent le groupe où se situent les réactions les plus importantes en ce qui concerne la biodégradation des acides aminés par les bactéries avec libération d'NH<sub>3</sub> (**Grounthead, 2020**).

On dépose quelques gouttes de la suspension bactérienne sur les milieux LDC, ODC et ADH. On ajoute ensuite quelque goutte d'huile de vaseline pour créer l'anaérobiose, puis on incube les milieux à 37°C pendant 24h.

❖ **Lecture**

- ✓ Milieu jaune : test négatif
- ✓ Milieu reste violet : test positif

**C. Identification de *Staphylococcus aureus***

✚ **Test de catalase**

La méthode a été mentionnée précédemment (dans le paragraphe Identification des bacilles à Gram négatif non fermentaire).

✚ **Test de coagulase**

La coagulase libre (exo-enzyme) est une enzyme libérée dans le milieu au cours de la culture par *Staphylococcus aureus*. Sa mise en évidence permet, d'affirmer la présence de *S. aureus*. Cette enzyme est capable in vitro de coaguler le plasma (**Zhang et al., 2020**).



Dans un tube à hémolyse stérile, on introduit 0,5 ml de plasma + 0,5 ml d'une culture de 18 h en bouillon cœur cerveau de la souche à étudier, puis on place le mélange à 37°C.

Des lectures doivent être effectuées toutes les heures au moins pendant les cinq premières heures.

❖ **Lecture**

- ✓ Un test positif : formation d'un coagulum lié à la transformation du fibrinogène en fibrine, spécifique à *S. aureus*.
- ✓ Un test négatif : pas de coagulation, bactérie définie en tant que staphylocoque à coagulase négative (SCN).

✚ **Galerie API – STAPH**

La galerie API Staph comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne réalisée dans API Staph Medium 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 (**Boimérieux**).

- ✓ On prépare une suspension bactérienne homogène, d'opacité égale à 0,5 de McFarland. On doit préférentiellement utiliser des cultures jeunes (18-24 heures).
- ✓ A l'aide d'une pipette, on remplit les tubes de la galerie avec API Staph Medium.
- ✓ On ne remplit que les tubes et non les cupules, sans dépasser le niveau du tube.
- ✓ Pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, il faut 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 ADH et URE, on crée une anaérobiose en remplissant leur cupule d'huile de paraffine pour former un ménisque convexe.
- ✓ On renferme la boîte d'incubation. Et on incube à  $36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  pendant 18-24 heures.

#### ❖ **Lecture**

Après incubation, la lecture des réactions se fait conformément au Tableau de lecture (**Annexe III**) en ajoutant 1 goutte de chacun des réactifs suivants :

- ✓ Test VP : VP 1 et VP 2.
- ✓ Test NIT : NIT 1 et NIT 2.
- ✓ Test PAL : ZYM A et ZYM B.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de lecture (**Annexe III**) et l'identification par le système **APIWEB™**.

## **I.2.4 Test de sensibilité aux antibiotiques**

### **I.2.4.1 Antibiogramme par diffusion des disques**

L'antibiogramme permet de déterminer la sensibilité d'une bactérie vis-à-vis des ATB. La sensibilité de toutes les souches vis-à-vis des différentes familles d'antibiotiques est testée par la méthode de l'antibiogramme standard par diffusion sur gélose Mueller Hinton (MH) selon la standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale 8ème Edition 2020. Pour cela les paramètres suivant doivent être respectés :

#### **a) Milieu de culture**

Le milieu de culture doit permettre la croissance de nombreuses bactéries et il ne doit pas contenir d'inhibiteurs des antibiotiques. Le milieu retenu pour la majorité des espèces

bactériennes est celui de Mueller-Hinton (plus 5% de sang pour les germes exigeants). Il doit être coulé en boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm et les géloses doivent être séchées avant l'emploi.

**b) Choix des disques d'antibiotiques**

Le choix des antibiotiques utilisés dans cette étude a été fait selon la standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale 8<sup>ème</sup> Edition 2020. La liste des antibiotiques testés selon la famille est présentée dans **l'annexe IV**.

**c) Inoculum**

L'antibiogramme par diffusion est réalisé avec une suspension calibrée à 0,5 McF ou à une D.O. de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm contenant environ  $10^8$  bactéries par ml.

La méthode des disques consiste à déposer à la surface de la gélose Mueller-Hinton préalablement ensemencée avec une suspension bactérienne, des disques pré imprégnés d'une dose connue des différents antibiotiques. Chaque antibiotique diffuse au sein de la gélose à partir du disque et y détermine des concentrations inversement proportionnelles à la distance du disque.

Après incubation à 37°C pendant 24 heures, chaque disque est entouré d'une zone d'inhibition de la croissance bactérienne. La multiplication des bactéries s'arrête là où existe dans la gélose, une concentration d'antibiotique égale à la concentration minimale inhibitrice (CMI). Les caractères de sensibilité ou de résistance de la souche en seront déduits.

 **Préparation de l'inoculum**

- ✓ A partir d'une culture pure de 18 à 24 h sur milieu d'isolement approprié, on racle à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- ✓ Bien décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile.
- ✓ Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 MF ou à une D.O. de 0,08 à 0,1 lue à 625 nm.

 **Ensemencement**

- ✓ Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum.
- ✓ L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de 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.

#### **Application des disques**

L'application des disques se fait à l'aide d'une pince stérile en appuyant légèrement. Les disques doivent être placés à plat sans glissement sans déplacement. La distance entre deux disques est de 30 mm.

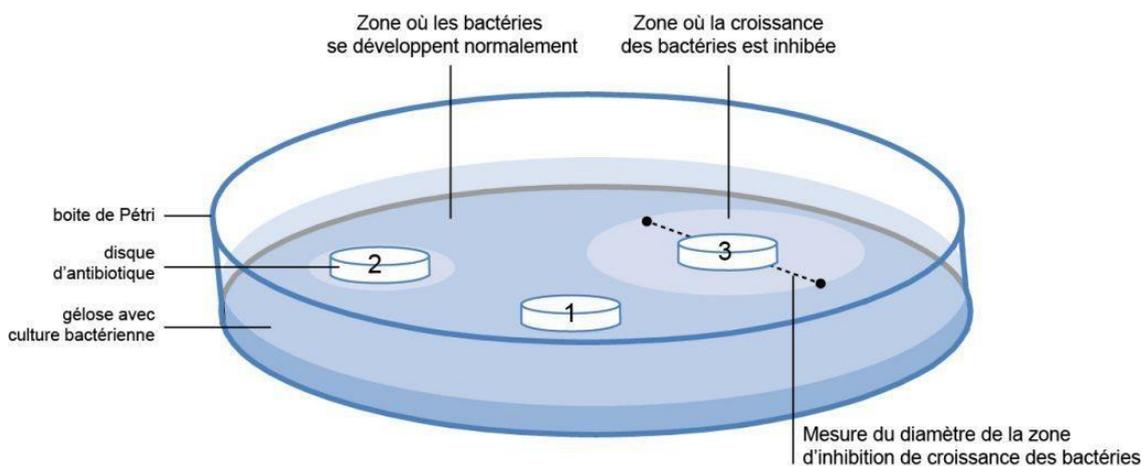
#### **Incubation**

L'incubation des boîtes se fait à 37°C pendant 18 à 24h, couvercle bas.

#### **Lecture et interprétation**

Après incubation à la température et sous atmosphère recommandés, les diamètres des zones d'inhibition seront mesurés avec précision à l'aide d'un pied à coulisse. Les mesures seront prises en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de Pétri fermée (**Figure 15**).

Les diamètres des zones d'inhibition mesurés seront comparés aux diamètres critiques donnés par les instances en vigueur afin de classer la bactérie dans l'une des catégories : Résistante, Intermédiaire, Sensible (**Annexe**).



**Figure 15 : Antibiogramme par méthode de diffusion (Jehl et al., 2015)**

### **I.2.4.2 Tests complémentaires**

#### **A. Détection de $\beta$ -lactamase à spectre élargi (BLSE) ou test de synergie**

##### **➤ Chez les entérobactéries**

Il consiste à rechercher une image de synergie entre un disque d'antibiotique contenant un inhibiteur de  $\beta$ -lactamase (acide clavulanique) et les disques de céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération. Cette image est dite " bouchon de champagnes" (**Pilmis et al., 2019**).

Après l'antibiogramme, en cas de réduction de la sensibilité aux céphalosporines (CTX  $\leq 27$ ) de troisième génération, les BLSE sont mises en évidence par la recherche d'une synergie entre l'acide clavulanique et les céphalosporines de troisième génération.

La recherche des BLSE se fait dans les conditions standard de l'antibiogramme :

On dépose un disque d'amoxicilline plus acide clavulanique à 30 mm centre à centre d'un disque de céphalosporine de 3<sup>ème</sup> génération : CTX, puis on incube les boîtes pendant 18 h à 35 °C.

##### **❖ Lecture**

La production de BLSE peut se traduire par la production de synergie : Images de bouchon de champagne.

##### **➤ Chez *Pseudomonas aeruginosa***

La détection est plus difficile en raison de l'association avec d'autres mécanismes de résistance tel que l'hyperproduction de céphalosporinase (**Aitidir et al., 2015**).

La recherche de la BLSE se fait dans les conditions standard de l'antibiogramme :

On dépose un disque de ticarcilline + acide clavulanique (TCC 75/10  $\mu$ g) à 30 mm centre à centre d'un disque de C3G : ceftazidime (CAZ 30  $\mu$ g), et aztréonome (ATM 30  $\mu$ g)

##### **❖ Lecture**

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

- ✓ TCC et CZZ
- ✓ TCC et ATM

#### **B. Test de doubles disques**

Ce test devra être fait systématiquement devant l'absence de synergie avec diminution des diamètres de C3G (**Thibaut et al., 2018**).

Dans les conditions standard de l'antibiogramme :

- ✓ On dépose un disque d'AMC et un disque de C3G (CTX) à une distance de 30 mm centre à centre.
- ✓ On Laisse diffuser les antibiotiques pendant 1h, à température ambiante (sur la paillasse), la boîte sera déposée couvercle vers le haut.
- ✓ Après 1h d'incubation, on enlève le disque d'AMC et on le remplace par un disque de CTX.
- ✓ L'incubation de la boîte se fait 16 à 18h à 35 °C.

#### ❖ **Lecture et interprétation**

Le test du double disque est positif quand le diamètre d'inhibition autour de C3G, appliqué après diffusion du disque d'AMC est supérieur ou égal à 5 mm par rapport au diamètre d'inhibition autour du disque C3G.

#### **C. Détection de la résistance inductible à la clindamycine**

La détection de la résistance inductible à la clindamycine s'effectue chez toute souche résistante à l'érythromycine et sensible ou intermédiaire à la clindamycine (**Lin et al., 2018**).

Cette recherche se fait par la technique de diffusion des disques ou par dilution en milieu liquide. L'isolat est présumé résistant sur la base de la détection de la résistance inductible à la clindamycine. Le test se fait dans les conditions standard de l'antibiogramme :

On dépose un disque de clindamycine (CD) et un disque d'Erytromycine (E) à une distance de 12 mm.

#### ❖ **Lecture et interprétation**

Les souches présentant une résistance inductible à la clindamycine doivent être considérées comme résistantes.

#### **D. Screening test**

Un screening test est réalisé pour la détection de la résistance à la méticilline (résistance à l'oxacilline chez *Staphylococcus*) (**Lin et al., 2018**).

On peut rechercher la résistance à l'oxacilline due au gène *mecA* par le disque de céfoxitine (CX= FOX), soit par la technique de diffusion du disque sur milieu gélosé soit par

dilution en milieu liquide. Dans notre cas nous avons utilisé la technique de diffusion du disque sur milieu gélosé.

- ✓ On dépose un disque de CX (30ug) en milieu de la boîte.
- ✓ On Incube à une température de 33 à 35 °C.

❖ **Lecture**

- Après 16 à 18h
  - ✓ < 21mm : mec A (+)
  - ✓ > 22mm : mecA (-)
- Après 24 heures
  - ✓ < 24mm : mec A (+)
  - ✓ > 25mm : mec A (-)

❖ **Interprétation**

La céfoxitine est utilisée pour détecter la résistance à l'oxacilline médiée par le gène mec A. Les souches mecA positives doivent être reportées oxacillines résistants et non pas CX résistantes.

## ***Résultats et discussion***

## II. RESULTATS ET DISCUSSION

Durant la période de stage, nous avons collecté 223 prélèvements biologiques (118 prélèvements d'urines et 105 prélèvements de pus). Notre échantillon était composé de femmes et d'hommes appartenant à différentes tranches d'âges. Les prélèvements étudiés provenant de personnes coopératives (infections communautaires) et hospitalisés (infections nosocomiales).

### II.1 Données épidémiologiques

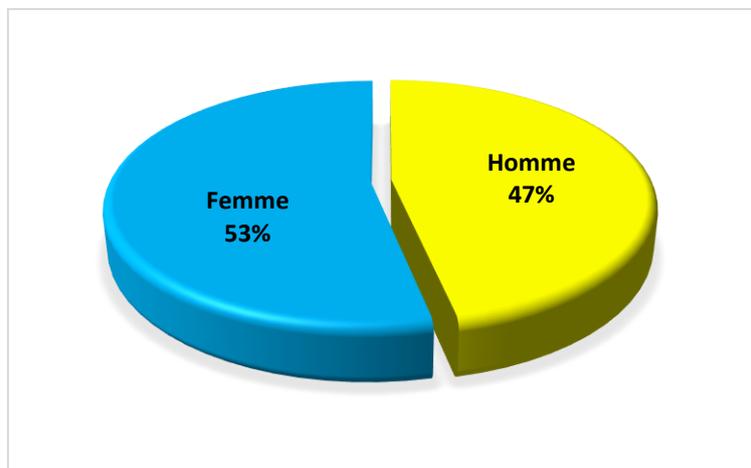
#### II.1.1 Prélèvements des urines

Durant la période d'étude, 118 prélèvements d'urines ont été recueillis. 100% des prélèvements sont issus des patients non hospitalisés.

L'analyse des aspects épidémiologiques de ces prélèvements a été faite en fonction des paramètres suivants :

##### ❖ Sexe

La population était majoritairement féminine soit 63 femmes (53%) et 55 hommes (47%) (**Figure 16**).



**Figure 16** : Répartition des prélèvements urinaires selon le sexe

##### ❖ Age

La répartition des patients selon l'âge (**Figure 17**) montre une prédominance des tranches d'âges 20 à 30 ans et 30 à 40 ans.

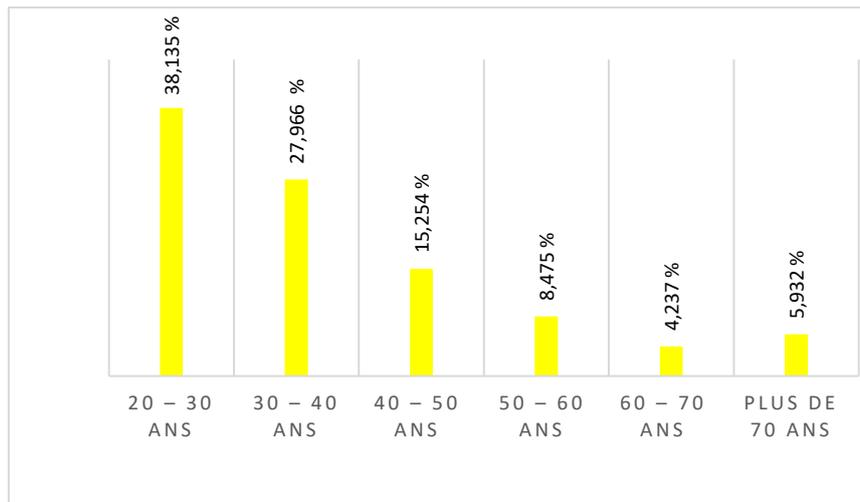


Figure 17 : Répartition des prélèvements urinaire selon les tranches d'âge

❖ Répartition des prélèvements selon la culture

Dans notre étude, la fréquence des infections urinaires communautaires était de 37%. Ce taux a été calculé à partir des 118 examens cyto bactériologiques des urines, dont 42 répondaient aux critères d'IU (Figure 18).

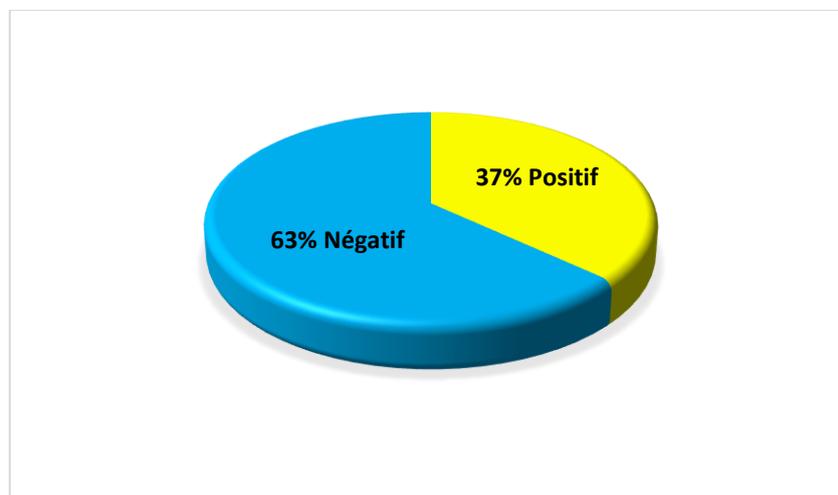
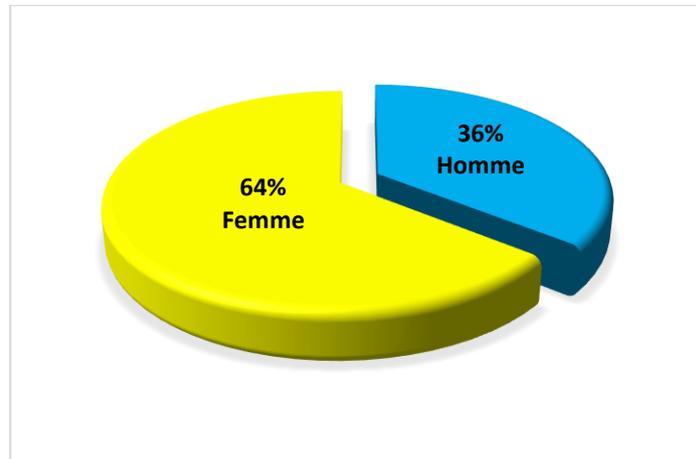


Figure 18 : Taux de prélèvements urinaires positifs

Nos résultats sont comparables à ceux de **Benali (2019)** (Nador, Maroc) et **Elharch (2013)** (Rebat, Maroc), qui ont obtenu respectivement des pourcentages de 20,21% et 26,35%.

❖ **Répartition des prélèvements positifs selon le sexe**

Parmi les 42 cas positifs, les résultats montrent que 64 % (n = 27) des patients sont des femmes et uniquement 36 % (n = 15) des cas sont des hommes (**Figure 19**).



**Figure 19** : Répartition des prélèvements urinaires positifs selon le sexe

Selon **Bergogne (2008)**, les femmes sont plus recensées grâce au nombre plus élevé d'ECBU demandés (grosses, ménopause...). Par contre chez l'homme, l'effet des sécrétions prostatiques permet d'offrir une protection supplémentaire.

Nos résultats sont comparables à ceux de **Bouarroudj et Boutebza (2016)**. Les auteurs ont confirmé que le sexe féminin est le plus touché par les infections urinaires. Cette prédominance féminine est en raison de :

- La nature anatomique : la proximité entre l'anus et l'orifice externe de l'urètre facilite l'accès des bactéries à la vessie.
- En outre la grossesse, l'usage d'un diaphragme comme moyen contraceptif et l'usage des serviettes hygiéniques pendant une longue durée durant la période de menstruation augmente le risque d'infections urinaires.
- Les rapports sexuels favorisent la progression des bactéries urétrales dans la vessie.

