



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Aboubekr Belkaïd Tlemcen  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de  
l'Univers



Département de Biologie  
*Laboratoire de microbiologie appliquée à l'agroalimentaire au biomédical et à  
l'environnement (LAMAABE)*

## MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Option : Microbiologie et Contrôle de qualité

Présenté par

MEDJATI ILHEM ET MATRAK NOUR EL HOUDA

## THEME

**ETUDE DE LA RESISTANCE DES BACTERIES ISOLEES A  
PARTIR DES PLAIES CHRONIQUES DU PIED DIABETIQUE**

Soutenu le : 09/09/2020, devant le jury composé de :

Président	<b>Hassaine Hafida</b>	PR	Université de Tlemcen
Encadrant	<b>Bellifa Samia</b>	MCB	Université de Tlemcen
Examineur	<b>Mkedder Ilhem</b>	MCB	Université de Tlemcen

Année universitaire 2019/2020

## Résumé

L'infection des pieds diabétiques (IPD), représente un problème majeur de santé public dans l'Algérie. Elle constitue un facteur de risque d'amputation et d'hospitalisation des diabétiques. Notre étude vise à établir le profil de résistance et bactériologique des sujets de pied diabétique dans le but de guider le choix thérapeutique et améliorer la prise en charge de ces malades.

Durant la période de notre étude, **12** prélèvements ont été réalisés dont **(70%)** sont poly-bactériens et **(30%)** sont mono-bactériens.

Parmi les germes identifiés, les bactéries à gram (-) étaient les plus représentées avec un taux de **(64.7%)** avec une prédominance de *Staphylococcus aureus* à **(35.2%)**, *Klebsiella pneumoniae* (**17.60%**), *Escherichia coli* (**11.70%**), *Serratia marcescens* (**5%**) ont été les principaux germes isolés au sein de la famille des *Enterobacteriaceae*. Les bacilles à gram (-) non fermentant ont été majoritairement représentés par *Pseudomonas aeruginosa*. Le profil de résistance des souches aux antibiotiques des travaux antécédents a montré une résistance élevée des Entérobactéries aux différents antibiotiques avec des pourcentages différents, ceci impose une prescription rationnelle des antibiotiques, surveillance continue de l'évolution de la résistance et amélioration d'hygiène hospitalière.

**Les mots clés :** pied diabétique, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*, résistance.

## ***Abstract***

Diabetic foot infection (DFI) is a major public health problem in Algeria. It is a risk factor for amputation and hospitalization of diabetics.

This study aims to establish the resistance and bacteriological profile of diabetic foot subjects in order to guide the therapeutic choice and improve the management of these patients.

During the period of our study, **12** samples were taken, of which **(70%)** were poly-bacterial and **(30%)** mono-bacterial.

Among the identified germs, gram (-) bacteria were the most represented with a rate of **(64.7%)** with a predominance of *Staphylococcus aureus* at **(35.2%)** *klebseilla pneumoniae***(17.60%)**,*Escherichia coli***(11.70%)**,*Serratia marcescens***(5%)** were the main germs isolated within the Enterobacteriaceae family. Non-fermenting gram (-) bacilli were mainly represented by *Pseudomonas aeruginosa*.

The antibiotic resistance profile of the strains showed a high resistance of Enterobacteriaceae to different antibiotics with different percentages, this imposes a rational prescription of antibiotics, continuous monitoring of the evolution of resistance and improvement of hospital hygiene.

**Key words:** diabetic foot, *Staphylococcus aureus* , *Klebseilla pnemoniae*,*Serratia marcescens* , *Pseudomonas aeruginosa* , *E. coli*, resistance.

## الملخص

عدوى التهاب القدم السكرية (IPD) هي مشكلة صحية عامة و رئيسية في الجزائر. حيث يشكل عامل خطر لبتز ودخول مرضى السكري الى المستشفيات . تهدف دراستنا إلى تحديد المقاومة والملف البكتيولوجي للأشخاص المصابين بالتهاب القدم السكرية من أجل توجيه الاختيار العلاجي وتحسين إدارة هؤلاء المرضى.

خلال فترة دراستنا تم أخذ 12 عينة منها % 70 متعددة الجراثيم و% 30 أحادية البكتيريا. من بين الجراثيم التي تم تحديدها ، كانت بكتيريا الجرام سلبي هي الأكثر تمثيلاً بنسبة % 64.7 مع غلبة المكورات العنقودية بنسبة % 35.2، كليبسيلا الرئوية 17.60 %، الاشريكية القولونية 11.70 %، السراتية الذابلة %5 كانت الجراثيم الرئيسية المعزولة ضمن عائلة المعويات.تم تمثيل عصيات جرام سلبي غير المخمرة في الغالب بواسطة الزائفة الزنجارية.

أظهر ملف مقاومة المضادات الحيوية للسلاسل مقاومة عالية للبكتيريا المعوية للمضادات الحيوية المختلفة بنسب مختلفة ، وهذا يفرض وصفا عقلاية للمضادات الحيوية ، والمراقبة المستمرة لتطور المقاومة وتحسين النظافة في المستشفى.

الكلمات الأساسية: القدم السكرية ،المكورات العنقودية الذهبية ، الكلبسيالات الرئوية ، الزائفة الزنجارية ، امعانية مرياحية ، الاشريكية القولونية ، المقاومة

# Remerciement

*Avant tout nous remercions Dieu le tout puissant pour le courage et la volonté qu'il nous a accordée ainsi que l'audace pour dépasser toutes les difficultés pour mener à bien ce travail.*

*Nous tenons d'abord à remercier très chaleureusement, et exprimer nos sincères et hautes considérations et nos profonds respects à Madame **BELLIFA SAMIA** notre promotrice pour son encadrement, sa confiance, son orientation, ses conseils, sa grande disponibilité, ses efforts, et surtout sa bienveillance, et son savoir dans le suivi tout le long de la réalisation de ce travail.*

*Nous tenons à remercier aussi **Dr Hassaine Hafida** d'avoir accepté de présider notre jury, et un très grand merci à **Dr Mkedder Ilhem** accepté d'évaluer ce travail.*

*Au personnel de laboratoire de microbiologie appliquée à l'agroalimentaire au biomédical et à l'environnement (**LAMAABE**), qui nous a aidé et soutenue tout le long de la période d'étude, veuillez trouver ici l'expression de nos sentiments, A tous nos professeurs qui nous ont imbibés de leur savoir et leur passion.*

*Nous tenons à exprimer nos remerciements à l'équipe de service **Medecine Interne** , **Traumatologie de CHU Tlemcen**, pour son accueil, et d'avoir mis à notre disposition le personnel et pour leur aide et surtout pour leurs gentillesse, nous tenons également à remercier tous les patients hospitalisés ayant participés à cette étude.*

*Nous remercions s'adressent également à tous ceux et celles qui de près ou de loin se sont associé pour l'élaboration de ce travail, merci de fond de cœur.*

# Dédicaces

*Avec l'expression de ma reconnaissance je didie ce modeste travaille a ceux qui ,quels que soient les termes brassés,je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.*

*A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir ,qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a epargné acun effort pour me rendre heuresuse mon adorable mère **Nouria**.*

*A ma chère sœur **Assma** et mon cher ami **Mohamed** qui n'ont pas cessé de mon conseiller ,encourager et soutenir tout au long de mes études,Que dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.*

*A mon oncle **Abd el hakim** et sa femme **Nadia** ,Que dieu leur donne une longue et joyeuse vie.*

*A mes chères amis ,**Bochra Ben khaled** et Son homme **Ikbal kébir**, **Nacera hamdaoui** ,**nour el houda ameziane** , **Ammour Amel**, **Baiche Samah** et **Benhamou jamel eddine**.*

*A tous mes enseignants depuis primaire jusqu'à mon cursus universitaire.*

*Sans oublier mon Binome **Ilhem Medjati** pour son soutient moral,sa patience et sa comprehension au long de ce travaille .*

**NOUREL HOUDA**

# Dédicaces

*Le prof de CEM qui m'a dit < t'es un lionceau de ton père lion > ...aujourd'hui vous savez quoi ? < Le lionceau est grandit et devient une lionne >...*

*Ce travail est dédié :*

*A l'homme de ma vie, mon exemple éternel et ma précieuse offre du dieu, celui qui m'a appris par son calme que le fait de parler est un besoin alors qu'écouter est toujours un art ,autant de phrases et d'expression aussi éloquentes soit elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance mon cher papa **Hocine** .*

*A la guerrière, l'une des femmes fortes du ce monde, qui m'a montrée que seul celles qui se faire face aux obstacles de cette vie méritent de continuer à vivre, a toi maman sincère **Fatima**.*

*A mon cher grand frère **Khalil**, mon protecteur et mon héros, a ma petite belle sœur **Fedwa** et au gentil frère **Hocine**, les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous .*

*A mes loins frères **Mahacine** et **Adel**, la distance est toujours un test afin de savoir jusqu'ou notre amour peut voyager...Je vous aime.*

*A mon binôme **Houda**, la fille aux belles grandes yeux, ton sourire coute rien mais il m'a toujours donné autant de lumière.Je t'adore.*

*A quelqu'un qui m'a toujours dit < seule celui qui possède une grande beauté intérieur perçoit toute la beauté du monde > merci de me laisse découvrir que les hommes sont semblable par la nature, seule la vie qui les rend différents.*

*A mes chères amies **Souaad** ,**Nacena**,**Houda** et toutes les filles de ma promo quoique se soit vous serez des mamans , des mariées , des femmes d'affaires ou des simples filles dans vos maisons, soyez l'histoire de réussite que vous recherchez ,soyez celles qui attendent le plus ,soyez l'inspiration que les autres suivent ,soyez vous.*

*A toute les personnes que je les aime tellement, mes grandes parents maternelle, mes tantes et leurs filles et ceux et celle qu'on s'est partagé un sincère sourire. Merci d'exister.*

*A moi-même...**ILHEM**.*

## Sommaire

**Liste des abréviations**

**Liste des figures**

**Liste des Tableaux**

**Introduction ..... 1**

**Première partie : ..... 2**

**SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE..... 2**

Chapitre I: Généralités sur diabète ..... 3

1. Définition de diabète ..... 3

2. Epidémiologie de diabète ..... 3

3. Etiologie de diabète ..... 4

3.1. Le diabète de type 01 (insulinodépendant) ..... 4

3.2. Le diabète de type 02 (non insulinodépendant) ..... 4

Chapitre 02 : Infection du pied diabétique ..... 5

1. Définition ..... 5

2. Epidémiologie ..... 5

3. Physiopathologie des lésions du pied diabétique ..... 6

3.1. La neuropathie : ..... 6

3.2. L'Artériopathie ..... 6

3.3. L'infection du pied diabétique ..... 7

3.3.1. Les stades bactériologiques d'infection du pied diabétiques ..... 7

3.3.1.1. Contamination ..... 7

3.3.1.2. Colonisation ..... 7

3.3.1.3. Colonisation critique ..... 7

3.3.1.4. Infection ..... 8

3.3.1.5. Notion de biofilm ..... 8

3.3.2. Les signes d'infection ..... 9

4. Ecologie du pied diabétique ..... 10

4.1. Cocci à Gram positif .....	11
4.1.1. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	11
4.1.1.1. Habitat et pouvoir pathogène .....	11
4.1.2. <i>Streptococcus</i> .....	11
4.1.2.1. Habitat et pouvoir pathogène .....	12
4.3. Les bacilles à Gram négatif.....	12
4.3.1. <i>Klebsiella</i> .....	12
4.3.1.1. Habitat et pouvoir pathogène : .....	12
4.3.2. <i>E. coli</i> .....	13
4.3.2.1. Habitat et pouvoir pathogène .....	13
4.3.3. <i>Proteus</i> : .....	14
4.3.3.1. Habitat et Pouvoir pathogène : .....	14
4.3.4. <i>Enterobacter</i> .....	14
4.3.4.1. Habitat et pouvoir pathogène .....	14
4.3.5. <i>Serratia marcescens</i> .....	14
4.3.5.1. Habitat et Pouvoir pathogène : .....	15
4.4. Bacille non fermentantes.....	15
4.4.1. <i>Acinetobacter</i> .....	15
4.4.1.1. Habitat et pouvoir pathogène : .....	15
4.4.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	15
4.4.2.1. Habitat et pouvoir pathogène .....	15
4.4. bacilles à Gram positif .....	16
4.4.1. <i>Clostridium</i> .....	16
4.4.1.1. Habitat et pouvoir pathogène .....	16
<b>DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES .....</b>	<b>17</b>
1. Lieu d'étude .....	18
2. Prélèvements .....	18