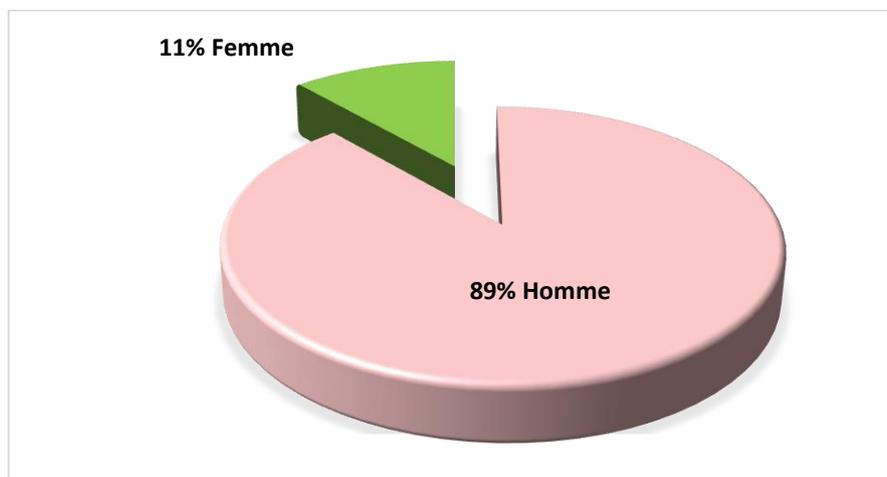
### II.1.2 Prélèvements de Pus

Durant toute la période d'étude, 105 prélèvements de pus ont été collectés. 43 (40,952%) prélèvements proviennent de patients hospitalisés dans le service de diabétologie de l'EPH Blida, et 62 prélèvements (59,047%) proviennent de patients non hospitalisés (clinique privé).

L'analyse des aspects épidémiologiques des 105 prélèvements a été analysé en fonction des paramètres suivants :

#### ❖ Sexe

La population était majoritairement masculine soit 93 hommes (89%) et 12 femmes (11%) (**Figure 20**).



**Figure 20** : Répartition des prélèvements de pus selon le sexe

#### ❖ Age

La répartition des patients selon l'âge montre une prédominance des personnes âgés plus de 70 ans (**Figure 21**).

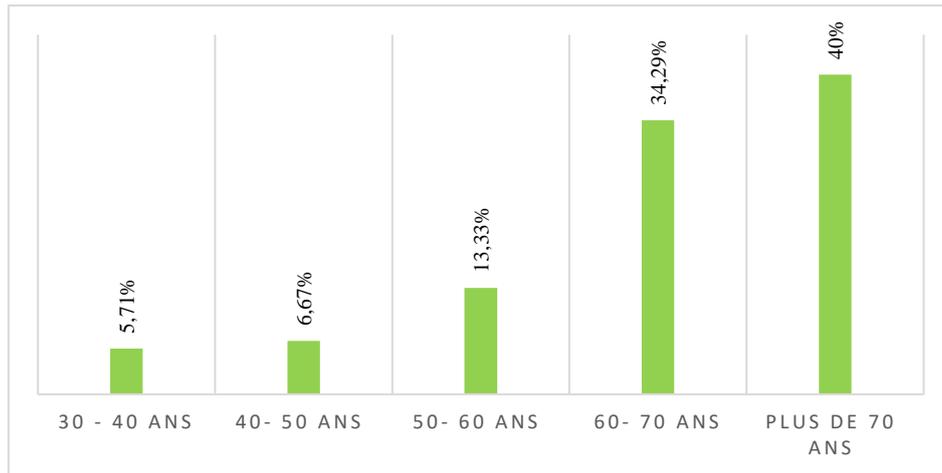


Figure 21 : Répartition des prélèvements de pus selon l'âge.

❖ Répartition des prélèvements selon la culture

Parmi les 105 prélèvements, 94 étaient positifs (90 %) (Figure 22).

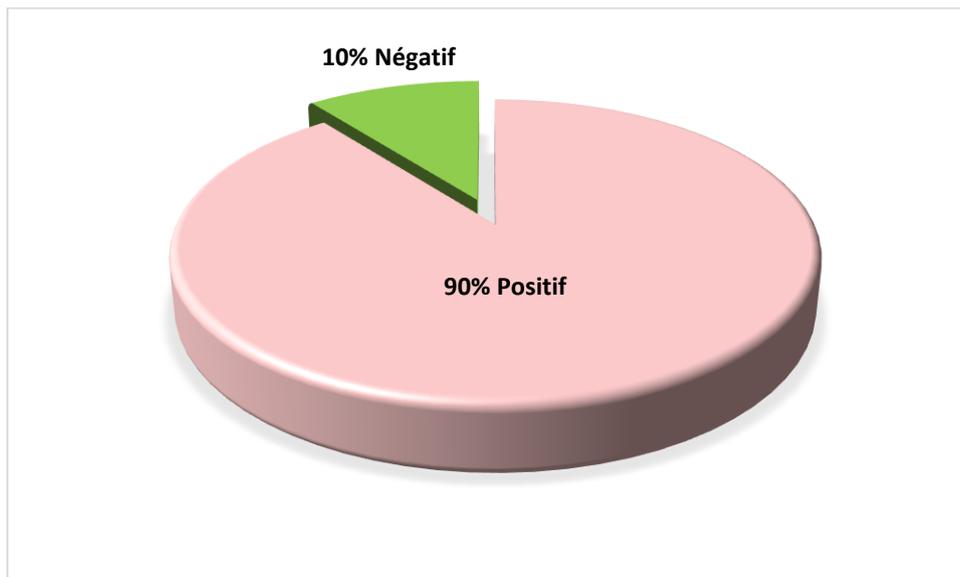


Figure 22 : Taux de prélèvements de pus positifs

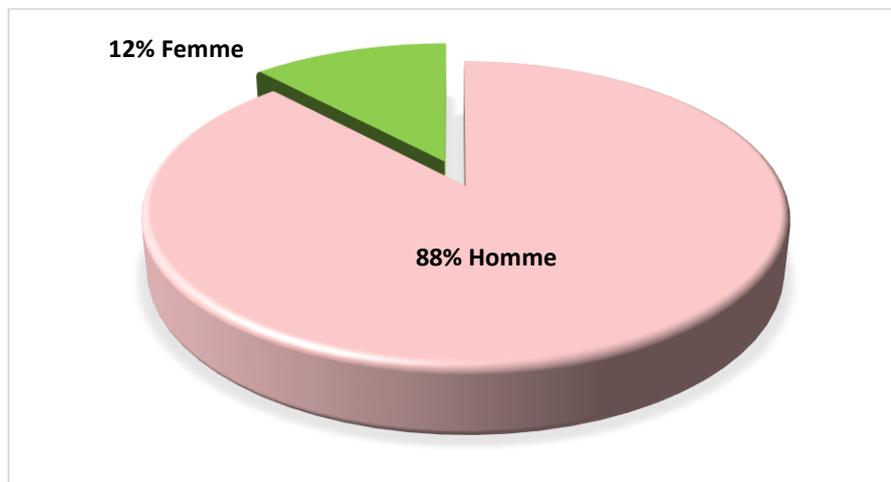
Nos résultats sont similaires à ceux de **Gomatheswari et Jeyamurugan (2017)**, qui ont obtenu un pourcentage de 78,55% de cultures positives, mais sont supérieurs à ceux trouvés par **Mahat et al., (2017)** avec 43,7% de cultures positives.

Ce qui signifie qu'il y a un grand taux d'infections du pied diabétique chez les patients diabétiques, et cela a été démontré par d'autres études comme celle de **Van (2014)** en France.

Les cultures négatives pourraient s'expliquer soit par la présence de germes exigeants (ne poussant pas dans les milieux usuels notamment les germes anaérobiques), soit elles sont liées le plus souvent à un traitement antibiotique entrepris durant la période de prélèvement ou bien à la suspicion d'infection qui n'a pas lieu.

❖ **Répartition des prélèvements positifs selon le sexe**

Les 94 prélèvements positifs étaient répartis comme suit : 83 prélèvements (88%) positifs chez les hommes et 11 prélèvements positifs (12%) chez les femmes (**Figure 23**).



**Figure 23** : Répartition des prélèvements de pus positifs selon le sexe

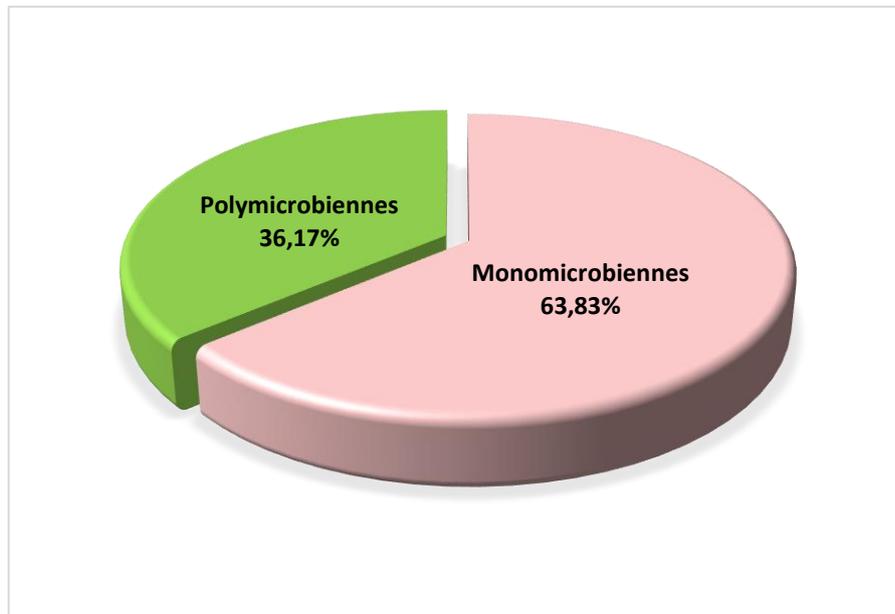
Des résultats similaires ont été obtenus par **Awalou et al., 2012** au Togo, qui ont rapporté que le sexe masculin prédominait dans les infections du pied diabétique. Alors que dans une autre étude **Boudina et al., (2017)** (CHU de Annaba) ont noté une prédominance féminine.

Selon **Gomatheswari et Jeyamurugan (2017)**, l'infection purulente montre une prédominance chez le sexe masculin. Cette prédominance masculine pourrait être expliquée par :

- Activités favorisant des microtraumatismes (activité physique, terrain accidenté).
- Tabagisme.
- Ou l'inégalité de la taille de la population étudiée.

❖ **Répartition des prélèvements positifs selon le type de culture**

L'analyse cyto bactériologique du pus nous a permis de classer les cultures en deux groupes : cultures monomicrobiennes avec un taux de 63,83% et cultures polymicrobiennes avec un taux de 36,17% (**Figure 24**).



**Figure 24** : Répartition des résultats positifs selon le type de culture

Nos résultats sont en concordance avec ceux rapportée par **Verma, (2012)** et ceux retrouvés par **Amin et al., (2017)** qui ont trouvé des taux de 84,31% et 79,92% des cultures monomicrobiennes respectivement.

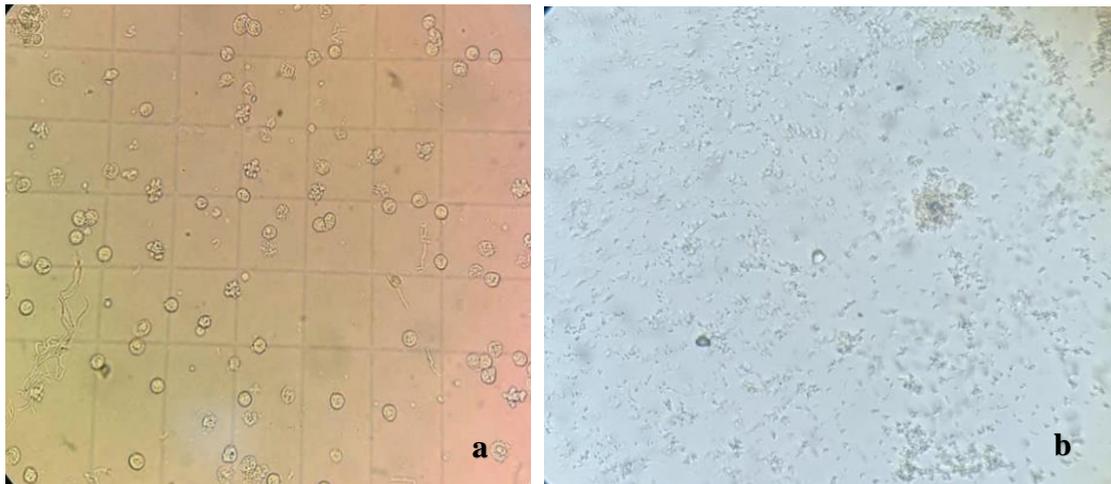
Les cultures polymicrobiennes peuvent être issues de prélèvements effectués au niveau de zones superficielles qui sont donc contaminés directement par la flore commensale ou bien de prélèvements effectués au niveau de zones profondes communiquant avec des flores commensales qui peuvent contaminer le prélèvement.

## **II.2 Données microbiologiques**

### **II.2.1 Résultats de l'examen cytologique**

#### **A) Etat frais**

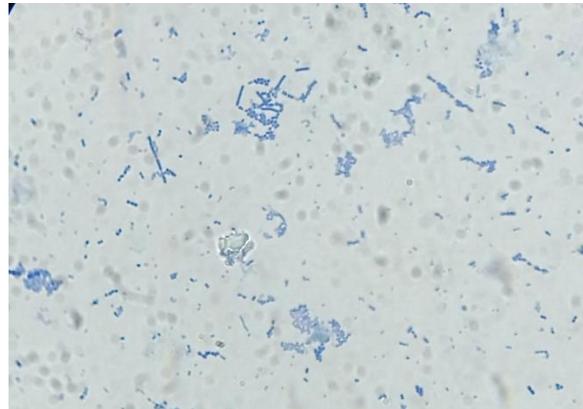
L'examen à l'état frais des deux types de prélèvements nous a fourni un ensemble d'informations qui concerne la présence ou l'absence des bactéries, les réactions cellulaires immunitaires ainsi que le taux de cristaux pour les urines (numération cellulaire) (**Figure 25**).



**Figure 25** : Observation microscopique à l'état frais : a) urine, b) pus (**Photos original, 2022**)

### **B) Coloration au bleu de méthylène**

La lecture des différents frottis colorés au bleu de méthylène nous a fourni un ensemble d'informations qui concerne les bactéries présentes dans le pus (formes et mode de regroupement) (**Figure 26**).



**Figure 26** : Frottis coloré au bleu de méthylène (**Photo originale, 2022**).

### **II.2.2 Résultats de l'identification morphologique des souches isolées (étude macroscopique)**

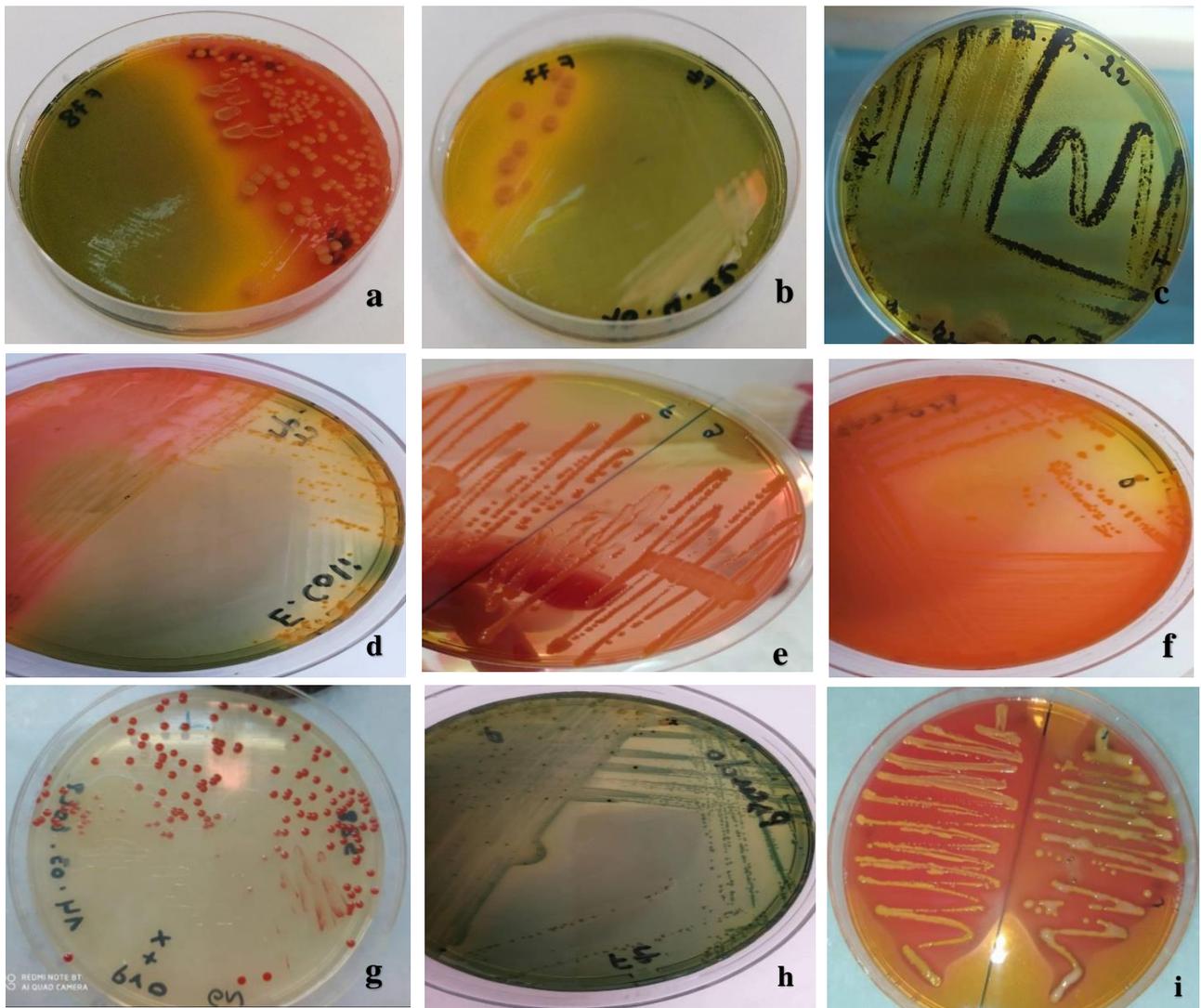
Après incubations, les isolats bactériens ont montré divers aspects cultureux. Des espèces différentes forment des colonies caractéristiques. La forme, la taille, l'aspect, la couleur

des colonies et parfois même l'odeur peuvent nous orienter vers un groupe déterminé de bactéries.

L'aspect des colonies caractéristiques observées sur différents milieux de culture sont :

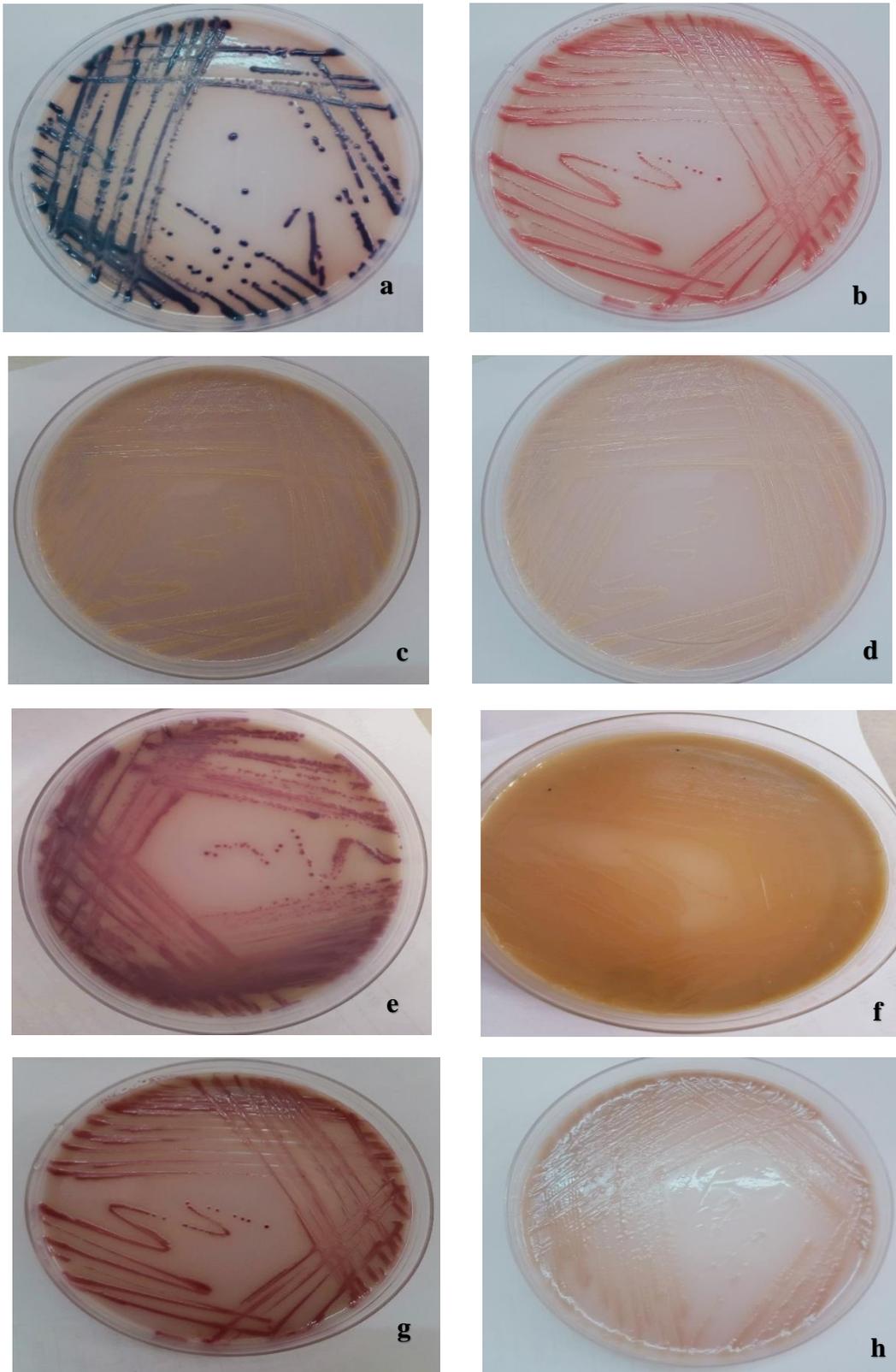
**a) Bacilles à Gram négatif fermentaires**

- *Providencia rettgeri* : des petites colonies vertes ou bleuâtres sur gélose HK (**Figure 27 a**).
- *Proteus mirabilis* et *Proteus vulgaris* : sur GN, les colonies de *Proteus mirabilis* apparaissent en forme des vagues concentriques. Sur milieu HK de petites colonies rondes bleu vert a centre noire avec une odeur désagréable, alors que *Proteus vulgaris* donne des colonies de couleur "saumon" à centre noire (**Figure 27 b et c**).
- *Escherichia coli* : sur milieu HK, les colonies apparaissent de couleur jaune orangé, larges, lisses, brillantes avec un aspect d'œuf sur plat (**Figure 27 d**).
- *Klebsiella spp* : grosses colonies bombées, rondes, muqueuses, lisses ayant un aspect gras et coulant, lactose positive sur milieu Hektoen (**Figure 27 e**).
- *Serratia spp* : des colonies jaune saumon sans centre noire sur gélose HK. La pigmentation rouge sur gélose nutritive est due à l'espèce *Serratia mercences* (**Figure 27 f et g**).
- *Citrobacter spp* : colonies jaune saumon avec centre noire sur gélose HK (**Figure 27 h**).
- *Enterobacter cloacae* : colonies de couleur jaune orangé ressemblant aux autres entérobactéries, seule l'identification biochimique qui permet de le différencier (**Figure 27 i**).



**Figure 27 :** Aspect macroscopiques des différentes espèces d'entérobactéries :

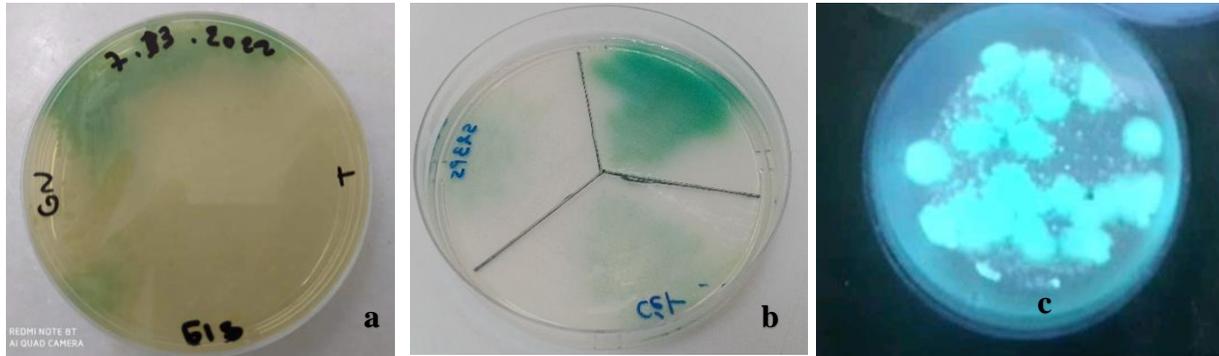
- a) *Providencia rettgerii*, b) *Proteus vulgaris*, c) *Proteus mirabilis*, d) *E. coli*, e) *Klebsiella oxytoca*, f) *Serratia odorifera*, g) *Serratia marcescens*, h) *Citrobacter barakii*,  
i) *Enterobacter cloacea* (Photos original, 2022).



**Figure 28** : Aspect des colonies sur milieu chromogène : a) *Klebsiella* sp, b) *E. coli*, c) *Providencia* sp, d) *Staphylococcus aureus*, e) *Serratia* sp, f) *Proteus* sp, g) *Citrobacter* sp, g) *Pseudomonas aeruginosa* (Photos originales, 2022).

**B) Bacilles à Gram négatif non fermentaires**

- *Pseudomonas aeruginosa* : des colonies verdâtres sur GN et HK à bord irrégulier, rugueuses, bombées présentant des reflets métalliques. Une pigmentation jaune-vert et une fluorescence sous ultra-violets sur gélose au cétrimide (**Figure 29**).

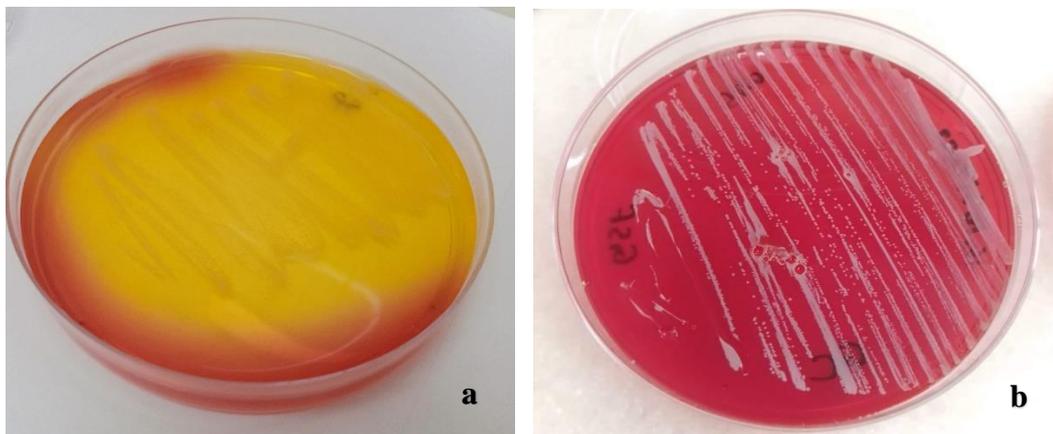


**Figure 29** : Aspect des colonies de *Pseudomonas aeruginosa* sur : a) gélose nutritive, b) gélose au cétrimide, c) gélose au cétrimide sous UV (**Photos originales, 2022**).

**C) Cocci à Gram positif**

- *Staphylococcus aureus*

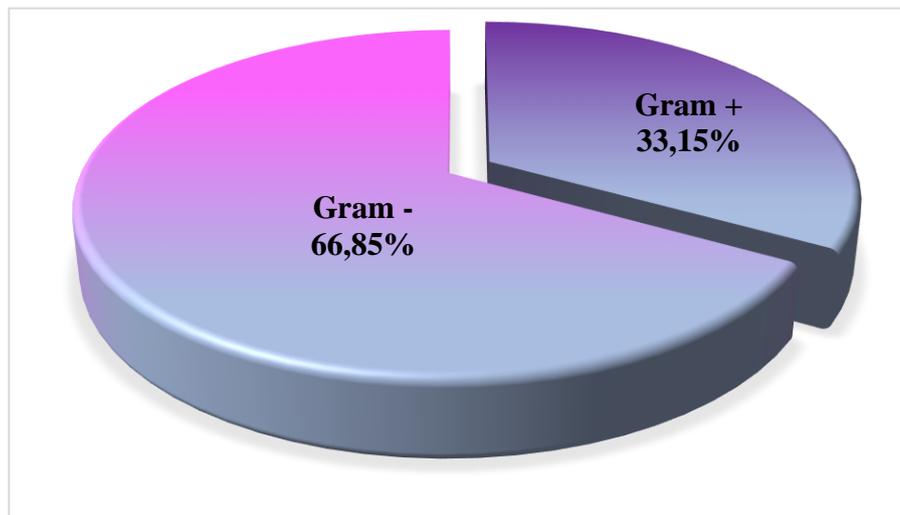
Colonies pigmentées en jaune dorée, lisses, bombées et plus ou moins grosses, dégradant le mannitol sur milieu Chapman (**Figure 30**).



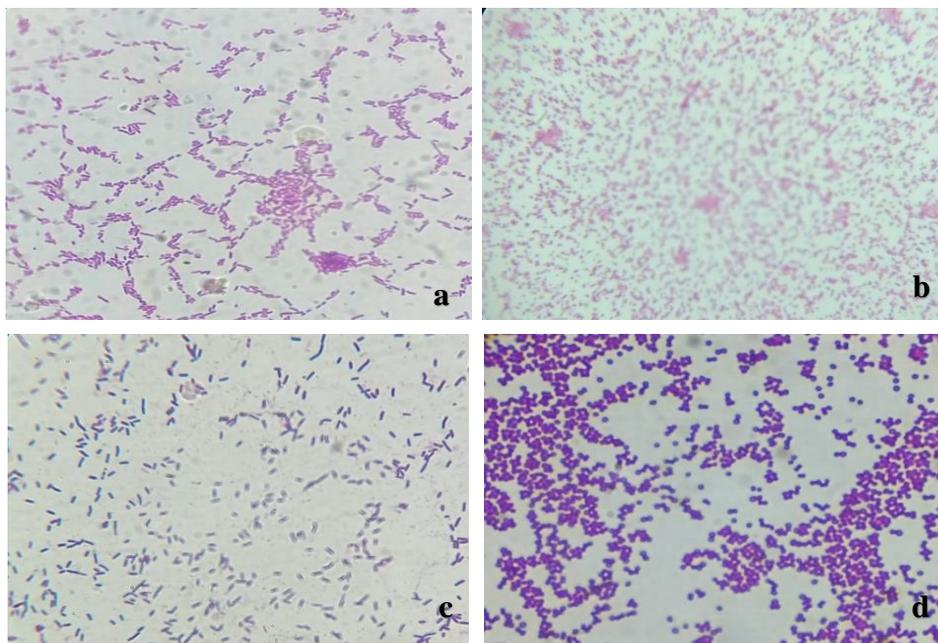
**Figure 30** : Aspect des colonies de *Staphylococcus aureus* sur : a) gélose Chapman, b) gélose au sang frais (**Photos originales, 2022**).

### II.2.3 Résultats de la coloration de Gram (Etude microscopique)

A partir de l'ensemble des cultures positives (n= 136), nous avons isolé et identifié au total 178 germes réparties comme suit : 42 germes à partir des urines et 136 à partir de pus. Les résultats indiquent que 66,85% (n = 119) du total des isolats sont des bactéries à Gram négatif alors que 33,15% (n = 59) sont des bactéries à Gram positif (**Figure 31 et 32**).



**Figure 31** : Répartitions des résultats selon la coloration de Gram



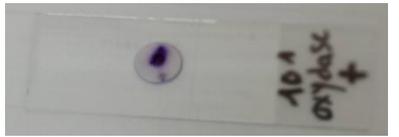
**Figure 32** : Résultats de coloration de Gram : a) bacilles à Gram négatif, b) coccobacilles à Gram négatif, c) bacilles à Gram positif, d) Cocci à Gram positif (**Photos originales, 2022**).

## II.2.4 Tests d'orientations

### a. Tests de catalase et d'oxydase

Les résultats du test de catalase et d'oxydase sont présentés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau IV.** Résultats des tests de catalase et d'oxydase

	<b>Catalase</b>	<b>Oxydase</b>
<b>Nombre de positif</b>	59	12
<b>Photos originales</b>		

### b. Test de coagulase

Après 24h d'incubation, le test de coagulase était positif pour les souches de *S. aureus* (Figure 33).



**Figure 33 :** Résultat du test de coagulase (Photo originale, 2022)

## II.2.5 Résultats de l'identification biochimique

### a. Identification des bacilles à Gram négatif fermentaire

L'identification des BGN fermentaire, oxydase négative par galerie API 20E est représenté dans le tableau suivant :

Tableau V. Résultats d'identification biochimique des Entérobactéries

Germes	Photos originales
<i>Proteus mirabilis</i>	
<i>Proteus vulgaris</i>	
<i>Escherichia coli</i>	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
<i>Klebsiella oxytoca</i>	
<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	
<i>Serratia liquefaciens</i>	
<i>Serratia odorifera</i>	
<i>Serratia marcescens</i>	

<p><i>Providencia</i> <i>rettgeri</i></p>	
<p><i>Citrobacter</i> <i>baraakii</i></p>	
<p><i>Enterobacter</i> <i>cloacae</i></p>	

**b. Identification des bacilles à Gram négatif non fermentaire**

L'identification des BGN non fermentaire, oxydase positive par galerie classique est représenté par la **figure 34**.



**Figure 34** : Galerie classique de *Pseudomonas aeruginosa* (Photo originale, 2022)

**c. Identification des Cocci a Gram positif**

Après identification des *S. aureus* par les tests de catalase et de coagulase, par API STAPH, le tableau suivant montre les résultats :

**Tableau VI.** Résultats des tests de confirmation de *S. aureus*

Test	Résultat
API STAPH	

**II.3 Répartition des bactéries isolées selon le type de prélèvement**

**a) Urines**

Nous avons isolé 42 souches à partir d’urines. Le profil des germes isolés montre une nette prédominance des entérobactéries. On retrouve *Escherichia coli* avec une fréquence de 50 % (n = 21) suivie de *Klebsiella pnemoniae* (24 %) (n = 10) puis *Proteus mirabilis* (17%) (n = 7).

Alors que *Staphylococcus* coagulase positive à un taux de 9% (n =4) (**Tableau V**).

**Tableau VII.** Nombre des bactéries isolées à partir des urines selon l’espèce

La famille	L’espèce	Nombre (n)	Pourcentage (%)
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Escherichia coli</i>	21	50%
	<i>Klebsiella pnemoniae</i>	10	24%
	<i>Proteus mirabilis</i>	7	17%
<i>Staphylococcaceae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	4	9%

Cette répartition est globalement comparable à celle retrouvée dans l’étude de **Chervet (2015)**, qui a trouvé une répartition avec près de 70 % d’*E. coli*, 8 % de *Klebsiella sp* et 5,6 % de *Proteus sp*.

**Sharma et Paul (2012)**, ont également identifié dans les urines : *E. coli* (33,3 %) suivi par *Klebsiella pneumoniae* (11,1 %), *Staphylococcus* à coagulase négatif (7,4%) et *Proteus mirabilis* (3,7 %).

La prédominance d'*E. coli* ne peut s'expliquer que par le fait que cette espèce est la plus dominante de la flore intestinale et qu'elle peut migrer de l'intestin vers l'appareil urinaire. Par ailleurs *E. coli* fait partie des coliformes fécaux, qui dans de mauvaises conditions d'hygiène et de nettoyage de la partie intime, peut facilement coloniser la vessie.

#### **b) Pus**

Parmi les 94 prélèvements positifs, nous avons isolé 136 germes dont 111 étaient pathogènes. La famille des *Enterobacteriaceae* prédomine avec un pourcentage de 59,5% (n = 66) suivi par la famille des *Staphylococcaceae* (29, 72%) (n =33) et enfin la famille des *Pseudomonadaceae* (10 ,81%) (n = 12).

Dans l'ensemble des espèces identifiées et sur les 66 souches d'Entérobactéries isolées nous avons noté une prédominance de *Proteus mirabilis* avec un taux de 21,62% (n = 24), suivi par *Proteus vulgaris* avec un taux de 9,01 % (n = 10), puis *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Serratia odorifera* (n =5) avec une prévalence de 4,5% et en quatrième position *Providencia rettgeri* 3,6% (n = 4). Les autres espèces montrent une fréquence moins importante : *Serratia liquefaciens* (2,7%) (n = 3), *Serratia marcescens* et *Enterobacter cloacae* (1,8 %) (n = 2), et en dernière position nous avons *Citobacter braakii* et *freundii* (0,9%).

Concernant le groupe des staphylocoques, les résultats obtenus ont montré une prédominance de *Staphylococcus aureus* avec n= 33 soit un taux de 29,73% (**Tableau IV**).

**Tableau VIII.** Répartition globale des différentes espèces isolées à partir du pus.

La famille	L'espèce	Nombre (n)	Pourcentage (%)
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	24	21,62%
	<i>Proteus vulgaris</i>	10	9,01%
	<i>E. coli</i>	5	4,5%
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5	4,5%
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	1,8%
	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	2	1,8%
	<i>Serratia odorifera</i>	5	4,5%
	<i>Serratia liquefacience</i>	3	2,7%
	<i>Serratia marcescens</i>	2	1,8%
	<i>Providencia rettgeri</i>	4	3,6%
	<i>Citobacter braakii</i>	1	0,9
	<i>Citobacter freundii</i>	1	0,9
	<i>Enterobacter cloacae</i>	2	1,8%
<i>Pseudomonadaceae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12	10,81%
<i>Staphylococcaceae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	33	29,73%

Similairement à nos résultats, l'étude réalisée par **Labani (2016)** montre que les infections modérées à sévères et les infections de plaies traumatiques sont souvent polymicrobiennes avec une prédominance des BGN (famille des entérobactéries) suivi par les Cocci Gram positives.

En ce qui concerne la répartition par espèce, nous avons obtenu les mêmes espèces de bactéries que celles obtenues par **Labani (2016)** au cours de son étude, avec une légère différence.

La littérature médicale rapporte que les infections du pied diabétique sont dominées par les bactéries à Gram positif. Cette prédominance reste cependant non universelle puisque des

études récentes, menées dans des pays d’Afrique et d’Asie, ont rapporté la prédominance des bactéries à Gram négatif (BGN) dans les infections du pied diabétiques (**Mané et al., 2019**).

Cette disparité géographique n’a pas encore d’explication claire. Elle serait liée à des facteurs environnementaux climatiques, à la prise préalable d’antibiotiques ou aux pratiques d’hygiène personnelle ou de chaussage. Des facteurs techniques de prélèvements ou de culture pourraient également être à l’origine de cette différence.