3. Ensemencement et isolement .....	19
4. Identification .....	20
4.1. Tests complémentaires .....	20
4.1.1. Test d'oxydase .....	20
4.1.2. Test de coagulase .....	21
5. Conservation des souches .....	21
6. Sensibilité aux ATB : .....	21
6.1. L'antibiogramme par diffusion sur disques .....	22
<b>Troisième partie: .....</b>	<b>23</b>
<b>Résultats et discussion.....</b>	<b>23</b>
1. Prélèvement : .....	24
1.1. Répartition des prélèvements selon Sexe .....	24
1.2. Répartition des prélèvements selon l'âge.....	24
1.3. Répartition des prélèvements selon d'autre caractéristique .....	25
1.4 Répartition des prélèvements selon le service d'origine .....	25
1.5. Répartition des cultures selon le caractère poly ou mono-bactérien de la flore identifiée : .....	26
1.6. Répartition globale des germes .....	26
1.7. Répartition des souches bactériennes isolées dans les prélèvements des pieds diabétiques .....	27
2. identification des souches : .....	29
2.1. Identification macroscopique et microscopique : .....	29
2.1.1. <i>Staphylococcus aureus</i> : .....	29
2.1.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> : .....	29
2.1.3. <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	29
2.1.4. <i>E coli</i> .....	29
2.1.5. <i>Serratia marcescens</i> .....	29
2.2. Identification biochimique : .....	29

2.2.1. Test de l'oxydase : .....	29
2.2.2. Test de caogulase .....	30
2.2.3. Galeries biochimiques .....	30
3. Etude de la résistance aux antibiotiques : .....	33
<b>Conclusion.....</b>	<b>36</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>38</b>
<b>Annexe .....</b>	<b>47</b>

## Liste des abréviations

**ATB** : Antibiotique.

**BG N** : Bacteries à gram négatif.

**BGNF**: Les bacilles à Gram négatif non fermentaire

**BGP** : bacteries a gram positive

**BLSE** :  $\beta$ -lactamase à Spectre Elargi

**BMR** : Bactéries multirésistantes

**C1G** : Céphalosporine de première génération

**C2G** : Céphalosporine de deuxième génération

**C3G**: Céphalosporine de troisième génération

**DID** : Diabète insulino-dépendant.

**DIND** : Diabète non insulino-dépendant.

***E. coli*** : *Escherichia coli*

**HPGO** : Hyperglycémie par voie oral.

**IPD** : Infection du pied diabétique.

**IRM** : Imagerie par résonance magnétique.

**IWGDF** : International working group on diabetic foot.

**IWII** : International Wound Infection Institue.

***K. pneumoniae***: *Klebsiella pneumoniae*.

**ORL** : oto-rhino-laryngologie.

***P. Aeruginosa***: *Pseudomonas aeruginosa*

**QS** : Quorum Sensing.

***S. marcescens***: *Serratia marcescens*

***S.aureus*** : *staphylococcus aureus*

**SARM** : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline

**TEP** : Tomographie par Émission de Positron.

## Liste des Figures

<b>Figure 01:</b> Débridement de bio film d'une plaie .....	9
<b>Figure 02 :</b> Aspect clinique d'une lésion de pied diabétique .....	18
<b>Figure 03 :</b> Aspect clinique d'un ulcère colonisé par <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	19
<b>Figure 04 :</b> Répartition des prélèvements selon Sexe n=12 .....	24
<b>Figure 05:</b> Répartition des prélèvements selon l'âge n=12 .....	24
<b>Figure 06:</b> Répartition des prélèvements selon le service d'origine n=12 .....	26
<b>Figure 07 :</b> Répartition des prélèvements selon le caractère poly ou mono-bactérien de la flore identifiée .....	26
<b>Figure 08 :</b> Répartition globale des germes .....	27
<b>Figure 09 :</b> Répartition des souches bactériennes isolées dans les prélèvements des pieds diabétiques .....	28
<b>Figure 10 :</b> Résultat de Test oxydase .....	30
<b>Figure 11 :</b> identification de <i>Staphylococcus Epidermedis</i> (galerie Staph) .....	31
<b>Figure 12 :</b> la fiche des résultats standards de la galerie API Staph de <i>Staphylococcus epidermedis</i> (Biotype7306473) .....	31
<b>Figure 13 :</b> Identification de <i>Klebsiella pneumoniae</i> (galerie Api20E) .....	31
<b>Figure 14:</b> la fiche des résultats standards de la galerie API20E de <i>Klebsiella</i> (Biotype 7255773).....	31
<b>Figure 15 :</b> Identification de <i>E coli</i> (galerie Api 20E .....	32
<b>Figure 16 :</b> la fiche des résultats standards de la galerie API20E de <i>E coli</i> (Biotype7140440).....	32
<b>Figure 17 :</b> Identification de <i>Serratia marcescens</i> (galerie API20E ).....	32
<b>Figure 18 :</b> la fiche des résultats standards de la galerie API20E de <i>Serratia marcescens</i> (Biotype 7306771) .....	32
<b>Figure 19 :</b> identification de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (galerie Api 20 <sup>E</sup> ).....	32
<b>Figure 20 :</b> la fiche des résultats standards de la galerie API20E de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Biotype 7306771).....	33

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Les différents types des lésions.....	25
--	----

# **Introduction**

L'infection du pied diabétique (IPD) constitue un problème major de santé publique, elle expose à des complications parfois redoutables impliquant le pronostic fonctionnel et vital (**Hammami et al., 2015**).

Le pied diabétique regroupe la survenue d'infections, ulcérations et/ou de destructions des tissus profonds du pied associées à une neuropathie et/ou une artériopathie périphérique des membres inférieurs chez le diabétique (**Groupe International de Travail sur le Pied Diabétique, 2011**).

Des bactéries initialement circulantes adhèrent au lit de la plaie et se regroupent de façon structurée grâce à un procédé de communication inter bactérienne appelé Quorum sensing (QS). Elles vont alors synthétiser une matrice tridimensionnelle qui les protège des antiseptiques et des antibiotiques (ATB). Sur les plaies, la présence de biofilm retarde le processus de cicatrisation et majore le risque d'infections. La suspicion de biofilm est évoquée face à une plaie qui n'évolue pas favorablement malgré des soins adaptés. Une détersion répétée associée à l'application d'antimicrobien ou antibiofilm semble la stratégie la plus efficace (**Fromantin et al., 2017**).

Dans ce cadre l'objectif de notre travail est d'établir le profil bactériologique des plaies chroniques du pied diabétique chez les patients admis au CHU Dr Tidjani Damerdji de Tlemcen, et évaluer la résistance des bactéries isolées aux ATB.

**Première partie :**  
**SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**

## **Chapitre I: Généralités sur diabète**

Le diabète est une maladie métabolique qui touche environ 2% de la population mondiale, soit environ 300 millions de personnes. Il est provoqué par un dérèglement du métabolisme glucidique qui est lié à une diminution du taux de l'insuline dans le sang (**Ripsin et al., 2009**).

### **1. Définition de diabète**

Le diabète est considéré comme un véritable problème de santé publique, il s'agit d'une maladie endocrinienne non transmissible caractérisé par une hyperglycémie chronique dans le sang due au mal fonctionnement de l'insuline, selon l'organisation mondiale de la santé (OMS) plus de 300 millions adultes vivait avec le diabète en 2014 comparé au 108 millions en 1980 (**Hajj,2018**).

Est considéré comme diabétique une personne chez qui les analyses de sang montrent :

- Un taux de glycémie a jeune égale à 1.26g /l (7mmol) vérifié à 2 reprises.
- un taux de glycémie égale à 2g /l (11mmol) à n'importe quel moment de la journée accompagné aux symptômes cardinaux (asthénie, amaigrissement, polyuropolydipsie) (**Fournier et al .,2007**).

### **2. Epidémiologie de diabète**

Dans le monde entier, on dénombre plus de 200 millions de diabétiques et selon les prédictions ce nombre pourrait être passé à 366 millions. Le terme diabète recouvre en fait deux types différents :

- Le diabète de type 01(insulinodépendant DID), il affecte le plus souvent 10 à 15% des jeunes avants l'âge de 20 ans.
- Le diabète de type 02 (non insulinodépendant DNID), il survient le plus souvent chez les personnes après l'âge de 50ans et représentent 85 à 90% des diabètes (**Baptiste, 2018**).

### 3. Etiologie de diabète

#### 3.1. Le diabète de type 01(insulinodépendant)

Le DID est une pathologie métabolique chronique qui touche plusieurs populations dans le monde, ce type de diabète concerne particulièrement les jeunes adultes et les enfants. Cette affection métabolique est caractérisée par une hyperglycémie chronique associée à une carence quasi absolue ou absolue de l'insulino-résistance (**Faure, 2019**).

Ce type de diabète est considéré comme une maladie auto-immune provoqué par les lymphocytes T CD4+ et TCD8+ qui attaquent sélectivement les cellules beta insulino sécrétrices du pancréas, il survient le plus souvent chez un sujet non obèse avant l'âge de 30ans.

Cette destruction est due par l'action anormal de système immunitaire, organisme ne reconnait pas les cellules de Langerhans et les détruits via des anticorps et des lymphocytes T ce qui empêche l'entrée de glucose dans les cellules régulatrices et le taux de glucose s'élève dans le sang (**Benbernou, 2019**).

#### 3.2. Le diabète de type 02(non insulinodépendant)

Le diabète de type 02 est caractérisé par une glycémie a jeune, ou encore par une hyperglycémie provoqué par voie oral (HPGO) dépassant les seuils établit par l'organisation mondiale de la santé (OMS) et par la haute autorité de santé (HAS) (**David et al., 2018**).

Cette maladie chronique est associée à une insulino-résistance due au mal fonctionnement de l'insuline sur des tissus cibles (tissu adipeux, muscles squelettique et le foie) (**Tan-Chen et al.,2020**).

Elle nécessite des interventions régulières relatives à des prescriptions médicamenteuses, l'activité physique et l'alimentation (**Hajjet et al., 2018**).

## **Chapitre 02 : Infection du pied diabétique**

### **1. Définition**

Le consensus international du pied diabétique (ou IWGDF : International Working Group on Diabetic Foot) de 2007 définit le comme toute : infection, ulcération ou destruction des tissus profonds du pied associée à une neuropathie et/ou un artériopathie périphérique des membres inférieurs chez le diabétique.

On regroupe sous le terme « pied diabétique » l'ensemble des anomalies cliniques et des manifestations pathologiques atteignant le pied chez une personne diabétique qui sont la conséquence du développement de complications chroniques du diabète constituées de la triade, neuropathie - artériopathie et infection (**Martini et Senneville, 2018**).

### **2. Epidémiologie**

En raison de l'allure épidémique que prend le diabète sucré dans le monde entier, la prévalence de ses complications est amenée à s'accroître significativement.

Les données épidémiologiques sur la pathologie du pied diabétique sont nombreuses mais difficiles à interpréter du fait des différences dans la méthodologie employée et dans la définition même de la pathologie étudiée dans les différentes études, du manque d'homogénéité dans l'expression de la prévalence ou de l'incidence, des caractéristiques des populations étudiées (origine ethnique, niveau social, accessibilité aux soins) (**Richard et Schuldiner,2008**).

Selon la Fédération internationale du diabète sur la progression du diabète dans le monde), le nombre des diabétiques en Algérie atteint 9 millions en 2019, la prévalence est estimée à 14,4%, 5 à 10% des diabétiques souffrent de lésions du pied dont 7 % subissent une amputation.

Entre 9.000 et 10.000 diabétiques doivent subir chaque année l'amputation d'un orteil ou d'un membre entier. Les spécialistes estiment que 30% des patients atteints d'un ulcère du pied ne guériront jamais, 15% finiront par une amputation et 5% décéderont après cinq années de traitement (**Benhamed, 2018**).

En France, plus de 4,5 millions de personnes sont diabétiques, la prévalence des lésions des pieds est estimée entre 1,5% et 4,5% chez les patients diabétiques si on ne tient compte que des

plaies non cicatrisées, 12 à 15% si on considère les patients avec un antécédent de plaie. l'incidence des troubles trophiques est estimée entre 50 000 et 60 000 par an, entre 0,5 et 3%, et 15 000 patients amputés par an (**Naouli, 2018**).

Dans les pays en voie de développement, la prévalence et l'incidence des ulcères diabétiques et des amputations augmentent du fait de facteurs socio-économiques (pauvreté, manque d'hygiène, accès difficile aux soins) (**Richard et schuldiner, 2008**).

50% des amputations de cuisse ou de jambe sont réalisées chez le diabétique. 85% des amputations sont précédées d'une ulcération du pied et 85% des ulcérations sont d'origine traumatique (**Naouli, 2018**).

Plus de la moitié des sujets amputés subiront, s'ils sont diabétiques, une amputation sur le membre controlatéral dans les quatre années suivant la première opération (**Mathieu, 2014**).

### **3. Physiopathologie des lésions du pied diabétique**

Le pied diabétique est avant tout la conséquence de la neuropathie périphérique. En premier lieu l'anesthésie thermo-algique par la disparition du symptôme d'alerte qu'est la douleur augmente le risque et la fréquence des plaies et favorise la sous-estimation de la gravité. Elle est la cause du retard diagnostique (**Martini et Senneville, 2018**). Plus de la neuropathie, Plusieurs mécanismes sont simultanément impliqués dans la survenue des problèmes au pied chez le patient diabétique (**Lushiku, 2006**).

#### **3.1. La neuropathie :**

Plusieurs études ont démontrés que la neuropathie multiplierait de 8 à 18 fois le risque d'ulcération et de 2 à 15 fois le risque d'amputation. La neuropathie est fortement impliquée dans le mécanisme de pied diabétique, en association avec une ischémie. La présence ou non d'une neuropathie détermine le grade de risque pédologique (**Mathieu, 2014**).