Nos résultats sont similaires à ceux rapportés par **Krir et al., (2013)**, qui ont noté que les bactéries à Gram négatif dominant (78,1%) avec *Proteus mirabilis* (30,7%) qui fait partie du microbiote intestinal de l’homme et de l’animal. Les bactéries à Gram sont retrouvées aussi à l’état saprophyte sur la peau et les muqueuses. En raison de leurs habitats variés, elles ont plusieurs voies possibles d’infections humaines.

Selon **Richard et al., (2011)** ; **Wang et al., (2010)** et **Citron et al., (2007)**, *Staphylococcus aureus* est le pathogène le plus fréquemment isolé dans les infections du pied diabétiques. Ce qui rejoint les résultats obtenus dans cette étude.

#### **II.4 Profil d’antibiorésistance**

Au cours de cette étude, l’antibiogramme réalisé a été effectué sur chaque souche isolée afin de déterminer sa sensibilité et sa résistance vis-à-vis de divers antibiotiques selon la standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l’échelle nationale 8<sup>ème</sup> Edition 2020.

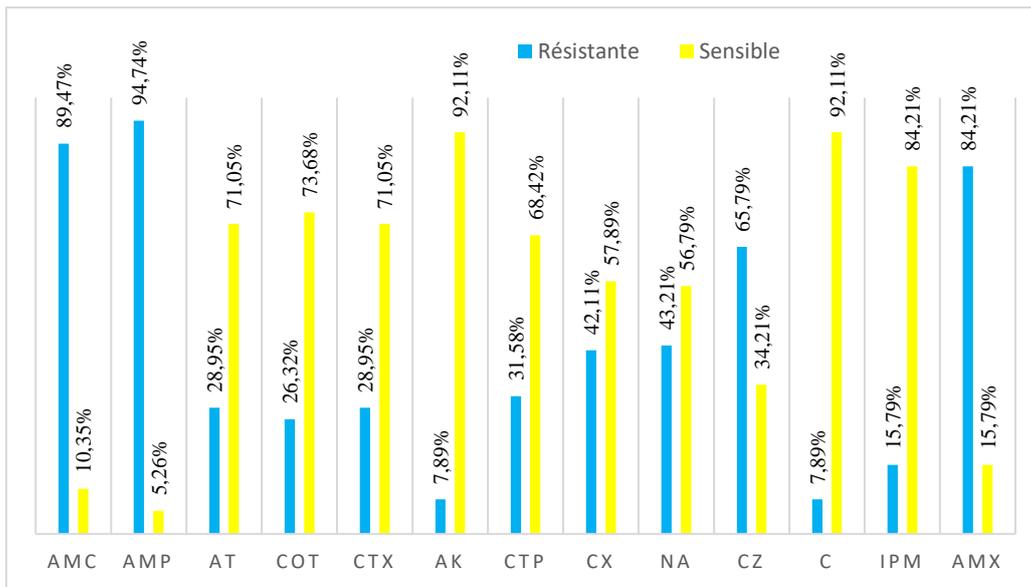
Les diamètres des zones d’inhibition mesurés ont été comparés aux diamètres critiques conformément aux normes.

##### **II.4.1 Profil d’antibiorésistance des bactéries isolées à partir des urines**

###### **A. Entérobactéries**

Les souches d’entérobactéries (**Figure 35**) ont montré une résistance à de nombreux  $\beta$ -lactamines. Les taux de résistance étaient les suivants : AMP (94.74%), AMC (89.47%), AMX (84.21 et CZ (65.79%).

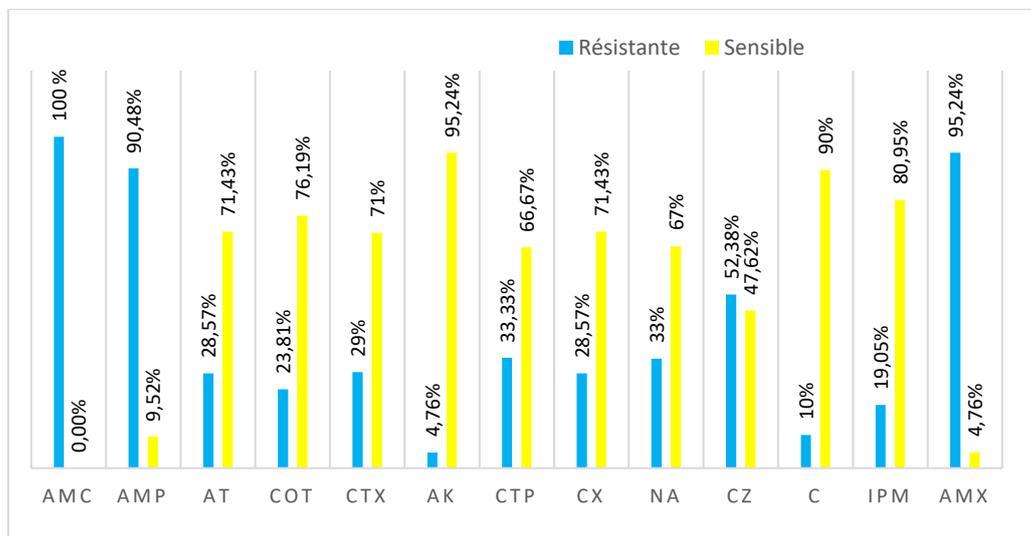
Nous avons noté une résistance totale des entérobactéries à l’Ampicilline, contrairement au chloramphénicol auquel la totalité des souches a été sensible (92,11%).



**Figure 35 :** Résistance des entérobactéries isolées à partir des urines aux antibiotiques

➤ *E. coli*

Les 21 souches d'*E. coli* ont été fortement sensibles à l'AK (95,84, %), IPM (80,95%) et COT (76,19%). Cependant elles ont été faiblement sensibles à AMP (9,52%) et AMX (4,76%). Nous avons noté une résistance totale des souches à l'AMC (**Figure 36**).



**Figure 36 :** Résultats de l'étude de l'antibiorésistance des souches d'*E. coli* isolés à partir des urines

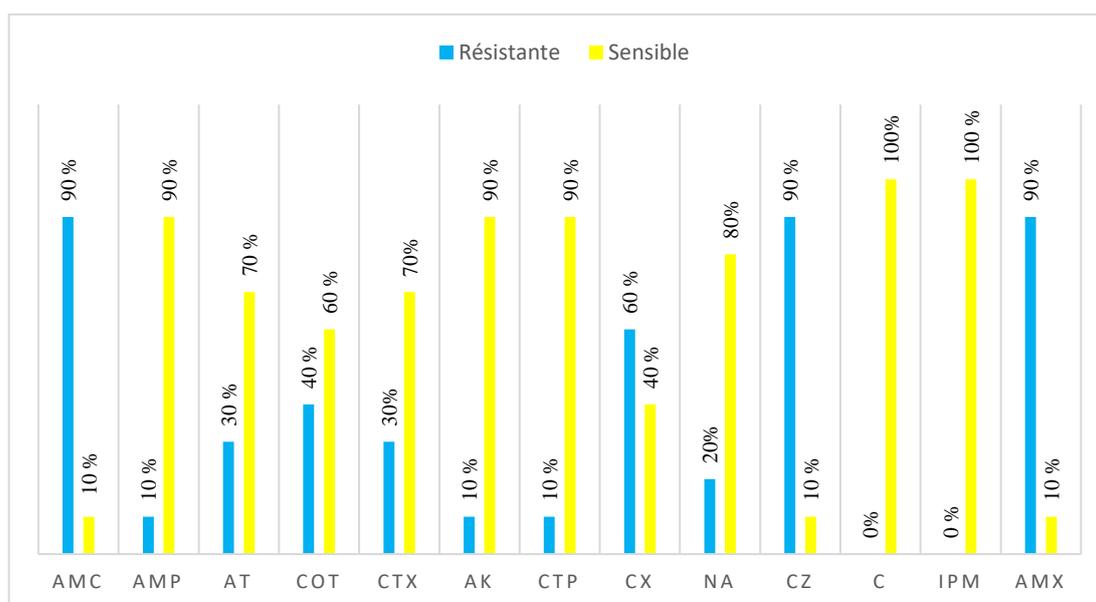
La résistance à l'amoxicilline (AMX) obtenue dans notre étude était inférieure à celles rapportées dans les travaux de **Kashef (2010)** en Iran et de **Kothari (2008)** en Inde.

La résistance à l'amikacine (AK) était faible, ce qui correspond aux résultats de **Kothari (2008)** et de **Kashef (2010)**.

Cette résistance remarquée est la résultante de l'utilisation très répandue de ces molécules aussi bien en milieu communautaire que nosocomial. Alors qu'en situation actuelle, dans beaucoup de pays (France, Espagne, Italie, Tunisie, pays d'Afrique subsaharienne) ne donnant plus de résultat ; ces antibiotiques ont été abandonnés dans les traitements empiriques (**Baouta, 2001**).

➤ *K. pneumoniae*

Une sensibilité totale de l'ensemble des souches isolées de *K. pneumoniae* a été notée vis-à-vis de l'IPM et du C. nous avons constaté une forte sensibilité (90%) à AMP, l'AK et le CIP et une forte résistance (90%) à l'AMC, AMX et le CZ (**Figure 37**).



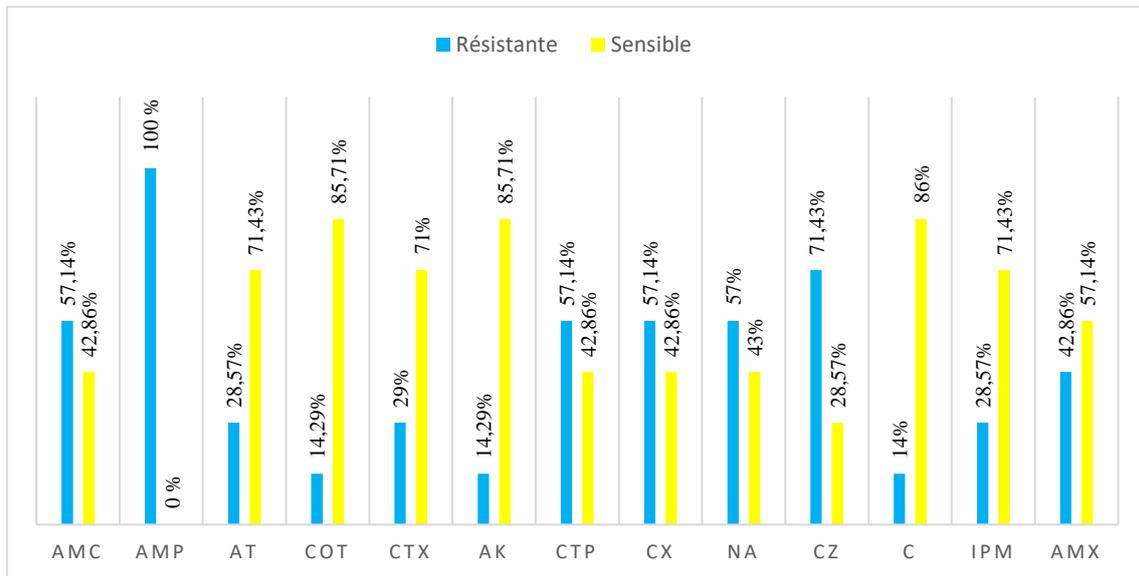
**Figure 37** : Résultats de l'étude de l'antibiorésistance des souches de *K. pneumoniae* isolées à partir des urines

Ces résultats rejoignent ceux d'une étude de **Amrani et Bechiri (2018)** et sont relativement proche de l'étude de **Chakrani (2013)** à Rabat.

*Klebsiella* a connu une émergence de résistance importante vis à vis des antibiotiques testés. L'isolement des souches de *Klebsiella* productrice des bêta-lactamases surtout à médiation plasmidique a conféré une résistance à toutes les bêtalactamines et notamment les céphalosporines de troisième génération (**Ndog, 2010**).

➤ *P. mirabilis*

La totalité des souches de *P. mirabilis* étaient résistantes à l'AMP, 71,43 % résistant aux CZ cependant 57,14% des souches ont montré une résistance moyenne à l'AMC, la CIP et le CX (**Figure 38**).

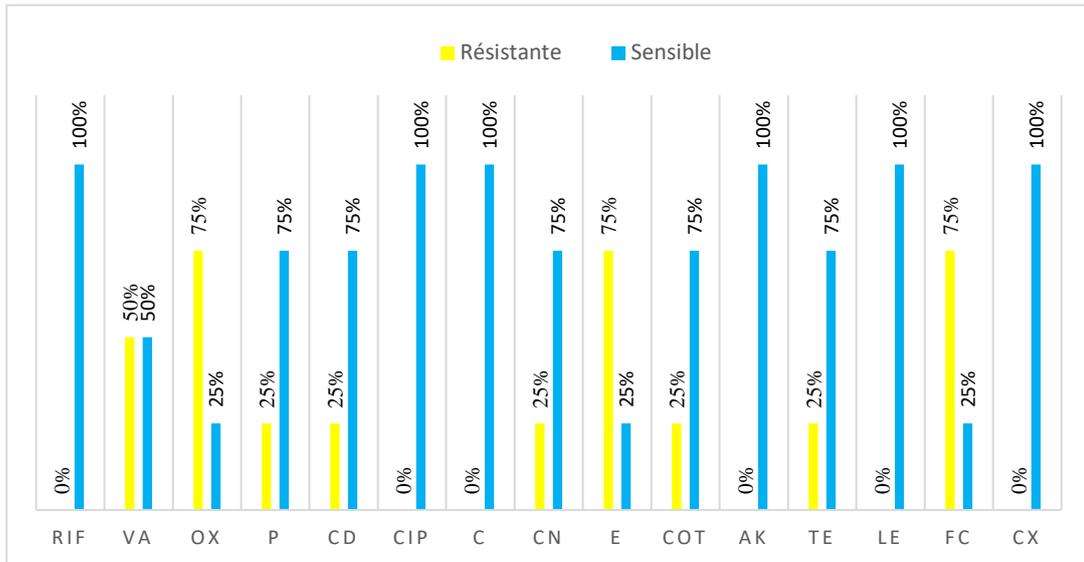


**Figure 38** : Résultats de l'étude de l'antibiorésistance des souches de *P. mirabilis* isolées à partir des urines

Selon **Sissoko (2006)**, la sensibilité aux CIP, CZ, AK et le C est très élevée ce que ne corrobore pas avec nos résultats.

**B. *Staphylococcus aureus***

Les résultats de l'antibiogramme ont montré que 100% des souches se *S. aureus* étaient sensibles à la RIF, l'AK, la CIP, la CX, la LE et le C. Alors que 75% des souches étaient résistantes à la FC et l'E (**Figure 39**).



**Figure 39 :** Résultats de l'étude de l'antibiorésistance des souches de *S. aureus* isolés à partir des urines

L'étude réalisée par **Ben Haj Khalifa (2010)** montre que toutes les souches *Staphylococcus aureus* étaient sensibles aux aminosides. Ces résultats sont comparables avec ceux que nous avons obtenus.

#### II.4.2 Profil d'antibiorésistance des bactéries isolées à partir de pus

##### A. Entérobactéries

L'étude de la résistance des 66 souches d'entérobactéries aux différents antibiotiques a montré que ces bactéries étaient résistantes à l'AMP, l'AMC, l'AMX et le CZ. Les taux de sensibilité étaient de 96.97%, de 92.22 % et de 78.79 % pour l'AK, l'IPM et l'AT respectivement (**Figure 40 et 41**).

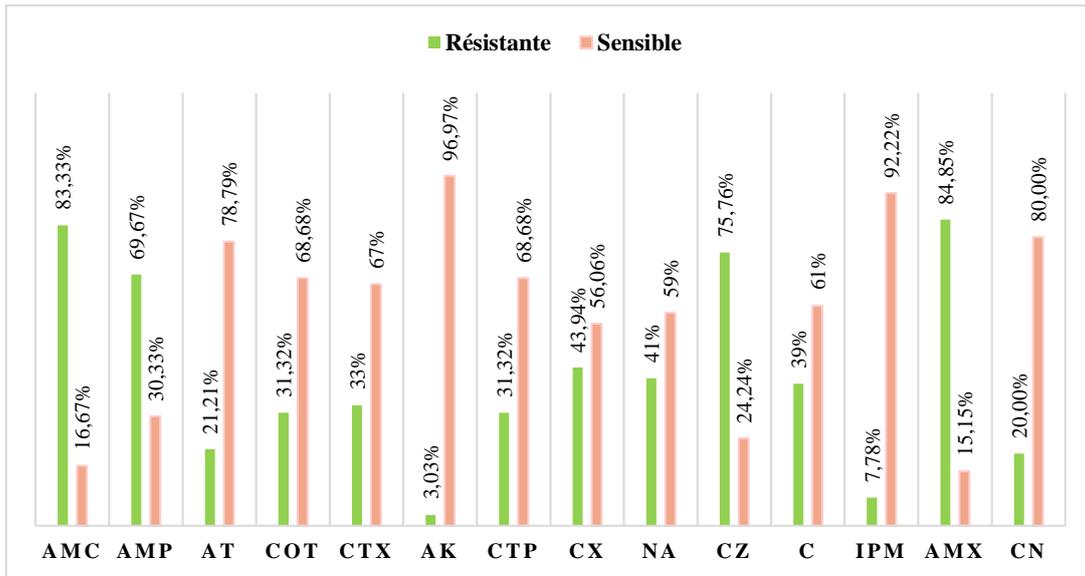


Figure 40 : Résistance des entérobactéries isolées à partir du pus aux antibiotiques

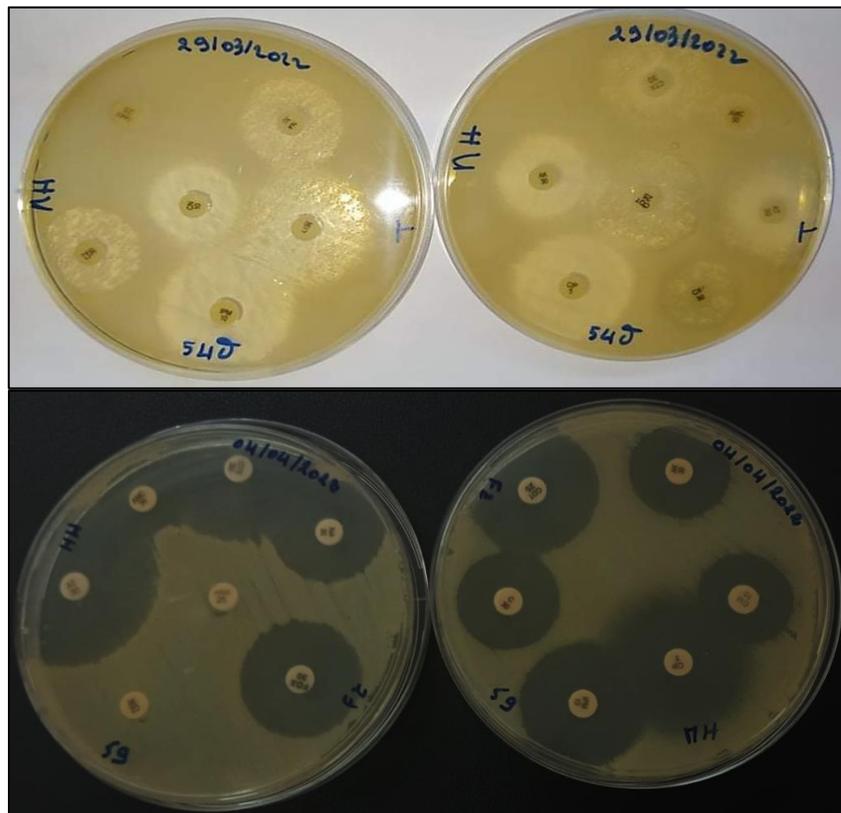
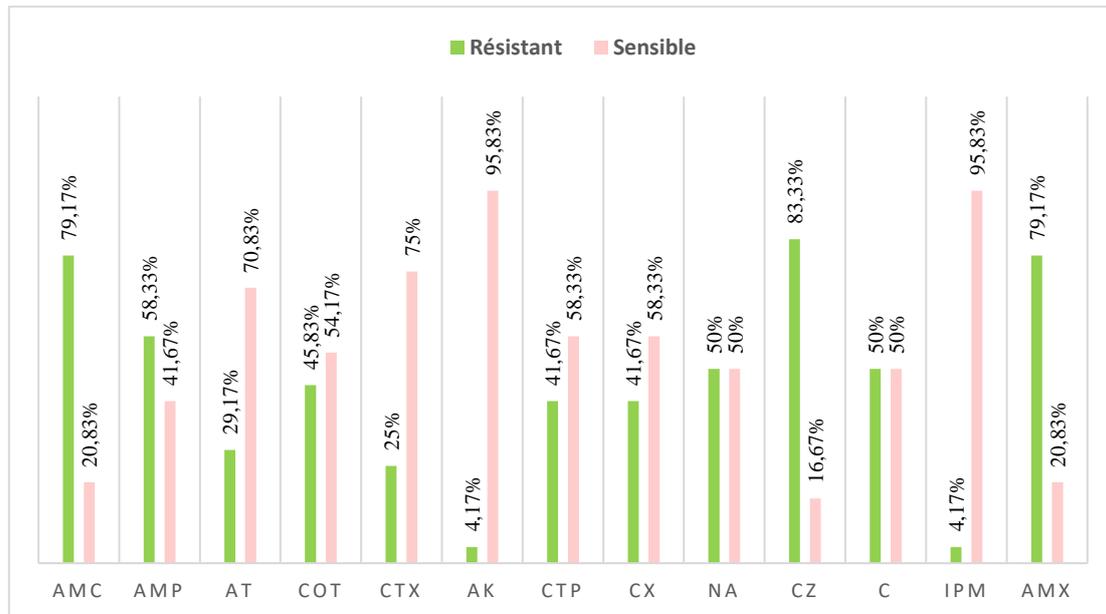


Figure 41 : Zones d'inhibition des Entérobactéries par les antibiotiques testés  
(Photos originales, 2022)

➤ *P. mirabilis*

Les 24 souches de *P. mirabilis* isolées ont montré une résistance élevée vis-à-vis de la CZ (83,33%), de l'AMC (79,17 %) et de l'AMX (79,17%). Alors qu'un taux modéré de résistance à l'AMP (58,33%) été noté (**Figure 42**).

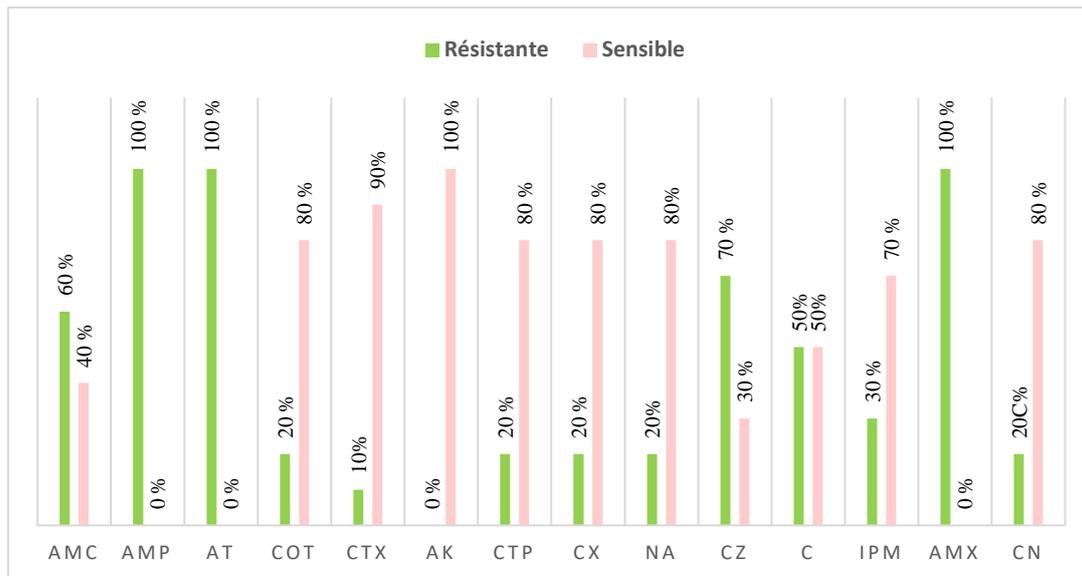


**Figure 42 :** Résultats de l'étude de l'antibiorésistance des souches de *P. mirabilis* isolées à partir du pus

Les résultats de l'étude de l'antibiorésistance que nous avons obtenus étaient supérieurs à ceux d'une étude réalisée par **Djombera (2016)** à Bamako (Mali), qui montre que cette bactérie est résistante à l'Amoxicilline, à la Céfazoline avec des taux de résistance de 67,27%, 66,07% respectivement.

➤ *P. vulgaris*

Une résistance totale de l'ensemble des souches isolées de *P. vulgaris* a été notée vis-à-vis l'AMP, de l'AT et de l'AMX et une forte résistance (70%) au CZ a été enregistrée (**Figure 43**).

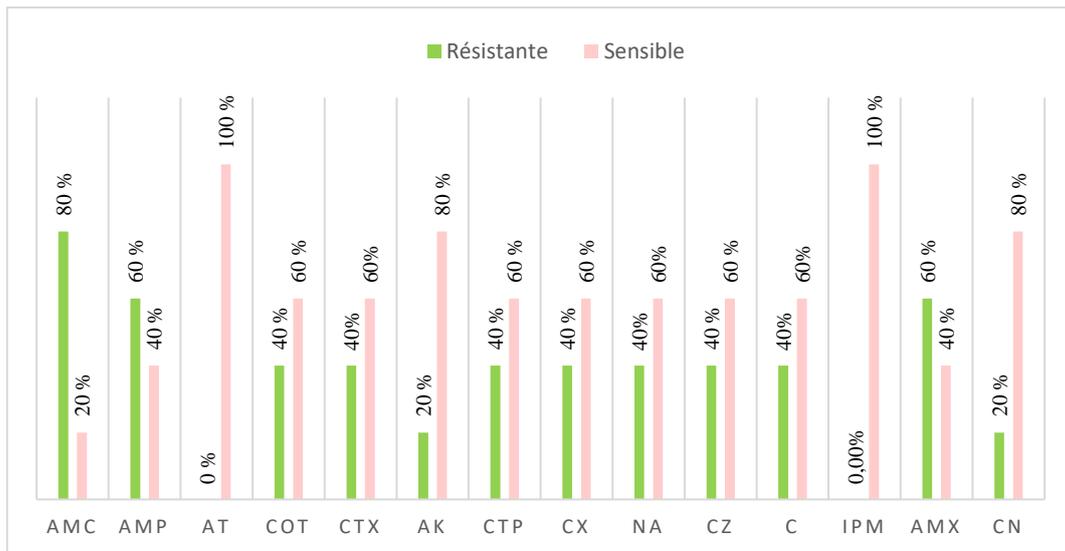


**Figure 43 :** Résultats de l'étude de l'antibiorésistance des souches de *P. vulgaris* isolées à partir du pus

Nos résultats sont similaires à ceux d'une étude réalisée par **Mezhoud et Khalfallah, (2018)**, qui ont rapporté une résistance totale de 100% vis à vis de l'AMP. Par contre, un taux de résistance de 100% à l'AMC et la CZ a été rapporté ce qui est supérieur aux résultats de notre étude. Un taux de résistance de 6% à la CTX a également été décrit est inférieur aux résultats que nous avons obtenus.

➤ *E. coli*

Les résultats de l'antibiogramme ont montré que 100% des souches d'*E. coli* étaient sensibles à l'AT et l'IPM. Alors que 60% d'entre elles étaient résistantes à l'AMC et l'AMX (**Figure 44**).

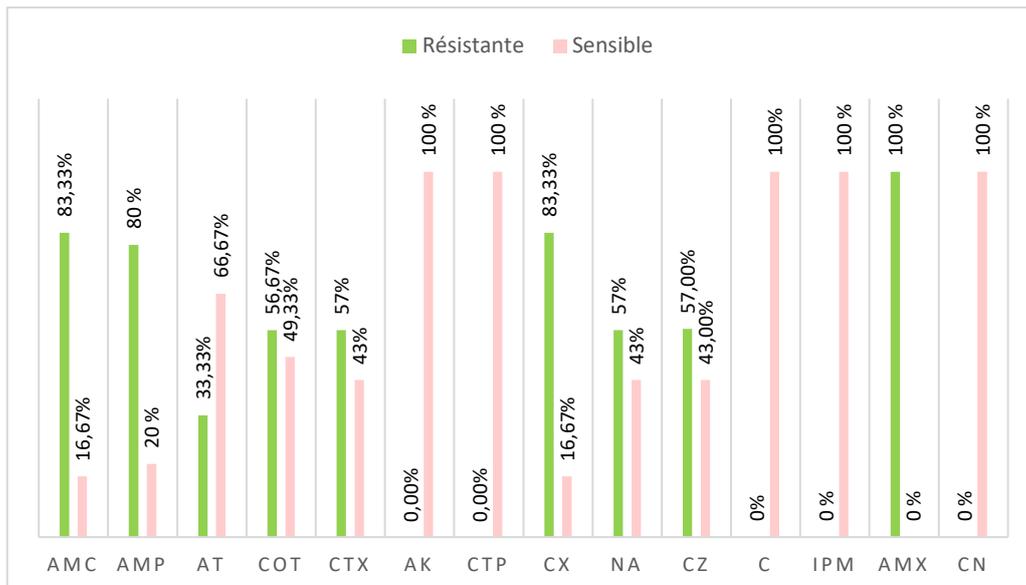


**Figure 44 :** Résultats de l'étude de l'antibiorésistance des souches d'*E. coli* isolées à partir du pus

Nos résultats sont proches de ceux d'une étude réalisée par **Oudina et Soudou (2020)**, qui ont noté une résistance des souches d'*E. coli* vis-à-vis de l'AMC (74,1%), de la COT (46,9%) et de la CZ (40,5). Par ailleurs **Ahangobe (2014)** a enregistré un taux de résistance à l'AK (22,2%) comparable au notre et un taux de résistance à l'AMP (94,4%) supérieur à celui que nous avons obtenu.

➤ ***Klebsiella sp***

Sur les 09 souches de *Klebsiella* isolées, nous avons noté une résistance totale à l'AMX. Cependant les souches ont présenté une sensibilité totale vis-à-vis de l'AK, de la CIP, de la C, de l'IPM et de la CN (**Figure 45**).



**Figure 45 :** Résultats de l'étude de l'antibiorésistance des souches de *Klebsiella spp* isolées à partir du pus

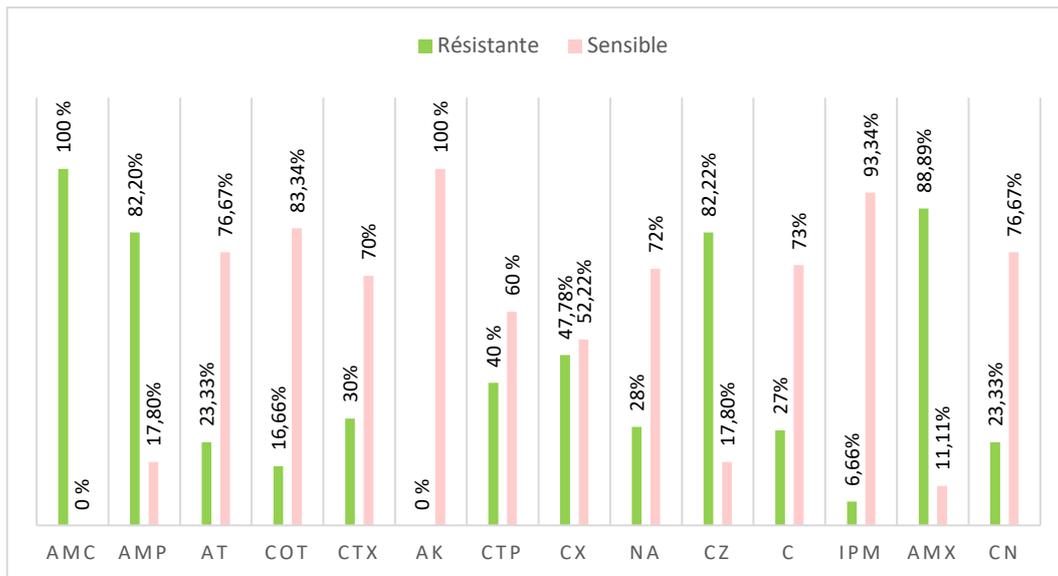
La résistance des souches de *Klebsiella spp* à l'ampicilline est en concordance avec les résultats d'**Amin et al., (2017)** (88,9%) et **Gomatheswari et Jeyamurugan, (2018)** (83%).

Nos résultats sont aussi proches d'une étude réalisée par **Chablaoui et Mihoub, (2020)** au niveau de l'EPH de Boufarik concernant l'AMP (100%) ; la CZ (87,5 %) et la CTX (50%).

*Klebsiella pneumoniae* est naturellement résistante aux pénicillines des groupes G et A et à la carbénicilline sous l'effet d'une pénicillinase chromosomique appelée SHV1 (**Joly et Reynaud, 2002**). La résistance aux  $\beta$ -lactamines chez *Klebsiella pneumoniae* peut être due à la production de pénicillinase à haut niveau qui se caractérise par une résistance à très haut niveau aux amino et carboxy-pénicillines, et par une réduction de l'activité des uréidopénicillines et des céphalosporines de première et de deuxième génération (**Jarlier et Nordmann, 2000**).

➤ *Serratia sp*

Les 10 souches de *Serratia* isolées ont montré une résistance élevée vis-à-vis l'AMC (100%), de la CZ (82,22%), de l'AMX (88,89 %) et de l'APM (82,20 %). Alors qu'un taux modéré de résistance aux CX (47,78 %) et à la CTX (30%) a été noté (**Figure 46**).



**Figure 46 :** Résultats de l'étude de l'antibiorésistance des souches de *Serratia spp* isolées à partir du pus

Nos résultats sont similaires à ceux signalés par **Chablaoui et Mihoub, (2020)** et aussi avec ceux obtenus par le réseau algérien de la surveillance de la résistance bactérienne des antibiotiques.

La résistance aux  $\beta$ -lactamines peut être attribuée aux  $\beta$ -lactamases à spectre étendu médiée par les plasmides (BLSE) et à la  $\beta$ -lactamase chromosomique *AmpC*, qui peuvent être induites par la céfoxitine. L'expression constitutive de pompes d'efflux, la faible perméabilité de la membrane extérieure peuvent contribuer à cette résistance (**Moradigavarand, 2016**).

#### ➤ *Citrobacter sp*

Nous avons isolé deux espèces différentes de bactéries du genre *Citrobacter*, leur profil de résistance montre que ces souches sont totalement résistantes aux antibiotiques suivants : AMC, CTX, CX, CZ et AMX et moyennement résistantes à l'AMP, COT, CIP, C et le CN.

Nos résultats indiquent une résistance totale (100%) des souches envers l'AMC et la CZ, ce qui est similaire aux résultats obtenus par **Mezhoud et khalfallah, (2018)**.

➤ *E. cloacae*

La totalité des souches d'*E. cloacae* ont montré une résistance importante (100%) vis-à-vis de nombreux antibiotiques (AMC, AMP, AMX, CTX, CIP, AT, NA, CZ et CN). Cependant ces mêmes souches ont été sensibles à la COT, à l'IPM, à la CX, à l'AK et à la C.

Ces résultats corroborent ceux de **kumari et al., (2018)** et **Amin et al., (2017)**, qui ont noté que les souches d'*Enterobacter cloacae* étaient résistantes à l'ampicilline et à la céfazoline et ont été sensibles à l'amikacine et à la céfotaxime.

Les espèces du genre *Enterobacter* ont des profils semblables de résistance aux antibiotiques étant intrinsèquement résistantes à l'ampicilline, l'amoxicilline, l'amoxicilline-acide clavulanique, à la céfalotine (céphalosporines de première génération), à la céfoxitine (céphalosporine de deuxième génération) et à la céfamycine (**Harris, 2015**).

Selon le réseau algérien de la surveillance de la résistance bactérienne des antibiotiques, les souches d'*Enterobacter aerogenes* et d'*E. cloacae* sont naturellement résistantes à l'ampicilline et à la céfazoline et sont naturellement sensible à l'ofloxacin, à l'amikacine, à la céfotaxime et à la colistine.

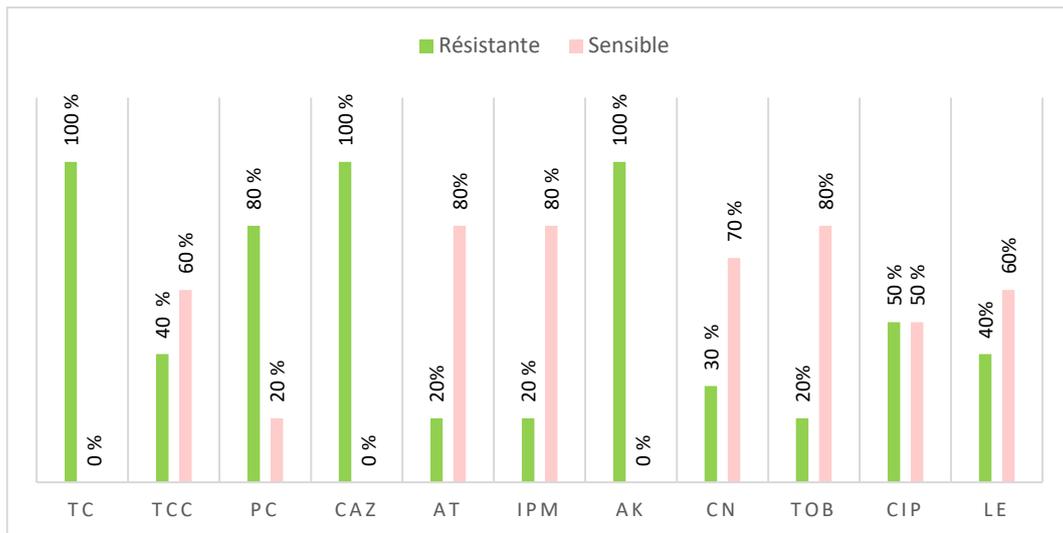
➤ *Providencia rettgerie*

Les 4 souches de *Providencia rettgerie* isolées étaient totalement résistantes (100 %) à l'AMC, à l'AMP et à l'AMX et totalement sensibles à l'AK, à la CX, à l'IPM et à la CIP.

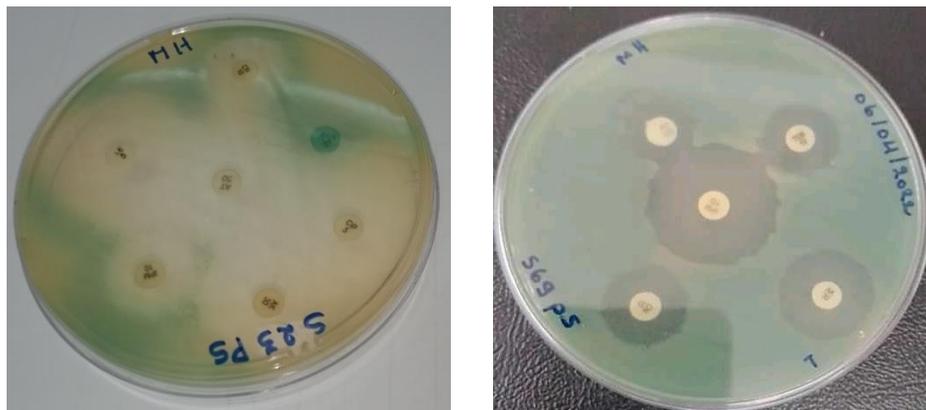
Nos résultats sont comparables à ceux obtenus par **Balarouci et Louzri, (2021)** pour les antibiotiques : AMP (77,77%), AK (33,33 %) et l'IPM (0%).