#### **3.2. L'Artériopathie**

L'artériopathie est plus fréquent et plus grave chez le patient diabétique, et représente un facteur d'aggravation très important responsable de retard de cicatrisation et de gangrène à l'origine d'amputation. L'artérite augmente avec l'âge et la durée du diabète, Constitue un facteur majeur de risque pour l'apparition des plaies en association à une neuropathie (**Mathieu, 2014**).

### **3.3. L'infection du pied diabétique**

Se définit par l'invasion et la multiplication de micro-organismes entraînant une réponse inflammatoire allant jusqu'à la destruction des tissus atteints, cette infection est en règle secondaire à une plaie cutanée (**Bernard, 2007**).

Elle s'installe sur un pied déjà fragilisé par la neuropathie, l'artériopathie et l'ostéoarthropathie. Elle apparaît superficiellement, puis s'étend en profondeur dans les tendons, muscles, os et articulations. Bien qu'elle est menaçante pour le pied, il faut établir un diagnostic urgent et prendre immédiatement ces patients en charge (**Lushiku, 2006**).

#### **3.3.1. Les stades bactériologiques d'infection du pied diabétiques**

Chez un sujet immunocompétent, notamment diabétique une blessure déclenche une réponse inflammatoire aiguë due à une pénétration intensif des microorganismes plus au moins virulents constituant un niche de contamination dont il peut exposer à un risque accru d'infection à travers plusieurs stades :

##### **3.3.1.1. Contamination**

Traduit le premier stade d'envahissement des microorganisme durant laquelle celle-ci rentre en contact avec l'hôte, sans pour autant persister soit à cause des conditions nutritives et physiques adéquates pour chaque espèce microbienne, ou un échec d'échappement aux défenses de l'hôte, leur présence est donc seulement transitoire (**Valour,2017**) .

##### **3.3.1.2. Colonisation**

Dans ce stade la, les microorganismes réussissent à se proliférer et à se diviser excessivement, mais sans une infection associée en raison de leur présence en quantité et/ou virulence insuffisante pour provoquer une infection, ainsi une absence d'une réponse immunitaire de l'hôte (**Dian et Martineau, 2017**).

##### **3.3.1.3. Colonisation critique**

Un nouveau concept désigne le stade intermédiaire entre la colonisation et l'infection, marqué par la présence des microorganismes réplicatifs dans la plaie en absence de réponse de l'hôte mais en quantité qui interfère avec l'hôte ( Le chiffre de  $10^5$  unités formants colonie (UFC) par gramme de tissu est retenu pour caractériser ce stade de colonisation critique pour de nombreuses bactéries) , souvent dans cet état les plaies stagnent au lieu de s'améliorer, il s'agit donc a des situations cliniques particulières, avec une absence de cicatrisation mais sans critère d'infection (**Joulie,2016**).

### 3.3.1.4. Infection

Le dernier stade est l'infection , une invasion des bactéries prolifératives dans les tissus de l'hôte en raison d'une charge bactérienne qui dépasse la capacité de résistance de cette dernière en provoquant une réaction immunologique insuffisante de convaincre tous les bactéries existantes ce qui aboutissent à des lésions cellulaires et à des réactions symptomatiques de l'hôte. La cicatrisation de la plaie s'interrompt et la situation est clinique [(**Bernard, 2006**);(**Joulie, 2016**)]. Chez un pied diabétique cette infection provoque l'évolution d'une plaie aiguë asymptotique qui ne se

chronicise et conduit fréquemment a une amputation qu'en cas de prise en charge non optimale d'emblée. En touchant les parties molles puis les os dans un second temps .Toute plaie infectée du pied diabétique est un cas médical urgent (**Bernard, 2007**).

Malgré l'importance de la contamination microbienne, la résistance de l'hôte est le facteur décisif du déclenchement d'une infection chez la personne diabétique (**Allao, 2013**). Un contrôle glycémique optimal est également crucial car chez une personne en état d'hyperglycémie, la défense immunitaire de ses globules blancs est altérée et le risque d'infection augmente (**Varnado, 2015**). La prévention et le contrôle de l'infection des plaies du pied diabétique permettent d'éviter de graves complications telles l'ostéomyélite et l'amputation. (**Dian et Martineau , 2017**).

### 3.3.1.5. Notion de biofilm

Un terme désigne la formation d'une communauté multicellulaire de microorganismes existant individuellement de façon symbiotique enrobés d'une matrice polymérique et protectrice attachées aux surfaces rugueuses et aux corps étrangers, mais également aux tissus (**Skander et al.,2014**).

## Première partie : Synthèse bibliographique

---

Lors d'une infection chronique, le bio film constitue un réservoir de pathogènes plus virulents responsable de la sécrétion de cytokines inflammatoires accumulées à la surface de la plaie, provoquant une inflammation chronique, ces germes sont moins sensibles aux antibiotiques et aux désinfectants ce qui va retarder la cicatrisation des plaies (Joulie,2016).

Actuellement le diagnostic de sa présence est difficile car il n'existe pas de critères cliniques pour le différencier de la fibrine, seulement des stratégies permettant de le réduire par un débridement chirurgical à l'aide d'un scalpel, de ciseaux ou d'une curette (Figure 01). Des moyens mécaniques (ex. : ultrasons) ou chimiques (ex: antimicrobiens) et même avec des pansements antimicrobiens (Joulie, 2016).



**Figure 01** : débridement de bio film d'une plaie(Diane St-Cyr, 2011).

Selon le Dr Wolcott (2010), certains signes cliniques permettent de présumer de la présence d'un bio film dans une plaie :

- la guérison en quelques semaines d'une lésion secondaire ou satellite adjacente à une plaie chronique alors que la plaie primaire évolue depuis plusieurs mois
- la transformation rapide (2 à 3 jours) d'une plaie aiguë en plaie chronique
- l'augmentation de l'exsudat, de l'érythème et de la nécrose.

Le Southwest Regional Wound Care Center, au Texas, a pour sa part émis la déclaration suivante : « Une plaie qui présente des tissus nécrotiques humides est une plaie qui contient un biofilm. » (Cooper *et al.*, 2010).

### 3.3.2. Les signes d'infection

Qui dit infection dit l'apparition des signes classiques d'inflammation : chaleur, tuméfaction, érythème ou écoulement purulent. Elle peut prendre la forme d'une cellulite, d'une arthrite septique, d'une ostéite ou d'un abcès. Des signes plus subjectifs peuvent être une modification de la coloration de la plaie, la friabilité du tissu de granulation, le retard de cicatrisation, l'odeur nauséabonde et la dégradation rapide de la plaie (Masson *et al.*, 2017).

Les signes comme la fièvre (pas toujours présente et rarement élevée.), la douleur, l'hyperleucocytose ou l'accélération de la vitesse de sédimentation manquent souvent. Mais, s'ils sont présents, il est probable qu'il s'agisse d'une atteinte tissulaire étendue, voire de la constitution d'un abcès (Bourgeois, 2003).

En présence d'une bactériémie (hémocultures positives), on parlera d'une infection généralisée. On peut alors s'attendre à des symptômes cliniques plus graves (Françoise, 2018).

#### 4. Ecologie du pied diabétique

L'infection du pied chez le diabétique est quasi-exclusivement bactériennes les infections fongiques étant exceptionnelles; les levures (*Candida spp.*) et les dermatophytes (Martini et Senneville, 2018).

Dans le cas d'une plaie chronique, l'infection est souvent poly-microbienne et inclut les bacilles gram+, gram- et les anaérobies (Mazhoud et Khalfallah, 2018).

Les infections d'une plaie récente (moins de 15 jours), superficielles sont le plus souvent d'origine mono microbienne, alors que les plaies plus chroniques, ayant déjà fait l'objet d'antibiothérapies sont plus volontiers d'origine poly microbienne (Martini et Senneville, 2018).

Les germes pathogènes les plus fréquemment observés sont les *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus A* et *B*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* et *Clostridium*. Qui ont agit en synergie et entraînent une grande et rapide destruction tissulaire [(Aich, 2017) ; (Mazhoud et Khalfallah, 2018)].

Il est bien démontré par la littérature que trois variables importantes sont inter reliées dans la progression vers l'infection : le nombre de bactéries, le type de bactéries car leur virulence est plus ou moins grande selon les espèces, et la résistance de l'hôte (Allao, 2013).

Pour le nombre, les experts ont suggéré qu'une concentration bactérienne supérieure ou égale à 10<sup>5</sup> unités formant colonie (UFC) par gramme ou mm<sup>3</sup> de tissu serait le seuil permettant la détection d'une « colonisation critique », seuil pour lequel les défenses de l'hôte n'arriveraient plus à empêcher la multiplication bactérienne. Cette « colonisation critique » pourrait entraver la cicatrisation de la plaie ou pourrait être le point de départ de l'extension de l'infection (Valour, 2017).

En passant à la virulence des bactéries qui est indispensable de tenir leurs potentiels ainsi des possibilités de défenses immunitaires de l'hôte. Chaque espèce bactérienne présente une virulence qui lui est propre au niveau des plaies chroniques (Françoise, 2018).

### 4.1. Cocci à Gram positif

#### 4.1.1. *Staphylococcus aureus*

Est un germe sphérique (coque) à Gram positif aéro-anaérobies facultatives. Qui poussent en amas. Cette bactéries non productrice de spores est très résistante dans les milieux extérieurs et peu exigeant en culture. Egalement dit *Staphylococcus* doré, est un staphylocoque à coagulase positive (Couderc, 2015).

##### 4.1.1.1. Habitat et pouvoir pathogène

*Staphylococcus aureus* est très fréquent à l'état commensal et pathogène. Son réservoir naturel est l'homme et l'animal. Il colonise la peau, le tube digestif et la région périnéale des nouveaux nés. Il est également très présent au niveau des fosses nasales avec 10 à 40% d'individus porteurs de façon permanente et 60% qui hébergent *S.aureus* de façon intermittente et des mains (El-Anzi, 2014).

Bien qu'étant commensal *S.aureus* peut devenir pathogène et être responsable d'infections cutanées abcès et de certaines infections ORL : angines, les infections nosocomiales, pouvant être graves en milieu hospitalier, il est impliqué dans. *Staphylococcus aureus* peut aussi être responsable d'intoxications alimentaires. (Couderc, 2015).

#### 4.1.2. *Streptococcus*

Les streptocoques sont définis comme des cocci à Gram positif capsulé disposés le plus souvent en chainettes qui ont un métabolisme anaérobie aéro-tolérants, exigeants en nombreux facteurs de croissance : (sang rajouté dans les milieux de culture). (Bouvet, 2013).

### 4.1.2.1. Habitat et pouvoir pathogène

Le terme streptocoque désigne un genre composé d'un vaste ensemble de bactéries, Certaines d'entre elles sont des parasites pathogènes (streptocoques des groupes A, C et G de LANCEFIELD), tandis que d'autres sont commensales de la muqueuse buccale et génitale ou l'intestin d'homme ainsi l'animal (Bouvet, 2013).

Les streptocoques sont, les bactéries pyogènes n° 2. Après les staphylocoques, Le plus pathogène d'entre eux est le streptocoque bêta-hémolytique du groupe A de LANCEFIELD, appelé *Streptococcus pyogenes*, qui est responsable de la majorité des affections provoquées par les streptocoques. Les réactions immunologiques de l'hôte infecté par *S.pyogenes* sont beaucoup plus complexes que celles qui s'observent lorsqu'il est infecté par *S.aureus* et peuvent conduire à la formation d'anticorps spécifiques à un taux élevé et d'auto-anticorps (Bouvet, 2013).

## 4.3. Les bacilles à Gram négatif

### 4.3.1. *Klebsiella*

Elle fait partie de la famille des Enterobacteriaceae, Il s'agit d'une bactérie dite Gram négatif très souvent capsulé, toujours immobile et poussant sur milieu ordinaire en atmosphère aéro-anaérobie, oxydase négative, fermentant le glucose et le lactose en produisant du gaz, produisant de l'indole et une uréase et fermentant l'acétoïne, réduisant les nitrates en nitrites, On distingue 5 espèces dans le genre qu'on peut différencier par des caractères biochimiques [(Sekhri, 2011) ;(Chikhani, 2012)].

#### 4.3.1.1. Habitat et pouvoir pathogène :

*Klebsiella pneumoniae* est rencontrée dans la flore fécale de 30 à 40% des animaux et de l'homme (bactérie ubiquitaire présente dans le tube digestif et dans l'appareil respiratoire de l'homme et des animaux en tant que bactérie commensale), elle végète sur la peau, les muqueuses et les voies respiratoires supérieures (Abdelmalek et Lezzar, 2016).

Pour ce qui est des infections nosocomiales, le tube digestif des patients hospitalisés et les mains du personnel sont les deux sources principales [(Sekhri *et al.*, 2011) ;(Belbel, 2014)].

*K. pneumoniae* est responsable d'infections spontanées dans 25 % des cas, mais surtout d'infections nosocomiales notamment chez des patients hospitalisés dans des unités de soins intensifs adultes ou pédiatriques (Mendaci etMihoubi,2015).

Elle est pathogène chez l'immunodéprimé, souvent traité par les antibiotiques, et responsable d'infections diverses : infections suppuratives, urinaires, respiratoires, biliaires, hépatiques intra-abdominales, bactériémies, fasciites nécrosantes (Abdelmalek et Lezzar, 2016 ).