**B. *Pseudomonas aeruginosa***

D'après la **figure 47**, nous remarquons que la résistance des 12 souches des *P. aeruginosa* variait selon l'antibiotique testé avec un taux de résistance de 100% pour la CAZ et la TC, de 80% pour la PC, de 50% pour la CIP et de 40% pour TCC et là LE. Nous remarquons aussi une faible résistance des souches à la CN (30%) (**Figure 48**).



**Figure 47 :** Résultats de l'étude de l'antibiorésistance des souches de *P. aeruginosa* isolées à partir du pus



**Figure 48 :** Zones d'inhibition des souches de *P. aeruginosa* par les antibiotiques testés (Photos originales, 2022)

Dans l'étude réalisée par **Tiwari et al., (2011)**, un taux de résistance de 51% a été enregistré vis-à-vis de la Ciprofloxacine. Par ailleurs les travaux de **Labani, (2016)** donnent des résultats de 17 % par rapport à l'Aztréonam.

Autres études faites par **Mezhoud et Khalfallah, (2018)** donnent des résultats aussi proches à nos résultats envers IPM avec un taux de (19%) et en vers a l'amikacine avec un taux de (12%) selon **Oudina et Soudou, (2020)**.

C. *Staphylococcus aureus*

Au totale 33 souches de *S. aureus* ont été isolées. Nous avons constaté une très grande résistance de ces souches vis-à-vis de la P (90,90%). Les résultats de l'antibiogramme ont montré que la plupart des souches étaient sensibles à la RIF (81,8%), à la C (75,75%) et à la COT (63,6%) (Figure 49 et 50).

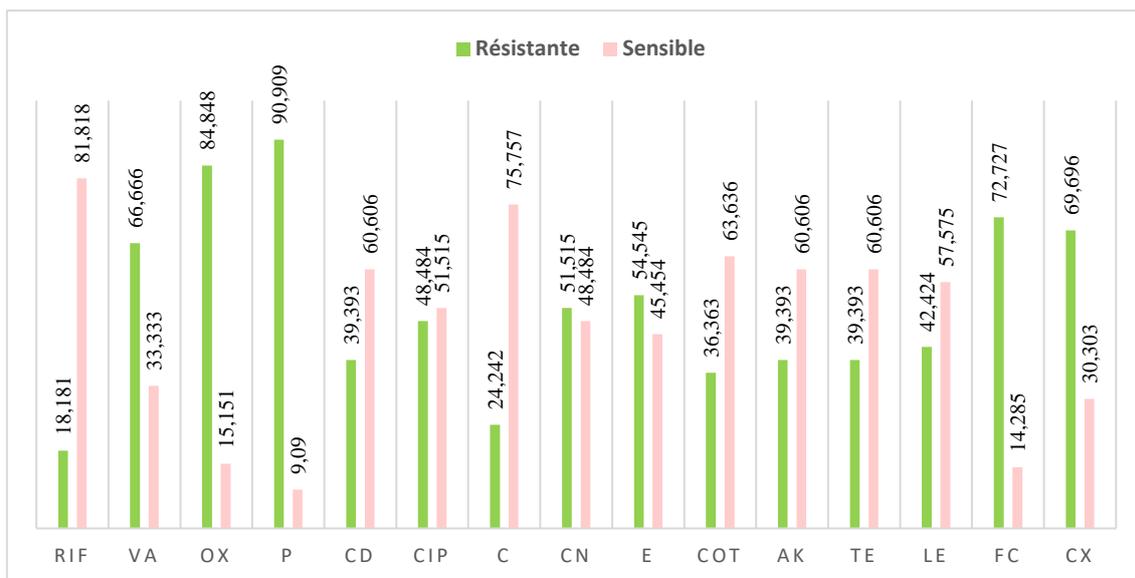


Figure 49 : Résultats de l'étude de l'antibiorésistance des souches de *S. aureus* isolés à partir du pus

Nos résultats sont similaires à ceux signalés par Elhamzaoui, (2009) au Maroc pour la majorité des antibiotiques.

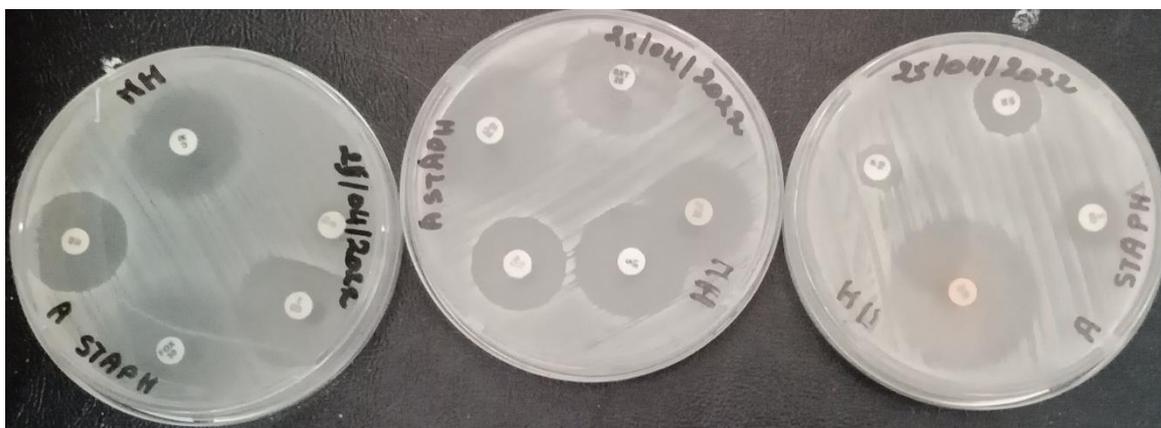


Figure 50 : Zones d'inhibition des souches de *S. aureus* par les antibiotiques testés (Photos originales, 2022)

On n'a pu constater aussi un taux modéré de résistance vis-à-vis l'Erythromycine qui est inférieur à celui de l'étude réalisée par **Ahanogbe, (2014)** à Bamako, avec un taux de (61%) et gentamycine qui est légèrement supérieur par rapport à une étude réalisée par Labani (2016) avec un taux de (39%).

Dans leurs travaux sur les souches de *Staphylococcus aureus*, **Otmane et al., (2017 et 2020)** ont rapporté une résistance moyenne des souches vis-à-vis de la Rifamycine (13,09%) et de la tétracycline (47,62 %), ce qui correspond aux résultats que nous avons obtenus

## II.5 Résultats des tests complémentaires

Les résultats des tests complémentaires sont représentés dans le tableau suivant :

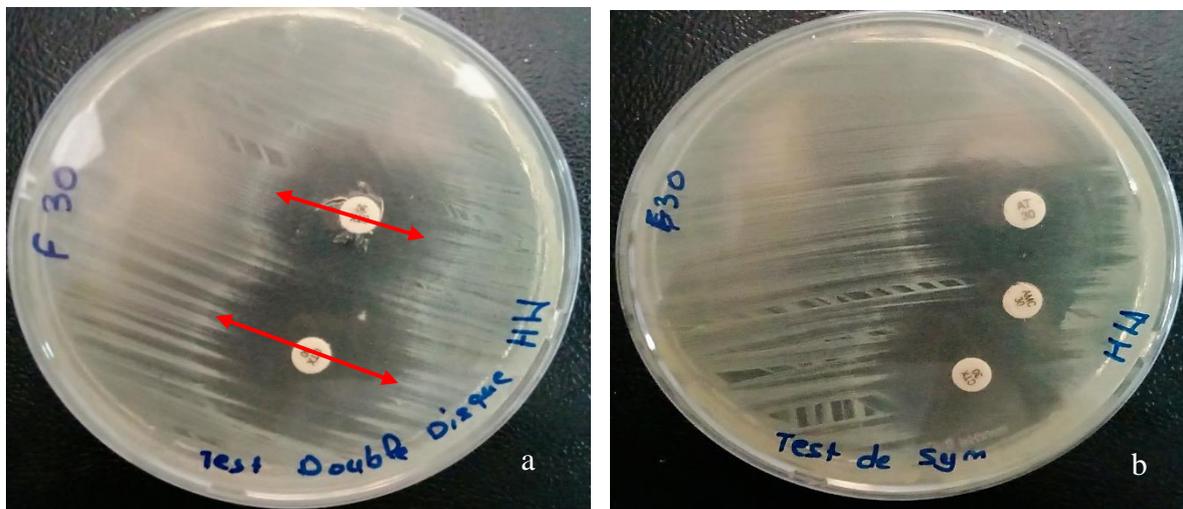
**Tableau IX.** Résultats des tests complémentaires

Famille	Test	Résultats	
		Pus	Urine
<i>Enterobacteriaceae</i>	<b>Test de synergie (BLSE)</b> Ce test est réalisé sur les souches d'entérobactéries ayant des ZI de CTX $\leq 27$	36 / 36 BLSE Négatifs	10 / 10 BLSE Négatifs
	<b>Test de double disque (figure 51 a)</b> Si le test de synergie est négatif, un test de double disque est réalisé : le test est positif s'il y a une différence de diamètre $\geq 5$ .	19 / 36 Positifs	00 / 10 Positifs
<i>Pseudomonadaceae</i>	<b>Test de synergie (BLSE) (figure 51 b)</b> Ce test est réalisé sur les souches de <i>Pseudomonas</i> ayant des ZI de CAZ $\leq 27$	12 / 12 BLSE Négatifs	-
	<b>Test de double disque (figure 52)</b> Lorsque le test de synergie était négatif, nous sommes passé au test de double disque (le test	5 / 12 Positifs	-

	est positif s'il y a une différence de diamètre $\geq 5$ )		
<i>Staphylococaceae</i>	<b>Détection de la résistance inducible à la clindamycine : image de D (figure 53).</b>	7 / 33 Positifs	2 / 4 Positifs
	<b>screening test: Résistance à l'oxacilline due au gène mecA (figure 54).</b>	17 / 33 Positifs	00 / 4 Positifs

Les résultats de tests complémentaires ont révélé une absence d'image de synergie pour les deux types de prélèvements, que ce soit chez les Entérobactéries ou *P. aeruginosa*.

Quant à la détection de la résistance inducible à la clindamycine, nous avons trouvé 9 souches ayant une image de D, c'est-à-dire une résistance inducible. Nos résultats sont en corcondence avec ceux de **Deotale et al., 2010**.



**Figure 51** : Résultats des tests complémentaires chez les entérobactéries :  
a) Test de double disques, b) test de synergie (**Photos originales, 2022**)

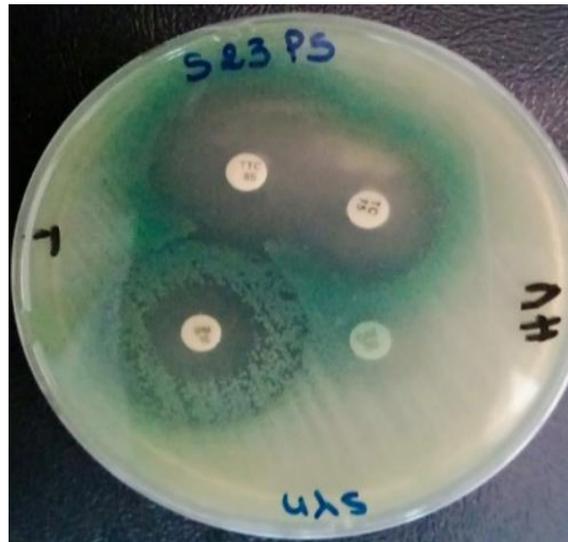


Figure 52 : Résultat de test de synergie chez *P. aeruginosa* (Photo original, 2022)



Figure 53 : Résultats de test de détection de la résistance inducible à la clindamycine : a) image de D négative, b) image de D positive (Photos originales, 2022).



**Figure 54** : Résultat de test de screening (Photo originale, 2022)

***Conclusion***

La découverte des antibiotiques est une avancée majeure dans le domaine de la santé humaine. Ces derniers permettant de lutter contre les infections bactériennes et contribuent à sauver de nombreuses vies. Cependant, l'émergence et l'extension de l'antibiorésistance compromet leur efficacité et représente une grave menace de santé publique. On craint alors un retour à une ère préantibiotique où la moindre infection bactérienne est susceptible d'entraîner la mort.

Notre étude a permis de déterminer les germes responsables de deux types d'infections : infection urinaire et infection du pied diabétique et d'évaluer leur profil de résistance. Les résultats des prélèvements urinaires montrent une prédominance des entérobactéries avec une prévalence de 90,5% dont 21 souches appartenant à *Escherichia coli*, 10 souches à *Klebsiella pneumoniae* et 7 souches à *Proteus mirabilis*.

Les prélèvements de pus nous ont permis de recenser 111 germes pathogènes. 66 souches appartiennent aux entérobactéries, 33 souches à *Staphylococcus aureus* et 12 souches à *Pseudomonas aeruginosa*.

L'étude du profil de résistance de l'ensemble des bactéries isolées, montre que les souches d'entérobactéries étaient très résistantes vis-à-vis l'AMP, l'AMX, l'AMC et le CZ. Les souches de *Staphylococcus aureus* étaient résistantes à l'FC, l'E et la pénicilline, alors que les souches de *Pseudomonas aeruginosa* présentaient une résistance moyenne vis-à-vis du CIP.

Pour les tests complémentaires, le phénotype BLSE a été absent chez les souches d'entérobactéries et *Pseudomonas aeruginosa*. Le test de double disque était positif chez 19 souches d'entérobactéries.

La résistance inductible à la clindamycine a été retrouvée chez 19 souches de *Staphylococcus aureus* et le test de screening s'est avéré positif chez 17 souches de *Staphylococcus aureus*.

La lutte contre le problème de l'antibiorésistance commence d'abord par l'éducation des patients et du personnel soignant et par une prise en charge multidisciplinaire et concertée. Une antibiothérapie raisonnée est alors recommandée afin de réserver certaines molécules aux souches multirésistantes, sans oublier la surveillance de la résistance des souches aux antibiotiques qui doit être continue et systématique afin de définir les stratégies thérapeutiques adaptées aux données de l'épidémiologie locale.

Enfin, aucune étude n'est complètement parfaite. Durant toute la période de notre stage pratique, nous avons rencontré des contraintes que ce soit sur le plan théorique ou pratique, en perspective, nous proposons :

- D'augmenter le nombre des prélèvements et la durée de l'étude.
- Optimiser les méthodes d'identification bactériennes.
- Effectuer des gammes de concentrations minimales inhibitrices des antibiotiques.
- Faire une caractérisation génotypique des mécanismes de résistance aux ATB.
- Tester l'effet antibactérien des extraits naturels et les huiles essentielles des plantes médicinales contre les souches incriminées pour établir des traitements alternatifs.

## Références bibliographiques

**A**

- **Ahanogbe, K. A. L. (2014).** Resistance bactérienne en cas d'infections de plaies diabétiques : diagnostic et surveillance au Laboratoire Rodolphe Merieux de bamako.
- **Amin, M.A., El-Khlousy, M., Elberry, A.A., Hussein, R.R., Mostafa Kamel, N. (2017).** Bacterial Profile and Antimicrobial Resistance Pattern of Pus Isolates in Beni-Suef University Hospital from 2008-2014 : An Observational Study. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research.* 43(139) : 206-10.
- **AKEL, Z. (2014).** *Profil épidémiologique des entérobactéries productrices de carbapénémases isolées au CHU Ibn Sina-Rabat.* Thèse de doctorat.
- **Amin, M.A., El-Khlousy, M., Elberry, A.A., Hussein, R.R., Mostafa Kamel, N. (2017).** Bacterial Profile and Antimicrobial Resistance Pattern of Pus Isolates in Beni-Suef University Hospital from 2008-2014: An Observational Study. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research.* 43(139): 206-10.
- **Amrani, A.A. et Bechiri, R. (2018).** Les Infections Urinaires ; Mémoire de master en biologie moléculaire des microorganismes ; Université des Frères Mentouri. Constantine ; 4-30 p.
- **Awalou, M.D., Mossi, E.K., Djagadou, A.K., Balaka, A., Tchamdja, T., Moukaila, R. (2018).** *The Pan African Medical Journal.* 2018; 30: 4.

**B**

- **Balarouci, L. et Louzri, F.Z. (2021).** Isolement et identification des bactéries responsables des infections du pied diabétique et profil de leur résistance. Mémoire de master en microbiologie. Université Blida 1; 47-59 P.
- **Baouta, F., Rouibah, S., Tibouche, N., & Bahri, F. E. (2001).** *L'antibiorésistance des bactéries isolées des diarrhées infantiles dans la région de jijel* (Thèse de doctorat, Université de jijel).
- **Belbel, Z. (2013).** Evaluation de la résistance aux antibiotiques des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées dans les hôpitaux de la ville d'Annaba.
- **BENALI, H. (2010).** *Fréquence et antibiorésistance des germes responsables des infections urinaires à l'hôpital provincial de Nador* (Thèse de doctorat).
- **Bergogne-Bérézin, E. (2008).** Infections urinaires basses: épidémiologie bactérienne et recommandations. *Progrès en Urologie-FMC,* 18(1), F11-F14.

- **Bevilacqua, S. (2011).** Evaluation de l'impact d'une équipe opérationnelle en infectiologie sur la consommation et le coût des antibiotiques au CHU de Nancy : essai d'intervention contrôlé (Thèse de doctorat, Université Henri Poincaré-Nancy 1).
- **BISSAN, A. D. T. (2011).** Incidence des infections urinaires et des colonisations nosocomiales au sein du service d'urologie de l'HMIMV de Rabat (T).
- **Bouarroudj, Y., Boutebza, F. (2016).** Les infections urinaires. Mémoire de master.
- **Boudina, H., Haddam, M. (2017).** Profil bactériologique dans les infections du pied diabétique. SFE Poitiers 2017 / Annales d'Endocrinologie 78 (2017) 397–433. page 379.
- **Bouguenoun, W. (2017).** Etude de la résistance aux antibiotiques des bactéries incriminées dans les infections nosocomiales et leur dissémination dans l'environnement hospitalier de la région de Guelma (Thèse de Doctorat en Biologie Moléculaire et Cellulaire. Université Badji Mokhtar-Annaba, Algérie). 20-23P.
- **Boulant, E., Davin-Regli, A., Pagès, J. M., & Bolla, J. M. (2020).** Les pompes d'efflux, mécanisme de résistance bactérien. Revue Francophone des Laboratoires, 2020(519), 38-49.
- **Briquet, Y. (2016).** Infection urinaire de l'adulte : prise en charge par les médecins généralistes en Guyane Française (Thèse de doctorat).
- **Bruyère, F., Goux, L., Bey, E., Cariou, G., Cattoir, V., Saint, F., ... Vallée, M. (2020).** Infections urinaires de l'adulte : comparaison des recommandations françaises et européennes. Par le Comité d'infectiologie de l'Association française d'urologie (CIAFU). Progres En Urologie.

## C

- **Caruba T, Jaccoulet, E. (2015).** Antibiotiques. In: Pharmacologie et thérapeutiques. Elsevier, p. 47, 56.
- **Cattoir, V., Denis, F., Martin, C., Ploy, M. C., & Poyart, C. (2016).** Chapitre 30. Bacilles à Gram négatif aérobies et aéro-anaérobies 303. Bactériologie médicale: Techniques usuelles, 302.
- **Chablaoui, D. et Mihoub, S. (2020).** Profil bactériologique et sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées à partir des prélèvements de pus à l'hôpital de Boufarik. Mémoire de master. Université Blida 1. 38- 44 P.
- **CHAKRANI, S. (2013).** L'infection urinaire dans le service d'urologie de l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V de Rabat (Thèse de doctorat).

- **Chervet, D. (2015).** Infections urinaires en ville: description de la population et épidémiologie actuelle des résistances bactériennes. Médecine humaine et pathologie.
- **Citron, D. M., Goldstein, E. J., Merriam, C. V., Lipsky, B. A., & Abramson, M. A. (2007).** Bacteriology of moderate-to-severe diabetic foot infections and in vitro activity of antimicrobial agents. *Journal of clinical Microbiology*, *45*(9), 2819-2828.
- **Cottalorda, A., Dahyot, S., Soares, A., Alexandre, K., Zorghiotti, I., Etienne, M., ... & Pestel-Caron, M. (2022).** Phenotypic and genotypic within-host diversity of *Pseudomonas aeruginosa* urinary isolates. *Scientific reports*, *12*(1), 1-8.