### 4.3.2. *E. coli*

Le genre *Escherichia* appartient, aux 14 familles des Enterobacteriaceae. Ce sont des bacilles gram négatif uniformément coloré, non sporulé, de 2µm à 3µm de long sur 0.7µm de large, non sporulé, généralement mobile grâce à une ciliature péritriche, aéro-anaérobie facultatif, à métabolisme respiratoire et fermentaire, oxydase négative, catalase positive et nitrate réductase positive [(Francis, 2005) ;(Miszczycha, 2013) ].

Elle se développe en 24 heures à 37C° 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 hémolytique (Belguedj et Amouche,2018).

#### 4.3.2.1. Habitat et pouvoir pathogène

*E. coli* est une bactérie commune de la microflore commensale intestinale de l'homme et de la plupart des animaux à sang chaud ,elle colonise le tractus intestinal de l'humain dès la naissance constitue dès lors l'espèce bactérienne dominante de la flore anaérobie facultative du colon humain [ (Francis, 2005) ;(Pantel, 2015)].

Chez l'homme, la colonisation par *E. coli* est précoce, et peut être responsable d'un nombre varié de pathologie. Toutefois, trois types de syndromes majeurs résultent de l'infection par de souches *E. coli* pathogènes : infections urinaires (impliqué dans 80 % des infections urinaires), les infections digestives (diarrhées, infections hépatobiliaires et autres), et les méningites néonatales et septicémies (Jaureguy. 2009).

### 4.3.3. *Proteus*

Les *Proteus spp* sont des bacilles à Gram négatif, généralement très mobiles, polymorphes, mesurant de 0,4 à 0,8 µm de diamètre sur 1,0 µm à 80 µm de longueur (Lamnaouer, 2002).

#### 4.3.3.1. Habitat et Pouvoir pathogène :

Proteus sont des bactéries de l'environnement et des commensaux de l'intestin de l'homme et des animaux. après *Escherichia coli*, elle est la bactérie la plus souvent isolée des urines et elle est à l'origine aussi d'infections nosocomiales (Mahrouki *et al.*, 2009).

### 4.3.4. *Enterobacter*

Les *Enterobacter* sont des bacilles droits à Gram négatif présentent de manière isolée, groupée, ou en courtes chainettes généralement mobiles, fermentent ou non le lactose (Fauchère et Avril, 2002).

#### 4.3.4.1. Habitat et pouvoir pathogène

Ce sont des pathogènes opportunistes responsables en milieu hospitalier d'infections divers comme les infections urinaires, les bactériémies, les méningites et les suppurations diverses (khayar, 2011).

Différentes espèces constituent ce genre. Certains n'ont jamais été associés à des infections humaines. Les espèces du genre *Enterobacter*, en particulier *Enterobacter cloacae* et *Enterobacter aerogenes*, sont des pathogènes responsables d'infections nosocomiales diverses, y compris la bactériémie, les infections des voies respiratoires et urinaires, l'endocardite, les infections intra abdominales et ophtalmiques, l'arthrite septique et les ostéomyélites (Abdelmalek et Lazzer, 2016).

### 4.3.5. *Serratia marcescens*

Sont des entérobactéries mobiles, des bacilles Gram négatif parfois assez fins, dont la longueur est intermédiaire entre celle des *E. coli* et celle des *Salmonella*, elles donnent parfois des colonies pigmentées en rouges (Abdel et Bouaoudj, 2012).

### 4.3.5.1. Habitat et Pouvoir pathogène :

Elles sont des bactéries de l'environnement trouvées sur le sol et les plantes, du tube digestif des petits mammifères sauvages mais rarement isolées en milieu hospitalier. Elles sont beaucoup plus résistantes aux antibiotiques (**Abdel et Bouaoudj ,2012**).

Les *Serratia* sont peu pathogènes pour les sujets sains. Aujourd'hui, elles sont responsables d'infections hospitalières parfois épidémiques, particulièrement *S. marcescens* (**Abdelmalek et Lazzer , 2016**).

## 4.4. Bacille non fermentantes

### 4.4.1. *Acinetobacter*

sont des bacilles aérobies à Gram négatif qui appartiennent à la famille des Neisseriaceae, strictement aérobies, non fermentantes, non mobiles, catalase positive, oxydase négative (**O'donoghe et al., 2012**).

Cette espèce se développe bien sur les milieux ordinaires. Sur gélose nutritive, les colonies sont rondes, de couleur blanc-jaunâtre et d'aspect butyreux atteignant de 1 à 4 mm de diamètre en 24 heures à 30°C (**Wafi,2017**).

#### 4.4.1.1. Habitat et pouvoir pathogène :

Ils sont omniprésents étant donné qu'ils peuvent être récupérés dans presque tous les échantillons d'eau de surface et de sol et peuvent survivre sur des surfaces sèches jusqu'à un mois (**Larry et al., 2018**).

### 4.4.2. *Pseudomonas aeruginosa*

Est un bâtonnet Gram négatif non fermentatif, Le nom *aeruginosa* (rouille de cuivre) correspond à la couleur verdâtre objectivée cliniquement sur les ulcères infectés par ce germe (**Toutous,2015**) sporulant de forme droite ou légèrement courbée, ayant un métabolisme oxydatif, non fermentaire, aérobie stricte. C'est une bactérie mobile grâce à la présence d'un flagelle monotriche polaire (**Euzéby, 2011**).

#### 4.4.2.1. Habitat et pouvoir pathogène

Bactérie omniprésente, saprophyte des environnements humides, mais peut être commensal du tube digestif (Toutous, 2015).

*P.aeruginosa* est responsable de 16% des infections pulmonaires, de 12% des infections du tractus urinaires, de 8% des infections touchant les grands brûlés et de 10% des infections de sangs (bactériémie et /ou septicémie). Cette bactérie est également une des causes majeures de mortalité et de morbidité chez les personnes atteintes de mucoviscidose (Rassignol, 2007).

#### 4.4. bacilles à Gram positif

##### 4.4.1. *Clostridium*

Les *Clostridium Spp* sont des bacilles Gram positif sporulés, anaérobies stricts voire aéro-tolérants pour certaines espèces, et généralement mobiles. Certaines espèces ne sporulent que très difficilement comme *Clostridium ramosum* (Allen, 2018).

##### 4.4.1.1. Habitat et pouvoir pathogène

Sont des bactéries d'environnement (le sol, les eaux, les sédiments marins, les végétaux et les cadavres d'animaux) survivent grâce à leurs spores; Certaines espèces sont rencontrées dans la flore digestive normale des animaux et de l'homme ( $10^3$  à  $10^9$  bactéries par gramme de selles) (Robert, 2007).

Les infections à *Clostridium Spp*, les mieux caractérisées sont celles pour lesquelles le rôle pathogène est engendré par la présence de toxines. Les *Clostridium spp* sont alors à l'origine de deux principaux tableaux cliniques selon la voie d'entrée de la bactérie dans l'organisme ; les complications de plaies (gangrènes, tétanos, botulisme) et les infections digestives (toxi-intoxications alimentaires à *C. perfringens*, intoxications à *C. botulinum*, colites pseudo-membraneuses à *C. difficile* ...) (Robert, 2007).

**DEUXIEME PARTIE :**  
**MATERIEL ET METHODES**

### 1. Lieu d'étude

Il s'est agi d'une étude transversale du 25 février 2020 au 12 mars 2020 au laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agro-alimentaire, au Biomédical et l'Environnement (LAMAABE), université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen. Cette étude était prévus d'être allongée une semaine en plus mais malheureusement elle s'est arrêtée a cause de l'épidémie de corona.

### 2. Prélèvements

Les prélèvements ont être pratiqués sur des patients diabétiques souffrant d'une infection de pied établie cliniquement à partir du grade 2 de la classification du Consensus International (figure02)(figure03), représentant au moins deux signes cliniques locaux d'infection (chaleur locale, érythème, rougeur, sensibilité locale et douleur, tuméfaction), Ces patients ont été hospitalisés ou suivis à titre externe dans des différents services de médecine interne, de chirurgie générale et de traumatologie du centre hospitalier universitaire Tidjani Damerджи de Tlemcen.



**Figure 02** : Aspect clinique d'une lésion de pied diabétique .



**Figure 03 :** Aspect clinique d'un ulcère colonisé par *Pseudomonas aeruginosa* .

Chaque patient a bénéficié de prélèvement sur la (les) lésion(s) aux fins d'études bactériologiques ces prélèvements sont précédés d'un nettoyage de la lésion par une compresse stérile imbibée de sérum physiologique stérile. La technique utilisée c'était celle d'un écouvillonnage simple qui consiste le plus souvent à passer un écouvillon de coton sur une surface de 1 cm<sup>2</sup> de la plaie, dans un mouvement en zigzag combiné à une rotation.

Ces prélèvements ont été transportés le plus rapidement possible au laboratoire dans des conditions optimales d'asepsie et ont fait l'objet : d'un examen microscopique d'une culture et de l'identification bactérienne suivie d'un antibiogramme

### 3. Ensemencement et isolement

Une culture sur un bouillon cœur- cervelle (brain heart infusion/BHI) a été réalisée, chaque écouvillon a été déchargé dans un 5 ml de bouillon nutritif BHIB pour enrichir le prélèvement pendant 24h à une température de 37°C. Le bouillon est ensemencé en surface surface sur les milieux sélectifs suivants (**Annexe 02**).

□ **Mac Conkey**: est un milieu d'isolement ordinaire, lactosé et sélectif des bacilles à Gram négatif non exigeants. Le désoxycholate de sodium et le cristal violet inhibe la croissance des bactéries à Gram positif.

## Deuxième partie : matériel et méthodes

---

□ **Chapman** : La gélose Chapman est le milieu sélectif des bactéries halophiles et plus particulièrement fermentant le mannitol. C'est un milieu semi-synthétique. Il est utilisé pour l'isolement des *Staphylococcus*

□ **Cetrimide**: La gélose au cetrimide est utilisée pour l'isolement et l'identification de *Pseudomonas aeruginosa*. Le cétrimide est un ammonium quaternaire qui inhibe la croissance de la plupart des autres espèces bactériennes. *Pseudomonas aeruginosa* colore ce milieu en bleu-vert par production de pyocyanine.

### 4. Identification

Après vérification de leur pureté, L'identification des souches est basée selon des critères :

- Macroscopiques, morphologiques : (Aspect des colonies sur milieux gélosés).
- Microscopiques, culturels : (forme des colonies, mobilité, coloration de Gram).
- Biochimiques : L'identification des espèces d'entérobactéries et autres bacilles à gram négatif a été faite à partir de la galerie Api 20 E, un système standardisé de 20 microtubes contenant des substrats déshydratés, dans lesquelles la suspension bactérienne est inoculée, les réactions produites pendant une durée d'incubation et après l'addition de certains réactifs se traduisent par des virages colorés. Une lecture des résultats se fait à l'aide du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification. (Annexe 03). Le même principe se répète pour les *Staphylococcus*, mais le type de galerie se diffère il s'agit d'une galerie spécialisée appelée galerie staph

#### 4.1. Tests complémentaires

##### 4.1.1. Test d'oxydase

Un test fondamental pour l'identification des bacilles à Gram négatif. La détection d'enzyme oxydase permet d'orienter la recherche vers les genres *Pseudomonas* et vers la famille *Vibrionaceae*.

- Principe : Le test consiste à mettre en évidence la capacité que possède la bactérie à oxyder un réactif incolore (la NN-diméthyl-paraphénylène diamine) en un dérivé rose violacé.
- Technique : le N-diméthyl paraphénylène diamine (PDA) est utilisé comme réactif, Généralement imprégné sur des disques (disques oxydases). Un de ces disques est placé sur une lame et une colonie y est déposée avec une pipette Pasteur, le résultat sera obtenu durant les 30 secondes suivantes.

## Deuxième partie : matériel et méthodes

---

- Résultats : l'apparition d'une tache violette signifie que la bactérie est oxydase positif, elle possède l'enzyme respiratoire (cytochrome oxydase) ; si rien apparaît la bactérie est oxydase négatif, elle ne possède pas l'enzyme

### 4.1.2. Test de coagulase

Un test permet l'identification de 99% des souches de *S. aureus*(Guillaume, 2004).

- Principe : Le test mettant en évidence l'aptitude des bactéries à coaguler le plasma par la production d'enzyme coagulase
- Technique : consiste à incuber pendant 4 heures à 37°C un mélange de 0,5 ml de plasma et de 0,5 ml d'une culture de 18 h de la souche à étudier.
- Résultats : L'apparition d'un caillot signifie que la bactérie est Coagulase positive il s'agit de *Staphylococcus aureus*. S'il y avait pas de coagulation du plasma, la bactérie est Coagulase négative il s'agit de *Staphylococcus* à coagulase négative.

## 5. Conservation des souches

Touts les souches identifiées sont conservées en double réplique :

- **Gélose nutritive inclinée** : est une technique de conservation a court terme offre aux bactéries deux milieux de culture avec des conditions d'aérobies différentes : à la surface et dans la gélose. Il s'agit d'un ensemencement des tubes pendant 24h a 37°C suivi directement par une conservation dans le réfrigérateur a 4°C .la maintenance de la vitalité des souches est dépend la température et l'espèce microbienne.
- **Le glycérol** :est une technique de conservation à long terme. pour préparer les stocks de glycérol, ce dernier est d'abord placé en autoclave, puis refroidi. Le volume approprié de glycérol est ajouté à une suspension de bactéries en phase log et passé au vortex afin de séparer les cellules et d'assurer un mélange homogène des bactéries et du glycérol. Le glycérol est un cryoprotecteur assure l'absence des altérations cellulaires lors le refroidissement.

## 6. Sensibilité aux ATB :

## **Deuxième partie : matériel et méthodes**

---

L'étude de la sensibilité des bactéries aux ATB a été faite par la technique de mise en place de disques en papier imprégnés d'ATB sur une surface de géloseensemencée par la souche bactérienne à tester (méthode de Kirby-Bauer).

Les ATB utilisées sont : l'amoxicilline (AMX), l'amoxicilline- acide clavulanique (AMC), la ceftazidime (CAZ), la cefotaxime (CTX), la colistine(CT), l'imipénème (IMP), Ticarciline (TIC) , la gentamycine(GN), la lincomycine (L),, la tétracycline (TET), l'acide fusidique (AF), l'Amikacine (AK), la Ciprofloxacine (CIP), Norfloxacine (NOR) , chloramphénicol (C) et la pipéracilline(PIP)

### **6.1. L'antibiogramme par diffusion sur disques**

Une suspension bactérienne préalablement préparée et incubée à 37°C pendant 24h, est ajustée à une DO 625 nm comprise entre 0.08 et 0,1 ce qui correspond à une charge bactérienne de 10<sup>8</sup>UFC/mL. Après une dilution au 1/100 (10<sup>6</sup> UFC/mL), l'ensemencement des boîtes de pétries contenant de la gélose Mueller Hinton est accompli par écouvillonnage, en suite déposer des disques de papier buvard comprenant un antibiotique à une certaine concentration.

Les Résultats sont obtenue par la mesure avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide de pied à coulisse puis les comparés aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes.Plus la zone d'inhibition est grande, plus grande est la sensibilité de la souche bactérienne testée vis-à-vis de l'antibiotique étudié.L'interprétation des résultats est effectuée selon les normes et les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM, 2018)

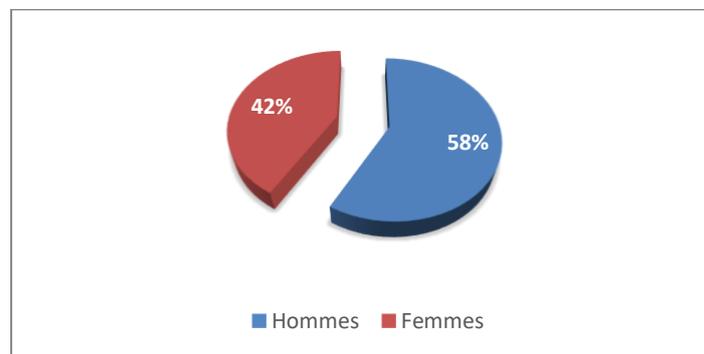
**Troisième partie:**  
**Résultats et discussion**

### 1. Prélèvement :

Durant la période d'étude, nous avons colligé 12 prélèvements réalisés chez 12 patients, Le prélèvement a été effectué par le personnel soignant au niveau de la plaie à l'aide d'un écouvillon stérile dans les conditions d'asepsie appropriées.

#### 1.1. Répartition des prélèvements selon Sexe

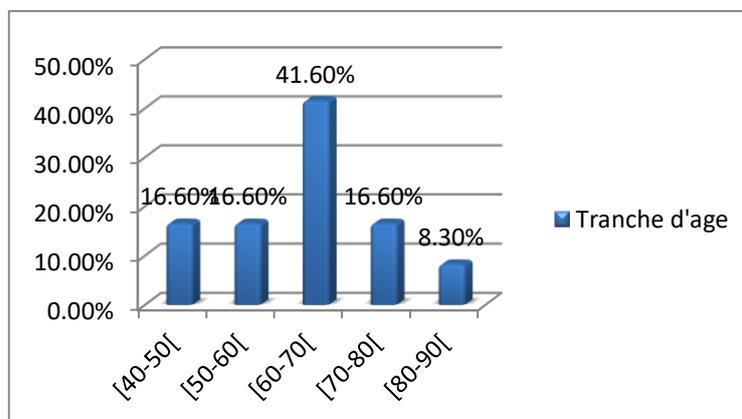
La population était majoritairement masculine composée de 12 patients ,7 hommes (58,3 %) et 5 femmes (41,6 %), Le sexe ratio Homme / Femme était de 1,4. La répartition des patients selon le sexe est représentée dans la **figure 04**.



**Figure 04:** Répartition des prélèvements selon Sexe

#### 1.2. Répartition des prélèvements selon l'âge

L'âge moyen des patients de notre série était de 65 ans, il variait entre 45 à 86ans. La répartition des patients selon le sexe est représentée dans la **figure 05**.



**Figure 05:** Répartition des prélèvements selon l'âge n=12

### 1.3. Répartition des prélèvements selon d'autre caractéristique

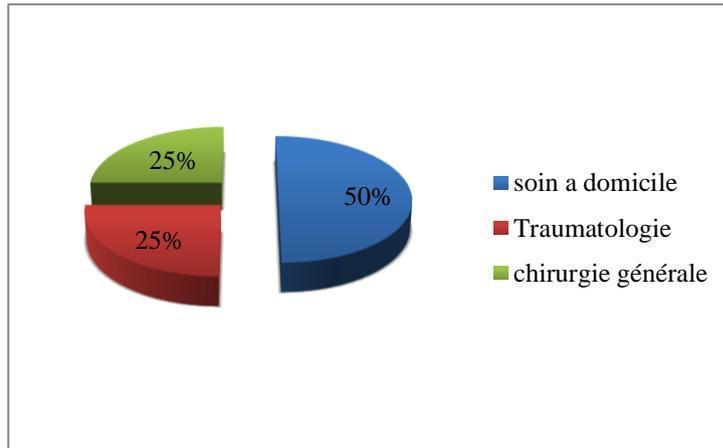
Tout ces patients sont des porteurs d'une plaie de pied diabétique infectée et diagnostiquée cliniquement. La suspicion de signes d'infection, (rougeur, chaleur, œdème, douleur), et des signes généraux (fièvre) a été noté chez la totalité, mais le type de l'état de lésion s'est diffère d'un patient a autre. Les caractéristiques sont résumées dans **le tableau 01**.

Siège de lésion	Nombre des cas	Fréquence
<b>Orteils nécrosés</b>	04	33,3%
<b>Avant pied nécrosé</b>	01	08,3%
<b>Tallon nécrosé</b>	01	08,3%
<b>Moignon (pied amputé)</b>	04	33,3%
<b>Jambe</b>	02	16,6%

**Tableau 01** :Les différents types des lésions

### 1-4 Répartition des prélèvements selon le service d'origine

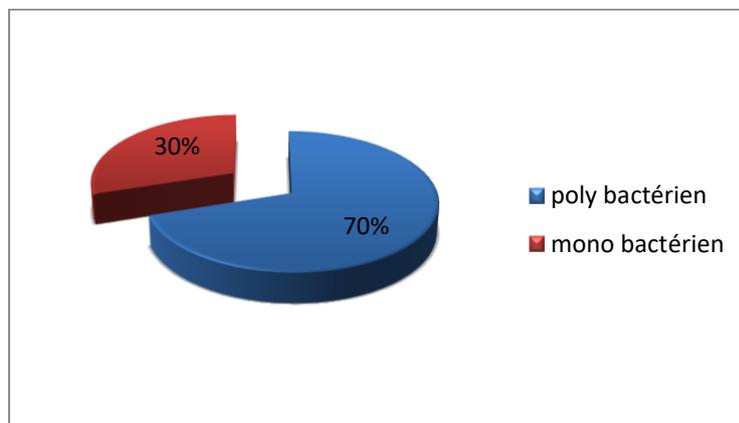
Pendant la période d'étude, 12 prélèvements ont été analysés Parmi eux, 6 (50 %) avaient une lésion infectée du pied ont été étudiées puis suivis à titre externe (soin a domicile). 3 (25 %) ont été hospitalisés en service de traumatologie et 3 autres (25 %) en chirurgie générale. 100 % de ces prélèvements ont été obtenus par la technique d'écouvillonnage simple (**Figure 06**).



**Figure 06:** Répartition des prélèvements selon le service d'origine n=12

### 1.5. Répartition des cultures selon le caractère poly ou mono-bactérien de la flore identifiée :

La plupart des études effectuées sur ce sujet rapportent que l'infection du pied diabétique est poly microbienne (Al Benwan , 2012).En revanche, les cultures au cours de notre série étaient mono-microbiennes que dans 30% des cas et poly-microbiennes chez 70% des patients (**Figure 07**).



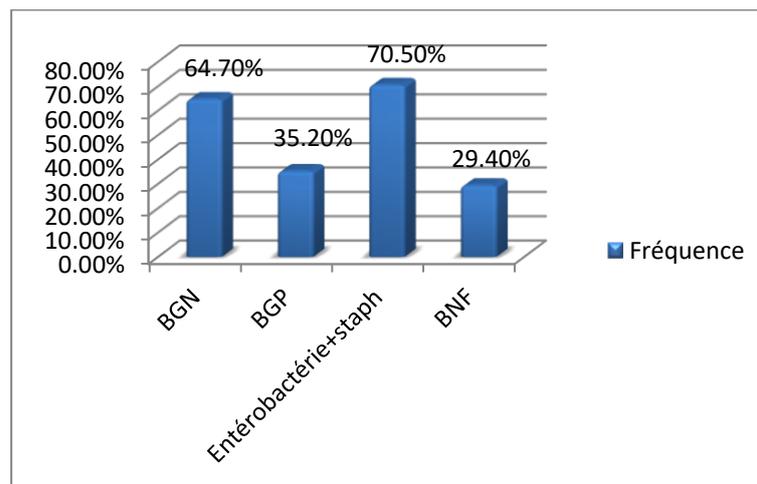
**Figure 07 :**Répartition des prélèvements selon le caractère poly ou mono-bactérien de la flore identifiée.

### 1.6. Répartition globale des germes

## Troisième partie : résultats et discussion

Parmi 17 germes identifiés, Les taux d'isolement des bactéries à Gram négatif (BGN) et des bactéries à Gram positif (BGP) étaient respectivement de 64,7% et 35,2%. Les entérobactéries et staphylocoques étaient les plus prédominantes représentant 70,5% des isolats pour chacune suivies des bacilles à Gram négatif non fermentant (BNF) (29,4%) (**Figure 08**).

La littérature médicale rapporte que les infections du pied diabétique sont dominées par les bactéries à Gram positif (BGP) (**Richard et al., 2011**). 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 [(**Turhan et al., 2013**) ; (**Durgad et al., 2014**)]. 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 (**Uçkay, 2014**).



**Figure 08** : répartition globale des germes .

### 1.7. Répartition des souches bactériennes isolées dans les prélèvements des pieds diabétiques

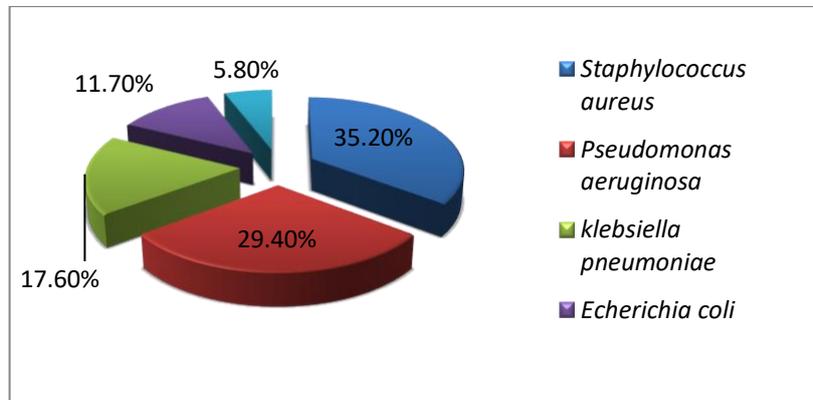
*Staphylococcus aureus* était le principal germe isolé au cours de notre étude, suivi par *Pseudomonas aeruginosa* venant en tête des bacilles à Gram négatif non fermentants, *Klebsiella pneumoniae*, puis *Echerichia coli* et *serratia marcescens* (**Figure 09**).

### Troisième partie : résultats et discussion

En effet, plusieurs études réalisées sur ce sujet objectivent que le *Staphylococcus aureus* est le pathogène le plus fréquemment isolé dans les infections du pied diabétiques [(Jadid, 2014) ; (Guira et al., 2015)]. Cependant le taux de *Staphylococcus aureus* dans notre étude reste relativement fort à celui noté par Aich en 2017(Aich,2017). Une étude réalisée en Burkina Faso par Guira et al., en 2015a montré des résultats proches de ceux notés par notre étude. Les BGN étaient prédominants avec un taux de 67,6% et *Staphylococcus aureus* était l'espèce la plus fréquemment isolée avec un taux de 32.4% (Guira et al.,2015).