### D

- **Dalibon, P. (2018).** Le pied diabétique infecté. *Actualités Pharmaceutiques*, *57*(581), 42-45.
- **Danis, F., Poly, M.C., Martin, C., Bingen, E. & Quentin, R. (2007).** Bacilles à Gram négatif non fermentaire, Genre *Pseudomonas*. In *Bactériologie Médicale, technique susuelle*, pp.330- 343. Edited by E. Masson.
- **Dauriac, E. (2017).** Etude visant à évaluer les modifications du RPCU, de la cytologie et de la bactériologie dans les urines des chiens prélevées par miction spontanée après réfrigération (Thèse de doctorat).
- **Davin-Regli, A., Lavigne, J. P., & Pagès, J. M. (2019).** Enterobacter spp.: update on taxonomy, clinical aspects, and emerging antimicrobial resistance. *Clinical microbiology reviews*, *32*(4), e00002-19.
- **De Groot, P., Nikolic, T., Pellegrini, S., Sordi, V., Imangaliyev, S., Rampanelli, E., ... & Nieuwdorp, M. (2021).** Faecal microbiota transplantation halts progression of human new-onset type 1 diabetes in a randomised controlled trial. *Gut*, *70*(1), 92-105.
- **Delarras, C. (2014).** *Pratique en microbiologie de laboratoire*. Lavoisier. paris : poiteaux Celine, 2014, pg 233-559-560-562-683-688-375. ISBN : 978-2-7430-1565-7.
- **Delarras, C. (2007).** *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire*. Tec & Doc Lavoisier ; 476.
- **Dembélé, M. (2020).** Profil de résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées dans les urines au service bactériologie de l'INSP de 2016 à 2018 (Doctoral dissertation, USTTB).
- **Deotale, V., Mendiratta, D. K., Raut, U., & Narang, P. (2010).** Inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from clinical samples. *Indian journal of medical microbiology*, *28*(2), 124-126.

- **Denis, F., Bouchiat, C., & Loubinoux, J. (2016).** Cocci à Gram positif. Bactériologie médicale : Techniques usuelles.
- **Denis, F., Cattoir, V., Martin, C., Ploy, M. C., & Poyart, C. (2016).** *Bactériologie médicale: techniques usuelles*. Elsevier Health Sciences.
- **Denis, F., Ploy, M.C., Martin, C., Bingen, E., Quentin, R. (2007).** Bactériologie médicale : Techniques usuelles. Ed Elsevier Masson. Paris. P : 145-154.
- **Duval, M., & Cossart, P. (2019).** A new mechanism of antibiotic resistance: ribosome recycling. *Medecine sciences: M/S*, 35(8-9), 613-615.

## E

- **Elhamzaoui, S., Benouda, A., Allali, F., Abouqual, R., & Elouennass, M. (2009).** Sensibilité aux antibiotiques des souches de Staphylocoques aureus isolées dans deux hôpitaux universitaires à Rabat, Maroc. *Médecine et maladies infectieuses*, 39(12), 891-895.
- **ELHARCH, I. (2013).** *Profil bactériologique des infections urinaires diagnostiquées aux différents services du centre hospitalier universitaire (CHU) de Rabat* (Thèse de doctorat).

## F

- **FAUCHERE, J. et AVRIL, J. L. (2002).** Bactériologie générale et médicale. *Ed. Ellipses Paris. 365p.*
- **Fedrigo, G., Campoy, E., Di-Venanzio, G., Colombo, M., Vescovi E. (2011).** *Serratia marcescens* is able to Survive and Proliferate in Autophagic-Like Vacuoles inside Non-Phagocytic Cells. *PLoS ONE*, 6(18) : 1-15.
- **Feigin, R. D. (2009).** *Feigin & Cherry's textbook of pediatric infectious diseases*. Philadelphia, PA: Saunders/Elsevier.
- **Flandrois, J .P.(1997).** Bactériologie médicale. Presse universitaire de Lyon, Lyon. P207.
- **FLEURY, M. (2019).** Antibiotiques : une utilisation raisonnée évite le développement des résistances, OVHcloud, Roubaix, 1-2p
- **Fongoro, D. A. (2022).** Infections urinaires du sujet âgé : aspects épidémio-cliniques et bactériologiques dans le service de néphrologie du CHU du Point G (Thèse de doctorat, USTTB).

- **Fourniols, É. (2017).** Traitement chirurgical des plaies infectées du pied diabétique. *Revue Francophone de Cicatrisation*, 1(2), 35–40.
- **Foxman, B., Barlow, R., D'Arcy, H., Gillespie, B., & Sobel, J. D. (2000).** Urinary tract infection: self-reported incidence and associated costs. *Annals of epidemiology*, 10(8), 509-515.
- **François, H., Brandstätter, A., Bréchet, C., Huttner, A. (2013).** Infections Urinaire. HUG-DMCPRU- Service de médecine de premier recours.
- **Fuentefria, D. B., Ferreira, A. E., & Corção, G. (2011).** Antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa* from hospital wastewater and superficial water: are they genetically related. *Journal of environmental management*, 92(1), 250-255.

## G

- **Gadou, V. (2019).** Epidémiologie moléculaire des entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre élargi résistantes aux aminosides et aux fluoroquinolones dans le district d'Abidjan, Côte d'Ivoire (Thèse de doctorat, Université Félix Houphouët-Boigny (Abidjan, Côte d'Ivoire) ; N° ORDRE 2186/2019).
- **Gomatheswari, S., Jeyamurugan, T. (2017).** Bacteriological Profile and the Antibiotic Susceptibility Pattern of Microorganisms Isolated from Pus/Wound Swab Isolates in Patients Attending a Tertiary Care Hospital in South India. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, (10):1405-1413.
- **Goro, A. A. (2021).** *Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à Bamako de janvier 2020 à juin 2020* (Thèse de doctorat, USTTB).

## H

- **Hadji, A., Berkani, A., & Merradi, L. (2020).** Phénotype de l'antibiorésistance des souches de Staphylocoques d'origine commensale.
- **HAKKACHE, R. (2015).** Les infections urinaires chez le nourrisson et l'enfant (Thèse de doctorat).
- **Hannat, S., Sahli, F., Khettabi, S., Chermat, R., Mekideche, F. Z., & Malek, R. (2008).** P145 Profil bactériologique des lésions trophiques du pied diabétique et leur résistance aux antibiotiques. *Diabetes & Metabolism*, 34, H82.
- **Harley, and Klein's Microbiology.** McGraw-Hill Higher Education, Edition 7, 1088p.

- **Harris, P.N. (2015).** Clinical management of infections caused by Enterobacteriaceae that express extended-spectrum beta-lactamase and AmpC enzymes. *Semin.Respir.Crit Care Med*, 36:56-73.

## I

- **IBRAHIM, B., BANKOLE, S. H., DOUGNON, V., & AHOYO, A. T. (2014).** Identification de *staphylococcus aureus*: utilisation du plasma frais de lapin pour la recherche de la staphylocoagulase libre.
- **Isnard, C. (2015).** Infections du tractus urinaire à pathogènes émergents. *Journal des Anti-infectieux*, 17(4), 152-161.

## J

- **JAN, V. (2020).** Bactériologie(enligne)p54.
- **Jarlier, V., & Nordmann, P. (2000).** Sensibilité aux antibiotiques: entérobactéries et  $\beta$ -lactamines. *Précis de bactériologie clinique. ESKA, Paris, France*, 649-665.
- **Jehl, F., Chabaud, A., & Grillon, A. (2015).** L'antibiogramme : diamètres ou CMI ? *Journal Des Anti-Infectieux*, 17(4), 125–139.
- **Joly, B., Reynaud, A. (2002).** Entérobactéries. Systématique et méthodes de diagnostic. Pp 79-80-83.
- **Julian, D., Dorothy, D. (2010).** Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiol Mol Biol Rev* 74:417–3

## K

- **Kashef, N., Djavid, G. E., & Shahbazi, S. (2010).** Antimicrobial susceptibility patterns of community-acquired uropathogens in Tehran, Iran. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 4(04), 202-206.
- **Khalifa, A. B. H. (2010).** Fréquence Et Résistance Aux Antibiotiques Des Bactéries Uropathogènes À L'hôpital Universitaire Tahar Sfar De Mahdia Frequency And Antibiotic Resistance In Uropathogenic Bacteria In The University Hospital Tahar Sfar Of Mahdia.

- **Khanna, A., Khanna, M., Aggarwal, A. (2013).** « *Serratia marcescens* - Un agent pathogène nosocomial opportuniste rare et des mesures pour limiter sa propagation chez les patients hospitalisés, » *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, vol. 7, n° 12, p. 243–246.
- **Khayar, Y. (2011).** Comportement des entérobactéries isolées des urines vis-à-vis de l'amoxicilline acide clavulanique, l'imipénème et l'ertapénème [thèse]. Rabat : Université Mohammed V de Rabat, 2011.
- **Knirel, Y. A., Kocharova, N. A., Bystrova, O. V., Katzenellenbogen, E., & Gamian, A. (2002).** Structures and serology of the O-specific polysaccharides of bacteria of the genus *Citrobacter*. *ARCHIVUM IMMUNOLOGIAE ET THERAPIAE EXPERIMENTALIS-ENGLISH EDITION-*, 50(6), 379-392.
- **Knirel, Y. A., Kocharova, N. A., Bystrova, O. V., Katzenellenbogen, E., & Gamian, A. (2002).** Structures and serology of the O-specific polysaccharides of bacteria of the genus *Citrobacter*. *ARCHIVUM IMMUNOLOGIAE ET THERAPIAE EXPERIMENTALIS-ENGLISH EDITION-*, 50(6), 379-392.
- **Kohanski, M. A., Dwyer, D. J., & Collins, J. J. (2010).** How antibiotics kill bacteria: from targets to networks. *Nature Reviews Microbiology*, 8(6), 423-435.
- **Kothari, A., & Sagar, V. (2008).** Antibiotic resistance in pathogens causing community-acquired urinary tract infections in India: a multicenter study. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 2(05), 354-358.
- **Kumari, P. H., Rani, P. U., Vijayalakshmi, P. (2018).** Evaluation of microbiological profile and antibiogram of aerobic bacteria isolated from pus samples. *Journal of Medical & Allied Sciences*, 8(1):26 - 35.

## L

- **Laafifi, A., Bahi, K., & Adoui, M. (2021).** Enterobactéries B $\beta$ -lactamases à spectre étendu EBLSE.
- **LABANI, Y. (2016).** Profil bactériologique et fréquence de résistance aux antibiotiques de l'infection du pied diabétique. Thèse de doctorat, université cadi ayyad, faculté de médecine et de pharmacie Marrakech, p21)
- **Larabi, K., Masmoudi, A., & Fendri, C. (2003).** Étude bactériologique et phénotypes de résistance des germes responsables d'infections urinaires dans un CHU de Tunis: à propos de 1930 cas. *Médecine et maladies infectieuses*, 33(7), 348-352.

- **Lavigne, J.-P., Richard, J.-L., & Sotto, A. (2011).** Nouvelles avancées dans les infections des plaies du pied chez le patient diabétique. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 2011(434), 57–64.
- **Limat, S., Dupuis, A., Fagnoni, P., Demoré, B., Fernandez, C., Aulagner, G., & Cazin, J. L. (2018).** *Pharmacie clinique et thérapeutique*. Elsevier Health Sciences.
- **Lipsky, B. A. (2004).** A report from the international consensus on diagnosing and treating the infected diabetic foot. *Diabetes/metabolism research and reviews*, 20(S1), S68-S77.
- **Lister, P. D., Wolter, D. J., & Hanson, N. D. (2009).** Antibacterial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. *Clinical microbiology reviews*, 22(4), 582-610.
- **Lozniewski, A., & Rabaud, C. (2010).** Résistance aux antibiotiques. *CCLIN Sud-Est*.
- **Lucet, J.C., & Birgand, G. (2011).** Les bacilles à Gram négatif multi-résistants : où va-t-on ? *Journal Des Anti-Infectieux*, 13(2), 122–132.

### **M**

- **Mach, F., Marchandin, H., & Bichon, F. (2020).** Traitement et prévention des infections urinaires. *Actualités Pharmaceutiques*, 59(598), 48–52.
- **Madigan, M., & Martinko, J. (2007).** *Biologie des micro-organismes*. 11<sup>ème</sup> édition.
- **MAIGA, D. K. A. (2006).** Infections urinaires à bamako : aspects épidémiologiques, bactériologiques et cliniques. *Pharmacie, Université de Bamako. Mali*.
- **Mané, D. I., Demba, D., Djiby, S., Assane, N. M., Limane, B. A., Marie, K. C., ... & Maimouna, N. M. (2019).** Profil clinique et évolutif des lésions de la peau et des parties molles chez les diabétiques en 2017 à la salle de pansement du Centre Marc Sankale de Dakar. *Pan African Medical Journal*, 32(1).
- **marcescens Is Able to Survive and Proliferate in Autophagic-Like Vacuoles inside Non-**
- **Mezhoud, R., & Khalfallah, N. (2018).** Profil de résistance des bactéries associées à l'infection du pied diabétique au niveau de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine (HMRUC) [en ligne]. *Mémoire de Master: Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des Microorganismes. Constantine: Université des Frères Mentouri Constantine, 132p*.
- **Mohamedi,D., Korich,M.N., Yala,D., Merad,A.S. (2001).** Résistance bactérienne aux antibiotiques. *Medicine du Maghreb*. 91:13-14.

- **Mongoyi, C. T., Mosiba, D. M., Mobanza, R., Gombima, G. N., & Daniel, M. W. (2021).** Profil des Examens Cytobactériologique des Urines dans le Laboratoire Provincial de Santé Publique de Sud Ubangi en RDC. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 33(2), 272-279.
- **Moradigaravand, D., Boinett, J.C., Martin, V., Peacock, S.J., Parkhill, J. (2016).** Émergence indépendante récente de plusieurs clones de *Serratia marcescens* multirésistants au Royaume-Unie en Irlande. *Genome Research*, 26 (8): 1101-1109.
- **Muylaert, A., & Mainil, J. (2013).** Résistance bactériennes aux antibiotiques, les mécanismes et leur " contagiosité". In *Annales de Medecine vétérinaire* (Vol. 156, pp. 109-123). ULg-Université de Liège.

## N

- **Navon-Venezia, S., Kondratyeva, K., Carattoli, A. (2017).** *Klebsiella pneumoniae* : une source et une navette mondiale majeure pour la résistance aux antibiotiques. 41(13) : 252–275.
- **NDOG BATJECK, R. (2010).** Prévalence et antibiorésistance de *Klebsiella pneumoniae* productrice de bêta-lactamases à spectre étendu et son impact vis-à-vis d'autres familles d'antibiotiques (Thèse de doctorat).

## O

- **OTMANE, A., Hamzaoui,L. et al . (2021).** Congrès BIOMED-J - Infections du pied diabétique au CHU d'Annaba (Algérie) entre 2017-2020 : particularités clinico-bactériologiques, -16-17 septembre 2021. - ASIEM,Paris :Edition commercial,p1
- **Oudina, D., soudou,D.(2020)** ; Bactériologie du pied diabétique au CHU de Constantine, Université des Frères Mentouri Constantine 1 Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie ,p75,p76,p77.
- **Ouerdane, K., Aouiche, S., Azzouz, M., Hannachi, R., Meftah, A., Djennane, F., ... Boudiba, A. (2012).** P118 Évolution de la flore microbienne et de l'antibiorésistance chez le diabétique. *Diabetes & Metabolism*, 38, A59.

## P

- **Peacock, S. J., & Paterson, G. K. (2015).** Mechanisms of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Annu Rev Biochem*, 84(1), 577-601.
- **Pedgift, C. (2011).** L'impact médical hospitalier de la prise en charge du pied

- **Pepperell, C., Kus, J. V., Gardam, M. A., Humar, A., & Burrows, L. L. (2002).** Low-virulence *Citrobacter* species encode resistance to multiple antimicrobials. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 46(11), 3555-3560.  
Phagocytic Cells. PLoS ONE, 6(18): 1-15.
- **Pierrot, S. (2015).** *Portage de bactéries multirésistantes en structures d'accueil pour personnes âgées: évaluation d'une politique de dépistage cible en fonction des facteurs de risque* (Thèse de doctorat, Université de Lorraine).
- **Prakash, K., & Ramasubramanian, V. (2016).** Urinary Tract Infection. Manual of Nephrology. Kumar PJ, Vijay K. Haryana, India, Jaypee Brothers Medical Publishers, 226-236.
- **Prakash, K., & Ramasubramanian, V. (2016).** Urinary Tract Infection. *Manual of Nephrology*. Kumar PJ, Vijay K. Haryana, India, Jaypee Brothers Medical Publishers, 226-236.
- **Prescott., Harley., Klein., Wiley., Sherwood., woolverton. (2010).** Microbiologie (in : chapitre 36 : l'épidémiologie des maladies infectieuses). 3ème édition. Paris : Boeck université, pp. 908

## R

- **Richard, J. L., Lavigne, J. P., Got, I., Hartemann, A., Malgrange, D., Tsirtsikolou, D., ... & Senneville, E. (2011).** Management of patients hospitalized for diabetic foot infection: results of the French OPIDIA study. *Diabetes & metabolism*, 37(3), 208-215.

## S

- **Saussereau, E. (2012).** *Utilisation des bactériophages comme thérapie lors d'une infection à Pseudomonas aeruginosa dans le cadre de la mucoviscidose: efficacité et innocuité* (Thèse de doctorat, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI).
- **Scanvic-Hameg, A., May-Michelangeli, L., & Le Turdu, F. (2002).** Apport du kit Servitex Staphylocoque MRSA® dans le diagnostic rapide des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline. *Médecine et maladies infectieuses*, 32(2), 107-114.
- **Semneville ,E. (2008).** Infection du pied diabétique. *Rev Med Int*, 2008 ; 29 : S243-S24.

- **Sharma, I., & Paul, D. (2012).** Prevalence of community acquired urinary tract infections in silchar medical college, Assam, India and its antimicrobial susceptibility profile. *Indian journal of medical sciences*, 66(11/12), 273.
- **Smaoui, S., K. Abdelhedi., marouane, C., kammoun, S., Messadi-Akrout, F. (2015).** "Résistance aux antibiotiques des entérobactéries responsables d'infections urinaires communautaires à Sfax (Tunisie)." *Médecine et Maladies Infectieuses* 8(45): 335-337.
- **Sophie,Z.( 2014) .**La RésistanceBactérienne Aux Antibiotiques : Apparition Et Stratégies De Lutte. Thèse de doctorat en Pharmacie ; Université De Limoges. Vienne
- **Springman, A. C., Lacher, D. W., Wu, G., Milton, N., Whittam, T. S., Davies, H. D., & Manning, S. D. (2009).** Selection, recombination, and virulence gene diversity among group B streptococcal genotypes. *Journal of bacteriology*, 191(17), 5419-5427.

## T

- **Thirion, D. J., & Williamson, D. (2003).** Les infections urinaires: une approche clinique. *Pharmactuel*, 36(5).
- **Tiwari, S., Pratyush, D. D., Dwivedi, A., Gupta, S. K., Rai, M., & Singh, S. K. (2012).** Microbiological and clinical characteristics of diabetic foot infections in northern India. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 6(04), 329-332.
- **TOBOSSOU, Y. D. B., AKPOVI, C., BANKOLE, H. S., DENON, Y. E., & DAN, R. (2021).** Détermination des profils de résistance aux carbapénèmes et aux fluoroquinolones des souches d'*Escherichia coli* uropathogènes isolées de janvier à décembre 2020 à Toxi-Labo. EPAC/UAC.
- **Traoré, A. (2019).** *Sensibilite aux antibiotiques des souches de pseudomonas aeruginosa isolees de 2004 à 2009 au CHU du Point G* (Thèse de doctorat, USTTB).
- **Turhan, V., Mutluoglu, M., Acar, A., Hatipoglu, M., Onem, Y., Uzun, G., ... & Gorenek, L. (2013).** Increasing incidence of Gram-negative organisms in bacterial agents isolated from diabetic foot ulcers. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 7(10), 707-712.

## V

- **Van, G. H. (2014).** Le pied diabétique. *Revue du rhumatisme monographies*, 81(3), 192-197.
- **Verma, P. (2012).** A study on isolation of different type of bacteria from pus. *International Journal Of Pharmacy & Life Sciences*, 3 (11), 2107-2110.

**W**

- **Walana W., Bernard PB., Eugene DK., Samuel A., Vicar KE., Iddrisu BY., Alhassan AM. et Juventus BZ. (2020).** *Staphylococcus aureus* nasal carriage among health care workers, inpatients and care takers in the Tamale Teaching Hospital, Ghana. *Scientific African*, 8, e00325.
- **Wang, S. H., Sun, Z. L., Guo, Y. J., Yang, B. Q., Yuan, Y., Wei, Q., & Ye, K. P. (2010).** Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from foot ulcers in diabetic patients in a Chinese care hospital: risk factors for infection and prevalence. *Journal of medical microbiology*, 59(10), 1219-1224.
- **Wie, S. H. (2015).** Clinical significance of *Providencia* bacteremia or bacteriuria. *The Korean journal of internal medicine*, 30(2), 167.
- **Willey, J.M., Sherwood, L., Prescott, L.M., Woolverton, C.J. (2008).** Prescott, workers, inpatients and care takers in the Tamale Teaching Hospital, Ghana. *Scientific*

# **Annexes**

## Annexe I

## I.1 Matériel non biologique

Outils de laboratoire	Appareillages	Solutions	Colorants et réactifs	Autres
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Lames et lamelles</li> <li>✓ Pipettes Pasteur</li> <li>✓ Tubes à essai stériles</li> <li>✓ Ecouvillons</li> <li>✓ Boîtes de Pétri</li> <li>✓ Portoir</li> <li>✓ Pince métallique</li> <li>✓ Seringue stérile</li> <li>✓ Anse de platine</li> <li>✓ Pied de coulisse</li> <li>✓ Récipient stérile</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Etuve</li> <li>✓ Bec benzène</li> <li>✓ Microscope optique</li> <li>✓ Autoclave</li> <li>✓ Bain marie</li> <li>✓ Balance</li> <li>✓ Autoclave</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ L'eau oxygénée</li> <li>✓ L'eau Physiologique</li> <li>✓ L'eau distillée</li> <li>✓ L'huile à immersion</li> <li>✓ L'huile de vaseline</li> <li>✓ Lugol</li> <li>✓ Alcool</li> <li>✓ Sérum physiologique</li> <li>✓ Acide chloridrique</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Fuschine</li> <li>✓ Violet de gentiane</li> <li>✓ Bleu de méthylène</li> <li>✓ Bleu de toluidine</li> <li>✓ Kovacs</li> <li>✓ TDA</li> <li>✓ VP 1</li> <li>✓ VP 2</li> <li>✓ Nit 1</li> <li>✓ Nit 2</li> <li>✓ Zym A</li> <li>✓ Zym B</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Disques d'antibiotiques</li> <li>✓ Disques d'oxydase</li> <li>✓ Galerie API 20 E</li> <li>✓ Galerie API STAPH</li> <li>✓ Milieux de culture</li> <li>✓ Bandelettes réactives urinaires</li> </ul>

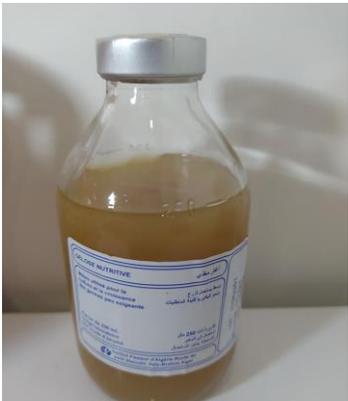
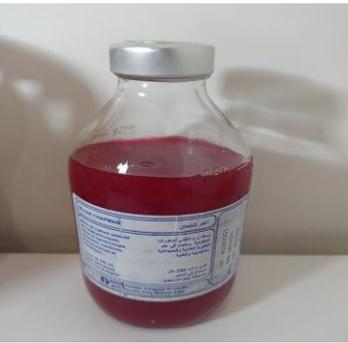


Galeries API staph (Photo original)

Galerie API 20<sup>E</sup> (Photo original)

Disques d'antibiotiques (Photo original)

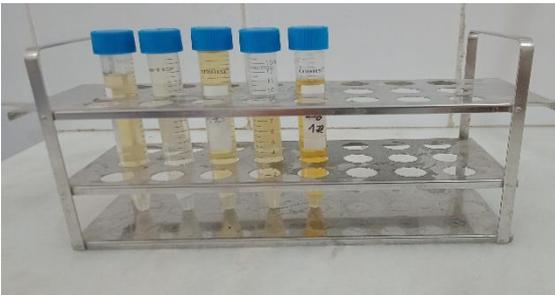
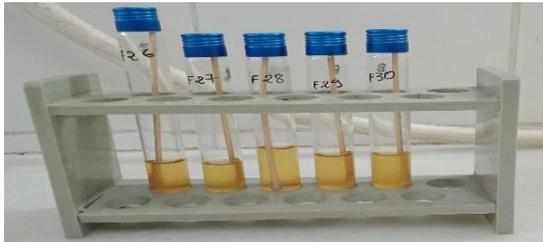
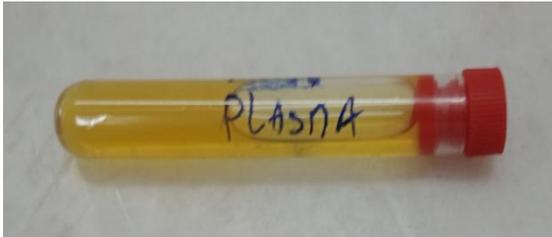
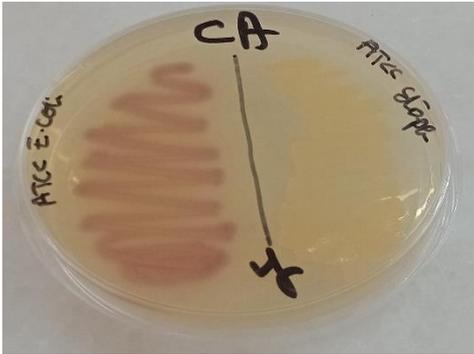
## I.2 Composition des milieux de cultures

<b>Gélose nutritif (GN)</b>		
<b>Composition g/L</b>	<b>Caractéristiques</b>	<b>Photo</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Peptone (10g)</li> <li>✓ Extrait de viande (3g)</li> <li>✓ Extrait de levure (3g)</li> <li>✓ Agar (18g)</li> <li>✓ Chlorure de sodium (5g)</li> <li>✓ pH = 7, 3</li> </ul>	<p>La gélose nutritive est un milieu à usage général qui favorise la croissance d'un large éventail d'organismes non fibreux. La gélose nutritive est populaire parce qu'elle permet la croissance de divers types de bactéries et de champignons, et qu'elle contient de nombreux éléments nutritifs nécessaires à la croissance des bactéries.</p>	
<b>Gélose Chapman (MSA)</b>		
<b>Composition g/L</b>	<b>Caractéristiques</b>	<b>Photo</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Peptone (10g)</li> <li>✓ Extrait de viande (1g)</li> <li>✓ Extrait de levure (3g)</li> <li>✓ Agar (15g)</li> <li>✓ Chlorure de sodium (75g)</li> <li>✓ Mannitol (10g)</li> <li>✓ Rouge de phénol (0,025g)</li> <li>✓ pH = 7, 5</li> </ul>	<p>Utilisé pour l'isolement des Staphylocoques pathogènes qui donnent des colonies jaunes par fermentation du mannitol et virage du rouge de phénol. Sa forte teneur en chlorure de sodium inhibe la croissance de la plupart des autres espèces.</p>	
<b>Gélose Hektoen (HK)</b>		
<b>Composition g/L</b>	<b>Caractéristiques</b>	<b>Photo</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Peptone pepsique du viande (15g)</li> <li>✓ Extrait de viande (3g)</li> <li>✓ Extrait de levure (3g)</li> <li>✓ Chlorure de sodium (5g)</li> <li>✓ Sels biliaires (4g)</li> <li>✓ Lactose (12g)</li> <li>✓ Salicine (2g)</li> <li>✓ Saccharose (12g)</li> <li>✓ Fuchsine acide (0,1g)</li> <li>✓ Bleu de bromothymol (0,065g)</li> <li>✓ Agar (18g)</li> <li>✓ pH = 7,5</li> </ul>	<p>Milieu sélectif différentiels des bactéries entéro-pathogènes ; particulièrement de salmonella et de shigella. La composition du milieu permet la différenciation des colonies fermentant rapidement un des 3 sucres et/ou produisant de L'H<sub>2</sub>S (Centre noir).</p>	

<b>Gélose Mueller Hinton (MH)</b>		
<b>Composition g/L</b>	<b>Caractéristiques</b>	<b>Photo</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Extrait de viande (3g)</li> <li>✓ Hydrolysate de caséine (17,7g)</li> <li>✓ Amidon (15g)</li> <li>✓ Agar (10g)</li> <li>✓ pH = 7,4</li> </ul>	Est un milieu de référence pour les tests de sensibilité des germes aux antibiotiques et sulfamides.	
<b>Gélose au cétrimide</b>		
<b>Composition g/L</b>	<b>Caractéristiques</b>	<b>Photo</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Peptone de gélatine (16g)</li> <li>✓ Peptone de caséine (10g)</li> <li>✓ Cétrimide (0.2g)</li> <li>✓ Sulfate de potassium (10g)</li> <li>✓ Chlorure de magnésium (1,4g)</li> <li>✓ Agar (10g)</li> </ul>	Est un milieu sélectif ; composé ammonium quaternaire ; agit comme inhibiteur d'une grande variété de germes destinés à l'isolement et au dénombrement de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	
<b>Bouillon cœur cerveau (BHIB)</b>		
<b>Composition g/L</b>	<b>Caractéristiques</b>	<b>Photo</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Peptone de gélatine (16g)</li> <li>✓ Peptone de caséine (10g)</li> <li>✓ Cétrimide (0.2g)</li> <li>✓ Sulfate de potassium (10g)</li> <li>✓ Chlorure de magnésium (1,4g)</li> <li>✓ Agar (10g)</li> <li>✓ pH = 7,1</li> </ul>	Est un milieu nutritif tamponné ; à la base d'infusion de tissus de cœur et de cerveau et de peptones ; qui apporte les protéines et les autres nutriments nécessaires à la croissance des microorganismes exigeants.	
<b>Chromagar orientation</b>		
<b>Composition g/L</b>	<b>Utilisations</b>	<b>Photo</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Chromopeptone (16.1g)</li> <li>✓ Chromogen Mix (1,3g)</li> <li>✓ Agar (15g)</li> <li>✓ pH= 6,9</li> </ul>	Est un milieu non sélectif servant à l'isolement, à l'identification directe, à la différenciation et à l'énumération des agents pathogènes des voies urinaires.	

Annexe II

II.1 Matériel biologique

<p><b>Prélèvements des urines</b></p>	
<p><b>Prélèvements de pus</b></p>	
<p><b>Plasma sanguin</b></p>	
<p><b>Les Souches de référence Sur milieu chromogène</b></p>	

## Annexe III

## III.1 Tableau d'interprétation de l'ECBU

Leucocytes/ml (Leucocyturie)	UFC/ml (Bactériurie)	Interprétation
$< 10^4$	$\leq 10^3$	Absence d'infection urinaire
$< 10^4$	$> 10^5$	Présence d'une infection urinaire
$< 10^4$	Entre $10^3$ et $10^5$	Début d'une infection ou surtout un prélèvement contaminé
$< 10^4$	$< 10^3$	Leucocyturie sans bactériurie

(Fauchère, 1997)

## III.2 Tableau de lecture de la galerie API STAPH

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS / ENZYMES	RESULTAT	
				NEGATIF	POSITIF
0	Aucun		Témoin négatif	rouge	—
GLU	D-glucose	1,56	(Témoin positif) (D-GLucose)	rouge *	jaune
FRU	D-fructose	1,4	acidification (D-FRuctose)		
MNE	D-mannose	1,4	acidification (D-ManNosE)		
MAL	D-maltose	1,4	acidification (MALtose)		
LAC	D-lactose (origine bovine)	1,4	acidification (LACtose)		
TRE	D-tréhalose	1,32	acidification (D-TREhalose)		
MAN	D-mannitol	1,36	acidification (D-MANnitol)		
XLT	xylitol	1,4	acidification (XyLiToI)		
MEL	D-mélibiose	1,32	acidification (D-MELibiose)		
NIT	nitrate de potassium	0,08	Réduction des NITrates en nitrites		
PAL	$\beta$ -naphthyl phosphate	0,0244	Phosphatase ALcaline	<u>ZYM A + ZYM B / 10 min</u> jaune      violet	
VP	sodium pyruvate	1,904	production d'acétyl méthyl-carbinol (Voges Proskauer)	<u>VP 1 + VP 2 / 10 min</u> incolore-rose pâle      violet-rose	
RAF	D-raffinose	1,56	acidification (RAFfinose)	rouge	jaune
XYL	D-xylose	1,4	acidification (XYLose)		
SAC	D-saccharose	1,32	acidification (SACcharose)		
MDG	méthyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside	1,28	acidification (Méthyl- $\alpha$ -D-Glucopyranoside)		
NAG	N-acétyl-glucosamine	1,28	acidification (N-Acétyl-Glucosamine)		
ADH	L-arginine	1,904	Arginine DiHydrolase	jaune	orange-rouge
URE	urée	0,76	UREase	jaune	rouge-violet

## III.3 Tableau de lecture de la galerie API 20 E

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

## Annex IV

## IV.1 Liste des antibiotiques à tester selon la famille

Familles d'antibiotiques	Groupe	Antibiotiques	Mode d'action
<b><math>\beta</math> – lactamines</b>	<b>Pénames</b>	Pénicilline	Paroi bactérienne, par toxicité sélective : Ils agissent sur la synthèse du peptidoglycane en inhibant les PLP. L'inhibition des PLP aboutit à l'inhibition de la formation des ponts pentacycliques responsables de la structure réticulée de la paroi.
		Ticarcilline	
		Oxacilline	
		Ampicilline	
		Pipéracilline	
	<b>Céphèmes</b>	Céfotaxime	
		Céftazidime	
		Céfoxitine	
	<b>Carbapénèmes</b>	Imipénème	
	<b>Monobactames</b>	Aztreonam	
<b>Oxapénèmes</b>	Amoxicilline + acide clavulanique		
	Ticarciline +acide clavulanique		
<b>Polymixines</b>	Rifampicine	Ils possèdent une charge positive et agissent comme des agents tensio-actifs. Ils agissent sur la membrane cellulaire en se fixant sur les phospholipides d'où rupture de la barrière osmotique.	
<b>Quinolones</b>	Ciprofloxacine	Inhibition sélective de la synthèse de l'ADN bactérien en agissant sur deux : l'ADN gyrase et l'ADN topo- isomérase IV.	
	Acide nalidixique		
<b>Fluoroquinolones</b>	Lévofloxacine		
<b>Macrolides</b>	Erythromycine	Des inhibiteurs de la synthèse des protéines, ils agissent au niveau de la s/unité 50S du ribosome.	
	Clindamycine		
<b>Sulfamides + Triméthoprime</b>	Triméthoprime + Sulfaméthazole	Agit sur deux enzymes : dihydroptéroate synthétase et dihydrofolate réductase	
<b>Phénicolés</b>	Chloramphénicol	Sous unité 50S du ribosome. Inhibition de la polymérase.	
<b>Cyclines</b>	Tétracycline	Sous unité 30S du ribosome. Inhibiteurs de la phase d'élongation de la chaîne polypeptidique, ils empêchent la fixation de l'aminocyl-ARNt	
<b>Aminosides</b>	Amikacine	Sous unité 30S du ribosome. Erreur de lecture du code génétique lors de la	
	Tobramycine		
	Gentamicine		
	Vancomycine		

		traduction des protéines.
Non classé	Fosfomycine	
	Acide fusidique	

#### IV.2 Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibitions selon la standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale 8ème Edition 2020.

➤ Pour les Entérobactéries :

Antibiotiques à testes	Charges de disque	Diamètres critiques (mm)		
		R	I	S
Ampicilline	10 µg	≤ 13	14 – 16	≥ 17
Amoxicilline acide clavulanique	20/10 µg	≤ 13	14 – 17	≥ 18
Céfazoline	30 µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23
Cefoxitine	30 µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18
Céfatoxime	30 µg	≤ 22	23 – 25	≥ 26
Aztréonaum	30 µg	≤ 17	18 – 20	≥ 21
Imipénème	10 µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23
Amikacine	30 µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17
Gentamicine	10 µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15
Acide naldixique	30 µg	≤ 13	14 – 18	≥ 19
Ciprofloxacine	5 µg	≤ 21	22 – 25	≥ 26
Chloramphénicol	30 µg	≤ 12	13 – 17	≥ 18
Triméthoprim + sulfaméthxazole	1,25/ 23,75 µg	≤ 10	11 – 15	≥ 16

➤ Pour *Staphylococcus aureus* :

Antibiotiques à testes	Charges de disque	Diamètres critiques (mm)		
		R	I	S
Pénicilline	10 µg	≤ 28	-	≥ 29
Oxacilline	<b>CMI</b>			
Cefoxitine	30 µg	≤ 21	-	≥ 22
Gentamicine	10 µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15
Amikacine	30 µg	≤ 16	-	≥ 18
Erythromycine	15 µg	≤ 13	14 – 22	≥ 23

<b>Clindamycine</b>	2 µg	≤ 14	15 - 20	≥ 21
<b>Vancomycine</b>	<b>CMI</b>			
<b>Ciprofloxacine</b>	5 µg	≤ 15	16 – 20	≥ 21
<b>Lévofloxacine</b>	5 µg	≤ 15	16 – 18	≥ 19
<b>Triméthoprime+ sulfaméthoxazole</b>	1.25 / 23.75 µg	≤ 10	11 – 15	≥ 16
<b>Rifampicine</b>	5 µg	≤ 16	17 – 19	≥ 20
<b>Tétracycline</b>	30 µg	≤ 14	15 – 18	≥ 19
<b>Chloramphénicol</b>	30 µg	≤ 12	13 – 17	≥ 18
<b>Acide fusidique</b>	10 µg	< 24	-	≥ 24

➤ Pour *Pseudomonas aeruginosa* :

Antibiotiques à testes	Charges de disque	Diamètres critiques (mm)		
		<b>R</b>	<b>I</b>	<b>S</b>
<b>Ticarciline</b>	75 µg	≤ 15	16 - 23	≥ 24
<b>Ticarciline +acide clavulanique</b>	75/10 µg	≤ 15	15 - 23	≥ 24
<b>Céftazidime</b>	30 µg	≤ 14	15 - 17	≥ 18
<b>Pipéraciline</b>	100 µg	≤ 14	15 - 20	≥ 21
<b>Aztréonam</b>	30 µg	≤ 15	16 - 21	≥ 22
<b>Imipénème</b>	10 µg	≤ 15	16 - 18	≥ 19
<b>Amikacine</b>	30 µg	≤ 14	15 - 16	≥ 17
<b>Gentamicine</b>	10 µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15
<b>Tobramycine</b>	10 µg	≤ 12	13 - 14	≥ 15
<b>Ciprofloxacine</b>	5 µg	≤ 18	9 - 24	≥ 25
<b>Lévofloxacine</b>	5 µg	≤ 14	15 - 21	≥ 22