Parmi les BGN, nous avons noté la prédominance des entérobactéries représentant 45,4% des isolats, *Pseudomonas aeruginosa* était l'espèce la plus fréquemment retrouvée parmi les BGN et la deuxième parmi tous les germes. Elle représentait 29,4% des isolats. Ces résultats sont proches de ceux rapportés par Jadid en 2014 où *Pseudomonas aeruginosa* était le deuxième pathogène le plus fréquemment isolé, après *Staphylococcus aureus* (Jadid,2014).

Dans notre étude, *serratia marcesens* a représenté 5,8% des isolats. Cette bactérie était rarement isolée dans les études menées dans des pays comme Burkina Faso et le Maroc [(Guira et al.,2015) ;(Aich,2017)].



**Figure 09:** Répartition des souches bactériennes isolées dans les prélèvements des pieds diabétiques

### 2. identification des souches :

#### 2.1. Identification macroscopique et microscopique :

##### 2.1.1. *Staphylococcus aureus* :

Donne des colonies rondes lisses blanche sur gélose (staphylococcus blanc) ou doré des colonies opaques atteignent 2 à 3 mm de diamètre ( **Annexe 04**).

##### 2.1.2. *Pseudomonas aeruginosa* :

Les colonies sont facilement distinctives grâce à la production de la pyocyanine, un pigment bleu-vert diffusible dans le milieu extracellulaire (**Mezhoud et Khalfallah, 2018**) ( **Annexe 04** ).

##### 2.1.3. *Klebsiella pneumoniae*

Grosse colonies lactose positive, bombées, muqueuse, lissent parfois filante à l'anse de platines d'un diamètre de 3 à 4 mm en 18 à 24H à 37C (**Annexe 04**).

##### 2.1.4. *E coli*

Les colonies sont de forme rondes, lisses, à bords réguliers, de 2 à 3 mm de diamètre, non pigmentées de couleur blanc opaque, surface brillante et la consistance est gluante (**Annexe 04** ).

##### 2.1.5. *Serratia marcescens*

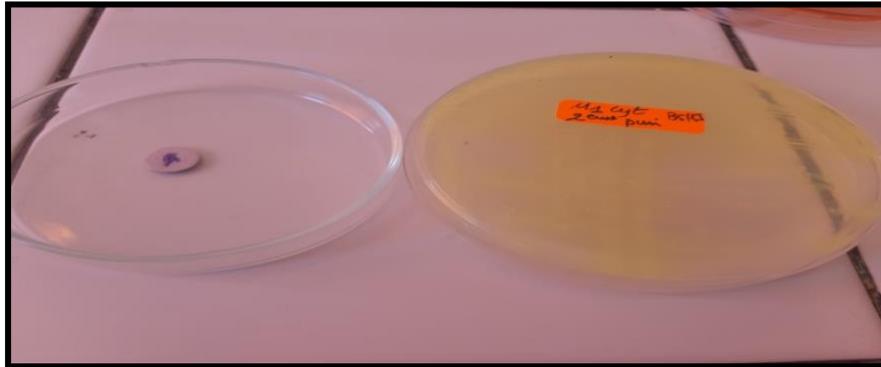
Donne parfois des colonies pigmentées en rouges (**Abdel et Bouaoudj, 2012**) (**Annexe 04** ).

#### 2.2. Identification biochimique :

##### 2.2.1. Test de l'oxydase :

En fonction de l'apparition de la coloration on a :

- *Enterobactéries* → (oxydase négative).
- *Pseudomonas aeruginosa* → (oxydase positive) (**figure 10**).



**Figure 10** : Résultat de test oxydase

### 2.2.2. Test de caogulase

Le test de confirmation de *staphylococcus aureus* (test de coagulation) a permis d'identifier six souches. Le plasma est converti en un gel rigide qui reste en place lorsque le tube est incliné ou inversé, cela veut dire que les souches possèdent une coagulase positive

### 2.2.3. Galeries biochimiques

L'identification bactérienne réalisée par galerie API 20<sup>E</sup> et API 20Stpah nous a permis de mettre en évidence les principaux caractères biochimiques des souches obtenues caractérisant et confirmant ainsi un profil numérique:

## Troisième partie : résultats et discussion

- *Staphylococcus*



Figure 11: Identification de *Staphylococcus epidermedis* galerie Staph).

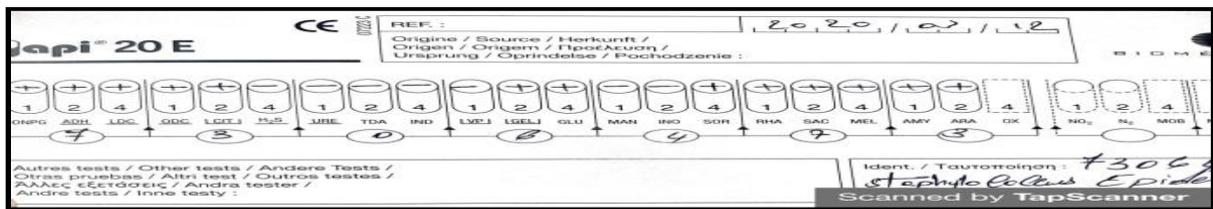


Figure 12: la fiche des résultats standards de la galerie API Staph de *Staphylococcus epidermedis* (Biotype 7306473).

- *Klebsiella pneumoniae* :



Figure 13: identification de *Klebsiella pneumoniae* (galerie Api 20<sup>E</sup>).

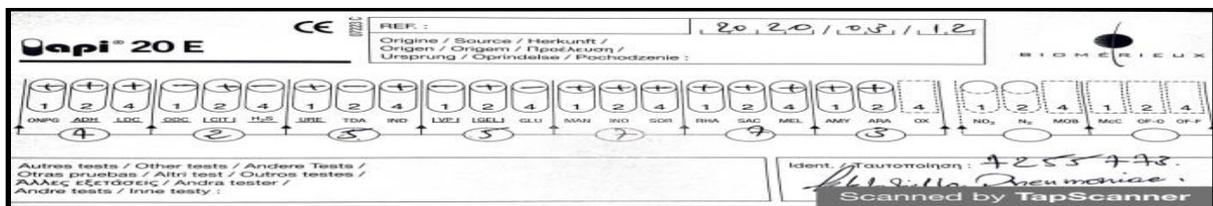


Figure 14: la fiche des résultats standards de la galerie API20E de *Klebsiella pneumoniae* (Biotype 7255773)

## Troisième partie : résultats et discussion

- *E coli* :



Figure 15 : identification de *E coli* (galerie Api 20<sup>E</sup>) .

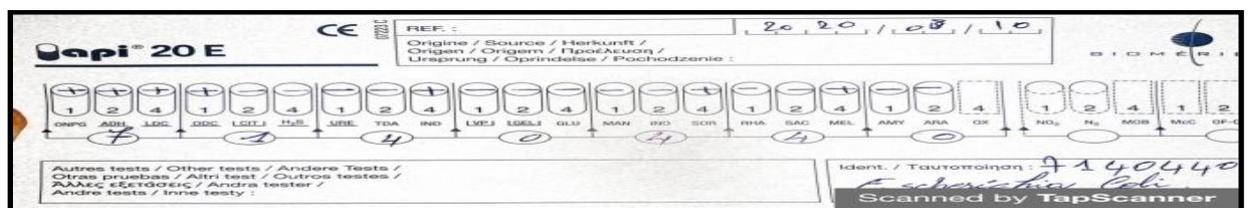


Figure 16: la fiche des résultats standards de la galerie API20E de *E coli* (Biotype7140440)

- *Serratiamarcescens* :



Figure 17 : identification de *Serratia marcescens* (galerie Api 20<sup>E</sup>) .

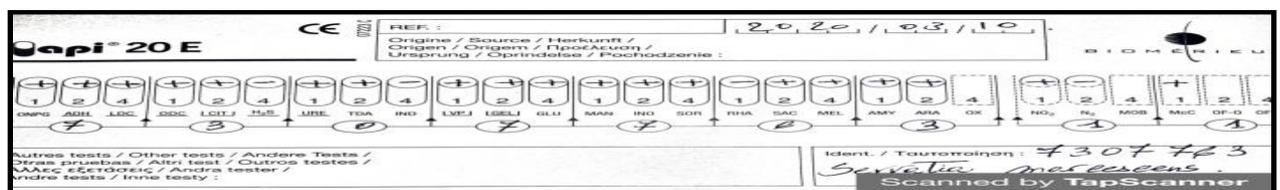


Figure 18: la fiche des résultats standards de la galerie API20E de *Serratia marcescens* (Biotype 7306771)

*Pseudomonas aeruginosa*:

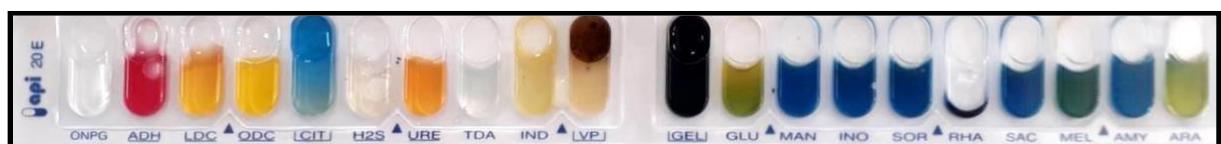


Figure 19: identification de *Pseudomonas aeruginosa* (galerie Api 20<sup>E</sup>) .

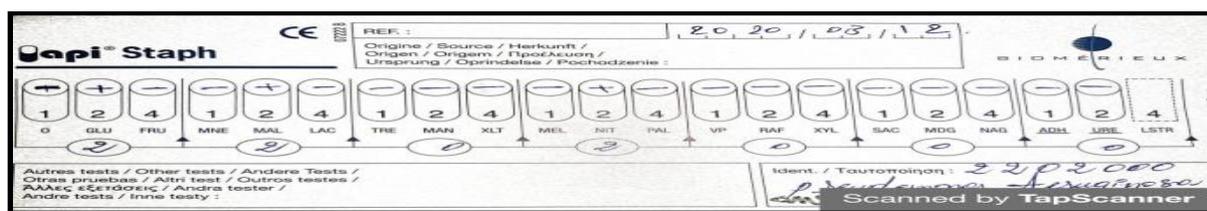


Figure 20: la fiche des résultats standards de la galerie API20E de *Pseudomonas aeruginosa* (Biotype 7306771) .

### 3. Etude de la résistance aux antibiotiques :

Les circonstances actuelles (COVID-19) ont empêché la réalisation de cette deuxième partie expérimentale qui porte sur l'étude de la résistance aux antibiotiques des souches isolées. Ce travail reste préliminaire et mérite d'être reconduit. Pour cela dans cette partie on va essayer de justifier notre choix de cette étude, en discutant les résultats de quelques travaux antécédents.

Exerçant une pression sur les micro-organismes, l'usage abusif des antibiotiques est le principal facteur épidémiologique favorisant l'évolution des bactéries vers la résistance, entraînant fréquemment des échecs thérapeutiques, cette résistance peut être intrinsèque spécifique d'espèce ou de genre ou acquise présente seulement chez certaines, résultante soit d'une mutation dans un gène chromosomique, plasmique soit d'une acquisition d'informations génétiques par conjugaison ou transformation. De nombreuses espèces bactériennes ont développé des mécanismes de résistance (l'inactivation enzymatique, la diminution de la perméabilité membranaire des bactéries à Gram négatif, la modification du site d'action et l'augmentation de l'efflux actif) à plusieurs classes d'antibiotiques (**Dumitrescu et al., 2010**).

Ne seront analysées ici que les principales espèces bactériennes, notamment celles le plus fréquemment rencontrées dans les infections des plaies diabétiques.

*Staphylococcus*, un des micro-organismes pathogènes les plus résistants, qui a su développer des résistances à chaque nouvel antibiotique introduit depuis un demi-siècle. Plus de 90 % des souches produisent une pénicillinase, une enzyme capable d'hydrolyser le cycle  $\beta$ -lactame des pénicillines et les rend inactives (**Ghernaout, 2013**). Cette résistance naturelle atteint le 100% dans les études les plus récentes (**Barika et boussaidi, 2019**), et était s'allongée même aux cephalosporines, carbapénème et monobactème (**Alioua, 2015**). L'oxacilline reste active contre ces souches. Des autres études ont montrées que ces germes ont développé une résistance

### Troisième partie : résultats et discussion

---

croisée entre les pénicillines M (mécicilline, oxacilline) et les autres  $\beta$ -lactamines (**Dumitrescu et al ., 2010**) par la production d'une protéine, la PLP2a ayant une faible affinité pour ces composés, il s'agit des SARM (*Staphylococcus aureus* Résistant à la Méthicilline) (**Ghernaout, 2013**). En parlant de la sensibilité de ses souches, aucune résistance n'a été observée pour la Gentamicine, la Vancomycine et le Chloramphénicol, (**Pan Afr,2016**), par contre une étude de 2018 identifie trois souches multi résistantes apparues ces dernières décennies en milieu hospitalier et qui se sont depuis largement répandues à travers le monde. Ces souches sont résistantes à la [rifampicine](#) par acquisition de mutations et pourraient limiter l'efficacité de la [vancomycine](#) et la [teicoplanine](#) (antibiotiques de dernière ligne de défense) (**jean,2018**). Contrairement au fluoroquinilones, acide fusidique qui garde une bonne influence ainsi que spiramycine lincomycine et l'érythromycine, donc on peut les constituer comme une alternative pour le traitement. (**Al Benwan ,2012**) (**Annexe 05**).

*Escherichia coli* est comme toutes les entérobactéries présentes une résistance naturelle aux glycopeptides et à la pénicilline G (**Belguedj et Amouche ,2018**). ce qui était déjà observé dans l'étude de Aich au Maroc, où les souches isolées présentaient un taux élevé de résistance atteint 92% et 82% contre aminopénicilline et amoxicilline acide clavulanique. la résistance concerne également la ciprofloxacine, la norfloxacine, les céphalosporines de 3ème génération, gentamycine avec des taux respectifs de 55%,53%,55%,43% (**Aich,2017**) (**Annexe 05**). Ces germes appartiennent au groupe 1 des Entérobactéries qui sont naturellement sensibles à l'ensemble des bêta-lactamines malgré la production d'une céphalosporinase chromosomique non inductible de type AmpC qui peut entraîner chez certaines souches une réduction de la sensibilité aux aminopénicillines, à leurs associations au clavulanate et/ou au C1G (**Saidani, 2012**). Dans les différentes études, la quasi totalité de ces souches était sensible à l'imipénème et à l'amikacine. la colistine était toujours l'antibiotique le plus actif malgré qu'en 2016 un nouveau variant a été détecté aux États-Unis, résistant à la [colistine](#) [( **Aich,2017**) ; (**Belguedj et Amouche ,2018**).].

Le genre *Klebsiella* est naturellement sécréteur d'une Pénicillinase chromosomique de bas niveau ce qui le rend naturellement résistant aux Pénicillines A (Amoxicilline) et aux Carboxypénicillines et Uréidopénicillines (Ticarcilline, Pipéracilline) (**Courvalin et al., 2006**). Ce qui a été déjà confirmé par une étude faite au Maroc en 2017 où 81% des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées étaient résistantes à l'amoxicilline acide clavulanique (**Aich ,2017**). Des souches de *K. pneumoniae* qui en plus des résistances aux antibiotiques

## Troisième partie : résultats et discussion

---

précédemment citées, résistaient aux céphalosporines de seconde et troisième générations, Ces  $\beta$ -lactamases à spectre étendu sont apparues après mutations ponctuelles successives dans les gènes codant des pénicillinases (**Paterson et Bonomo, 2005**), En revanche la sensibilité à certaines antibiotiques étaient toujours présentes chez les différents études , une quasi totalité des souches isolées était sensibles à l'amikacine (95%) et la totalité étaient sensibles à l'imipénème ainsi la colistine [(**abdelmalek et lazzer,2016**) ; (**Aich ,2017**)] (**Annexe 05**).

**S. marcescens** est naturellement résistant à l'amoxicilline, à amoxicilline-clavulanate, à la céfalotine au céfamandole , aux macrolides , aux glycopeptides, à la clindamycine ,aux polymyxines, aux aminopénicillines et aux céphalosporines de première et de deuxième génération par production d'une beta- lactamase chromosomique de classe C inductible AmpC. Cette bactérie a montré également une résistance acquise aux aminosides et aux quinolones surtout par la production d'enzymes (**da Silva et al., 2015**).Les souches sauvages présentent une résistance de niveau intermédiaire à la céfoxitine mais restent sensibles à la ticarcilline, à ticarcilline-clavulanate et à la pipéracilline. (**Hejazi, 1997** ),Ce Qui a été déjà montré par une étude fait en 2016 ou l'antibiogramme des souches de *S. marcescens*, a montré des niveaux de résistances très élevés aux amoxicilline acide clavulanique et colistine .la résistance à la ciprofloxacine et l'amikacine était de 25 %,20 % étaient résistant al'imipénème et la gentamycine. Aucune résistance vis-à-vis de céfotaxime, ticarcilline, chloramphénicol n'a été retrouvé (**abdelmalek et lazzer,2016**) (**Annexe 05**).

**Pseudomonas aeruginosa** est naturellement résistant à un grand nombre d'antibiotiques en raison de la production d'une beta-lactamase chromosomique inductible de classe C qui n'est pas inhibée par le clavulanate et qui hydrolyse préférentiellement les céphalosporines de première génération, et d'une mauvaise perméabilité membranaire. Pour la famille des beta-lactamines, les molécules qui restent actives sont la ticarcilline, la pipéracilline, la cefsulodine, l'association ticarcilline + clavulanate, la ceftazidime, l'aztréonam et l'imipénème , **P.**

**aeruginosa** est également généralement résistant à la kanamycine (**Hejazi, 1997**). Les pourcentages ont été décrit dans plusieurs études l'une d'elles l'étude de Memdouh et Reddaf en 2018 ou les Isolats e se sont révélés résistants à de nombreux antibiotiques : 26.90% à la ticarcilline, 25% à la piperacilline et 21.70 % à la ceftazidime. De plus, 20.83 % sont résistants à l'imipénème (**Memdouh et Reddaf ,2018**)(**Annexe 05**).

# **Conclusion**

Les infections du pied diabétique restent un facteur de risque redoutable du diabète.

L'antibiothérapie est l'un des procédés clés de la prise en charge, elle nécessite une documentation précise de l'infection via des prélèvements bactériologiques.

Dans notre étude, les infections du pied diabétique étaient dominées par les bactéries à gram négative avec un pourcentage de (64.7%), les espèces les plus fréquemment isolées étaient *Staphylococcus aureus* (35.20%) suivie par *Pseudomonas aeruginosa* (29.40%).

À la lumière des résultats obtenus par l'étude de l'antibiorésistance des souches isolées de pieds diabétiques, on a constaté une résistance accrue de la majorité des souches isolées. L'utilisation extensive et fréquemment abusive des antibiotiques couplée à un déséquilibre de l'hygiène hospitalière sont la cause majeure de cette résistance.

La lutte contre ce phénomène nécessite une approche multidisciplinaire, le respect strict des mesures d'hygiène, la rationalisation de la prescription des antibiotiques afin de choisir les stratégies thérapeutiques adaptées aux données épidémiologiques.

## **Références bibliographiques**

### A

- **Abdel, H. et Bouaoudj, A.** (2012). Isolement et identification des souches d'entérobactéries et mise en évidence de leur résistance aux antibiotiques au niveau de l'hôpital de Mila. Mémoire master : Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des Microorganismes. Constantine : Université Mentouri Constantine, 5-8 p.
- **Abdelmalek, A. et Lezzar, A.** (2016). Les bactéries du groupe Klebsiella, Enterobacter, Serratia responsables des bactériémies au CHU de Constantine et leurs profils de résistances aux antibiotiques. Mémoire master : Ecologie Microbienne. Constantine : Université Mentouri Constantine.
- **Aich, F.** (2017). Infection du pied diabétique : aspects bactériologiques et résistance aux antibiotiques . Mémoire master : biologie médicale. Maroc : Université Sidi Mohammed Ben Abdellah..
- **Al Benwan K, Al Mulla A, Rotimi VO.** A study of the microbiology of diabetic foot infections in a teaching hospital in Kuwait. Journal of infection and public health. 2012;5(1):1-8.
- **Allen SD.** (2003). Clostridium. Manual of clinical microbiology. 8 ed .p. 835-856.

### B

- **Barika, N. et Boussaidi, D.** (2019). Etude de la résistance aux antibiotiques des bactéries isolées à partir des plaies chirurgicales infectées. mémoire master : Biotechnologie Microbienne. Boumerdes : Université M'hamed Bougara
- **Belbel Z.** (2014). Evaluation de la résistance aux antibiotiques des souches de Klebsiella pneumoniae isolées dans les hôpitaux de la ville d'Annaba. [En ligne]. Thèse de doctorat en microbiologie. Université Badji Mokhtar Annaba. p4.
- **Belguedj, N. et Amouche, O.** (2018). Etude phénotypique des souches d'Escherichia coli multi résistantes aux antibiotiques responsables des infections urinaire. mémoire master : Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des Microorganismes. Constantine : Université Mentouri Constantine
- **Benbernou Hosni, Y.** (2019). Contribution à l'étude comparative du bilan biologique chez la femme diabétique de type 2 avant et après la ménopause. Mémoire master : biochimie appliquée. Mostaganem : Université Abdelhamid Ibn Badis.
- **Benhamed, W.** (2018). [Pied diabétique : 200.000 cas risquent l'amputation](#) [reportage]. Dans el moudjahed, Algérie : société el moudjahid.
- **Bernard.** (2007). Prise en charge du pied diabétique infecté. Texte court.. Médecine et Maladies Infectieuses, 37(1), 1–13. doi:10.1016/j.medmal.2006.09.002.

- **Bourgeois,M.**(2003). Le pied diabétique .Thèse de doctorat : paramédical. Bruxelles : Haut école libre de Bruxelles - Ilya Prigogine.
- **Bouvet A.** (2013). Cours bactériologie médicale streptocoques-entérocoque.

### C

- **Chikhani N.** (2012). Klebsiellapneumoniae pathogène nosocomial résistance et virulence. [En ligne]. Thèse de doctorat en microbiologie. Université de Louis et Marie Curis.p.9.
- Cooper, R.A. « Comprendre l'infection des plaies », in Européen Wound Management Association (EWMA), L'identification des critères d'infection des plaies, Londres, MEP Ltd, 2005, p. 2-5. [Enligne:[http://ewma.org/fileadmin/user\\_upload/EWMA.org/Position\\_documents\\_2002-2008/French\\_pos\\_doc\\_final.pdf](http://ewma.org/fileadmin/user_upload/EWMA.org/Position_documents_2002-2008/French_pos_doc_final.pdf)]
- **Couderc,C.**(2015).impact des antibiotiques sur l'histoire naturelle de la colonisation nasale par staphylococcies aureus .thèse de doctorat :épidémiologie .France :université pierre et marie curie .
- **Courvalin, P., Leclercq, R., Bingen, E.** (2006). Antibiogramme. 2, 142-162, 227-246, 263-277.

### D

- **Da Silva, KE.,Cayo, R., Carvalhaes, CG., Correa de Sacchi, FP., Rodrigues-Costa, F., da Silva, AC., ... Simionatto, S.** (2015). Co-production of KPC-2 and IMP-10 in carbapenem resistant *Serratiamarcescens* isolated from an outbreak in a Brazilian teaching hospital. *J ClinMicrobiol*
- **David, C., &Boinet, T.** (2018). Diabète de type 2 non équilibré et haut risque cardiovasculaire. *Actualités Pharmaceutiques*, 57(573), 14–17. doi:10.1016/j.actpha.2017.11.022.
- **Dumitrescu, O., Dauwalder, O., Boisset, S., Reverdy, M.-É., Tristan, A., &Vandenesch, F.** (2010). Résistance aux antibiotiques chez *Staphylococcus aureus*. *Médecine/sciences*, 26(11), 943–949. doi:10.1051/medsci/20102611943 .
- **Dupard A.** (2016). Prévention et prise en charge des plaies de pieds des patients diabétiques de type 2 par les médecins généralistes de Béarn et Soule [En ligne]. Thèse de doctorat en médecine. Université de Bordeaux U.F.R des sciences médicales France.

- **Durgad S, Koticha A, Nataraj G, Deshpande A, Mehta P.** Diabetic foot ulcers—where do we stand microbiologically? *International Journal of Diabetes in Developing Countries*. 2014; 34(3):169-173.

### E

- **El-Anzi O.** (2014). Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches de staphylococcus aureus isolées au centre hospitalière Ibn sina de Rabat. [En ligne]. Thèse de doctorat en médecine. Université de Mohamed v Souissi faculté de médecine et de pharmacie-Rabat.p.5.
- **Euzéby JP.** (2003). Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire. Serratia.

### F

- **Fauchère JL, Avril JL.** (2002). Bactériologie générale et médicale. Ellipses Edition Marketing. Paris.p.250-260.
- **Francis G.** (2005). Étude de la pathogénèse des infections à Escherichia coli de type attachant et effaçant chez le porc. [En ligne]. Thèse de doctorat en microbiologie. Département de pathologie et microbiologie Faculté de médecine vétérinaire. P.6.
- **Fromantin, I., Rollot, F., Cheron, M., Nicodème, M., &Kriegel, I.** (2017). Biofilm et plaies. *Revue Francophone de Cicatrisation*, 1(2), 10–12. doi:10.1016/s2468-9114(17)30341-9 .

### G

- **Ghernout S.** (2013). Prévalence du portage nasal de Staphylococcus aureus : son rôle dans l'infection de site opératoire .Thèse de doctorat en science médicale .Tlemcen : université Abou bekrBelkaid. 15- 68 Pp.
- **Guillaume PY.** (2004). Les tests enzymatiques, antibiotiques et immunologiques [En ligne].
- **Guira O, Tiémo H, Traoré S, Diallo L, Ouangré E, Sagna Y, Zabsonré J, Yanago D, Traoré SS, DraboYJ.** (2015). La microflore bactérienne de l'infection du pied diabétique et les facteurs déterminant son spectre à Ouagadougou (Burkina-Faso). 108(5) :307-11 doi : 10.1007/s13149-015-0442-

### H

- **Ha Van G.** (2008).Conduite à tenir face à une plaie du pied chez un diabétique : Management of diabetic foot ulcer. *La revue de médecine interne*. 29(2008) S238-S242.
- **Ha Van, G., &Hartemann, A.** (2016). Le Consensus international sur le pied diabétique 2015 : les points forts. *Médecine Des Maladies Métaboliques*, 10(6), 510–514. doi:10.1016/s1957-2557(16)30163-8.

- **Hajj, A., Khabbaz, L., Mourad, C., & Maroun, C.** (2018). Individualisation du traitement des patients diabétiques. *Kinésithérapie, La Revue*, 18(195), 28–36. doi:10.1016/j.kine.2017.11.011.
- **Hammami, M., Lahiani, D., Guemri, B., Maalej, M., Elleuch, E., Hammami, B., & Ben Jemaa, M.** (2015). Les infections du pied diabétique : étude de 136 cas. *Annales d'Endocrinologie*, 76(4), 552. doi:10.1016/j.ando.2015.07.852.
- **Hejazi A. Falkiner FR. Serratiamarcescens**[review]. *Journal of Medical Microbiology* ., pages 903-912, 1997 Nov.

### I

- **International Working Group on the Diabetic foot.** Recommandations pratiques quant à la prise en charge et la prévention du pied diabétique. Basées sur le Consensus International sur le Pied Diabétique. 2011

### J

- **Jadid L.** Aspects microbiologiques des prélèvements au cours des infections du pied diabétique: Etude rétrospective sur cinq ans à l'HMIMV (2009-2014). Faculté de médecine et de pharmacie-Rabat, Université Mohammed V Souses; 2015.
- **Jauréguy, Françoise** ; Déterminants cliniques et bactériens au cours des infections extra-intestinales dues à Escherichia coli , *Med Sci (Paris)*, 2009, Vol. 25, N° 3; p. 221-223 ; DOI : 10.1051/medsci/2009253221
- **Jean Y. H. Lee, Ian R. Monk, Anders Gonçalves da Silva, Torsten Seemann, Kyra Y. L. Chua, Angela Kearns, Robert Hill, Neil Woodford, Mette D. Bartels, Birgit Strommenger, Frederic Laurent, Magali Dodémont, Ariane Deplano, Robin Patel, Anders R. Larsen, Tony M. Korman, Timothy P. Stinear et Benjamin P. Howden**, « Global spread of three multidrug-resistant lineages of *Staphylococcus epidermidis* », *Nature Microbiology*, 2018 ([PMID 30177740](#), [DOI 10.1038/s41564-018-0230-7](#))
- **Joulie, S.** (2016). Diagnostic d'infection de plaie chronique chez le patient non diabétique : Etude observationnelle descriptive des pratiques professionnelles des médecins généralistes en Midi Pyrénées par questionnaire auto administré .Thèse de doctorat : Médecine générale .France : Université Toulouse III – Paul Sabatier.

### K

- **Khayar, Y.** (2011). Comportement des entérobactéries isolées des urines vis-à-vis de l'Amoxicilline – acide Clavulanique imipenème et Ertapenem. Thèse de doctorat : Pharmacie.RABAT : Université Mohammed V, 15 p.
- **Khenouchi, R. Hamlaoui, N. Beghidja, H.** (2013). Les bactéries isolées au centre des brûlés de CHU de Constantine : résistance aux antibiotiques. Thèse pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie.

### L

- **L. Toutous Trellu.**(2015).Suri nfection de plaie chronique.
- **Lamnaouer D.** (2002). Détermination des propriétés biologiques (activités pharmacologiques et toxicologiques) des plantes médicinales et aromatiques du PNT. Programme de l'UICN en Afrique du Nord: Phase III. Etat d'avancement. p. 3-7.
- **Larry M, Bush MD.** (2018). Infections par Acinetobacter.
- **Lipsky BA, Berendt AR, Cornia PB, Pile JC, Peters EJ, Armstrong DG, Deery HG, Embil JM, Joseph WS, Karchmer AW, Pinzur MS, Senneville.** (2013). Société américaine des maladies infectieuses ligne directrice de pratique clinique pour le diagnostic et le traitement des infections du pied diabétique. J Am Podiatr Med Assoc.2013 Janvier-Février. [Pub Med] ; 103(1) : 2-7.
- **Lushiku, E.B.** (2006). Le pied diabétique .Revu Med Brux ; 27 : S 315-23.

### M

- **Mahrouki S, Ben–Achour N, Chouchani C, Ben–Moussa M., Belhadj O.** (2009). Identification of plasmid-encoded extended spectrum  $\beta$ -lactamases produced by a clinical strain of *Proteus mirabilis*. Pathologie Biologie. 57: 55-59.
- **Marie-Françoise Mégie et Annie-Claude Labbé.** (2018). Quand la plaie s'infecte [en ligne].50(3) :47-52.
- **Martineau,L..et Diane St-Cyr.**(2017). L'ulcère du pied diabétique[en ligne].10(2) :38-48.Association des infirmières et infirmiers autorisés de l'Ontario (AIIAO). Lignes directrices sur les pratiques exemplaires : Évaluation et traitement des plaies du pied chez les personnes diabétiques (2e éd.), mars 2013, 156 p.
- **Martini,J.etSenneville,E.**(2018).journées nationales du DTSd'endocrinologie.diabète et maladies métabolique[en ligne].9(92) :96-102.
- **MASSON, Raphaël, et al.** Infection de plaies chroniques : particularités chez la personne âgée. Revue médicale suisse, 2017, vol. 13, no. 582, p. 1938-1944.

- **Mathieu J.** (2014). Evaluation de l'apport d'un réseau dans la prévention du pied diabétique : bilan de l'action « Pied diabétique ». [En ligne]. Thèse de doctorat en médecine. Université de Lorraine Faculté de Médecine de Nancy. P.30.
- **Memdouh, S. et Reddaf, N.** (2018). Les infections à *Pseudomonas aeruginosa* au CHU de Constantine. Mémoire. Master : Microbiologie et Hygiène Hospitalière. Constantine : Université Mentouri Constantine.
- **Mendaci, A. et Mihoubi, S.** (2015). Profil de sensibilité aux antibiotiques des Entérobactéries Uropathogènes (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella Pneumoniae*). Mémoire de master : Microbiologie Générale et biologie Moléculaire des microorganismes. Constantine : Université des Frères Mentouri, 23-25-26-27-28-29p.
- **Mezhoud, R. et 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). Mémoire master : Microbiologie. Constantine : Université Mentouri Constantine.
- **Minchella A. et al.** Evolution de la résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* dans un centre hospitalier universitaire entre 2002 et 2006. *Phatologie Biologie*. 2010 ;58 :1-6.
- **Miszczycha S.** (2013). Croissance et survie des *Escherichia coli* producteurs de Shiga Toxines (STEC) en fonction des technologies fromagères mettant en oeuvre du lait cru. [En ligne]. Thèse de doctorat en Physiologie et génétique moléculaires. Université Blaise Pascal de Clermont-Ferrand. P.26.
- **Morgane Faure.** Diabète de type I : place du pharmacien d'officine. Sciences pharmaceutiques. 2019. ([dumas-02307909](#))
- **Mwepuwayumba Jean-Baptiste.** (2019). Fréquence du diabète sucré. Thèse de doctorat en médecine. Congo : Université de Lubumbashi.

### N

- **Naouli, H.** (2018). LE PROFIL BACTERIOLOGIQUE DU PIED DIABETIQUE. Mémoire Master : Chirurgie Vasculaire. Maroc : université sidi Mohamed benabdellah .

### O

- **O'donoghe M, Fenny A, Sleayor R.** (2012). Virulence: *Acinetobacter baumannii* an emerging opportunistic pathogen.

**P**

- **Pan Afr, M, J.** (2016). Sensibilité aux antibiotiques des souches staphylococcus aureus communautaires dans la région de Nouakchott (Mauritanie)[en ligne].
- **Pantel, A.** (2015). Multi résistance des entérobactéries aux antibiotiques, Modulation de l'influx et de l'efflux membranaires chez Escherichia coli ST131. Thèse de doctorat. Université de Montpellier .244 p.par Pseudomonas aeruginosa .Rev Med Suisse 2015 ; 11 : 768-72
- **Paterson, D, L., Bonomo, R, A.** (2005). Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. Clin. Microbiol. Rev. 18, 657-686

**R**

- **Rahal k** (Institut Pasteur d'Algérie-Alger). (2014). Standarisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale (Médecine Humaine et vétérinaire) 7ème édition [En ligne].
- **Richard JL, Lavigne JP, Got I, et al.** Management of patients hospitalized for diabetic foot infection: results of the French OPIDIA study. Diabetes & metabolism. Jun 2011;37(3):208-215.
- **Richard, J.-L., &Schuldiner, S.** (2008). Épidémiologie du pied diabétique. La Revue de Médecine Interne, 29, S222–S230. doi:10.1016/s0248-8663(08)73949-3
- **Ripsin CM, Kang H, Urban RJ.** 2009. Management of blood glucose in type 2 diabetes mellitus. Am. Phamily Physician, 79(1): 29-36.
- **Robert C.** (2007). Bactériémies à Clostridium spp. signification clinique. Analyse rétrospective de 41 cas dont trois cas de bactériémies à Clostridium orbiscindens. Thèse de Médecine. Faculté de médecine. Université Henri Poincaré, Nancy 1.
- **Rossignol Gaëlle.,** 2007. Contribution à l'étude de facteurs de virulence d'une souche hospitalière de Pseudomonas fluorescens : Activité hémolytique et variation phénotypique. Thèse de doctorat. P : 7

**S**

- **Saidani, M.** (2012-2013). Epidémiologie des pyélonéphrites et prostatites communautaires :Les traitements probabilistes recommandés sont-ils toujours adaptés ? . Thèse de doctorat.Université Paris Diderot. France.
- **SekhriArafa N.** (2011). Fréquence et marqueurs épidémiologiques de Klebsiellapneumoniae dans les services à haut risque infectieux au niveau du CHU Benbadis de Constantine. Thèse de doctorats en sciences. Université Mentouri de Constantine, Algérie. P.5.
- **Skander et al.** (2014).Les bio films bactériens : leur importance en santé animale et en santé publique.French. 78(2): 110–116.

### T

- **Tan-Chen, S., Bourron, O., & Hajduch, É.** (2020). Céramides, acteurs cruciaux dans le développement de l'insulino-résistance et du diabète de type 2. *Médecine/sciences*, 36(5), 497–503. doi:10.1051/medsci/2020091 ; 24: 276.
- **Turhan V, Mutluoglu M, Acar A, et al.** Increasing incidence of Gram-negative organisms in bacterial agents isolated from diabetic foot ulcers. *Journal of infection in developing countries*. 2013;7(10):707-712.

### U

- **Uçkay I, Gariani K, Pataky Z, Lipsky BA.** Diabetic foot infections: state of-the-art. *Diabetes ObesMetab*. 2014 Apr.;16(4):305-16
- **Uçkay I, Mugnai D, Assal M.** Traitement de pied diabétique infecté :une approche multidisciplinaire par excellence .*Rev Med Suisse* 2011 ; 7 : 894-7

### V

- **Valour, F.** (2017). Diagnostic de l'infection d'une plaie chronique et principes de traitement. *Revue francophone de cicatrisation*, 8(2), 15-22.
- Varnado, M. « Lower extremity neuropathic disease », in *Wound, Ostomy and Continence Nurses Society®*, D.B. Doughty et L.L. McNichol (ss la dir. de), *Core Curriculum Wound Management*, Riverwoods (IL), Wolters Kluwer/Wound, Ostomy, Continence Nurses Society, 2015, p. 466-507.

### W

- **Wafi, S.** (2018). épidémiologie et résistances aux antibiotiques des isolats cliniques d'acinetobacter boumanni a l'hopital militaire Moulay Ismail Meknès these de doctorat :médecine générale .Maroc :université de sidi Mohamed ben Abdallah .

### Z

- **Z. Benjemaa et F. Mahjoubi et Y. ben HajH'mida et N. Hammami et M. Ben Ayed et A., Hammami.** (1998). Profil bactériologique des bactériémies et sensibilité aux Antibiotiques des bactéries en cause dans la région de Sfax. Reçu le 13 Janvier 2003 : accepté le 25 avril 2003. 28-88. 84 p.

# **Annexe**

## Annexe N°1: composition des milieux de cultures

### Gélose Nutritive g/l

Extrait de viande .....	3g
Gélatine peptone.....	5g
Agar .....	15g

### Gélose Mac Conkey :

Peptone de caséine.....	17g
Peptone de viande.....	03g
Sels biliaires.....	1.5g
Cristal violet.....	0,001g
Lactose.....	10g
Rouge neutre.....	0,03g
Chlorure desodium.....	05g
Ag.....	13g
ZnSO4.....	0,07g

### Gélose Chapman g/l

Poudre de laboratoire-lemco.....	1g
Peptone .....	10g
Mannitol.....	10g
Chlorure de sodium.....	75g
Rouge de phénol.....	0.025g
Agar.....	15g

### Gélose Cétrimide

Peptone de gélatine. ....	16.0 g
Peptone de caséine. ....	10.0 g
Bromure de tétradonium (cétrimide). ....	0.2 g
Acide nalidixique.....	15.0 mg
Sulfate de potassium.....	10.0 g
Chlorure de magnésium. ....	1.4 g
Agar.....	10.0 g

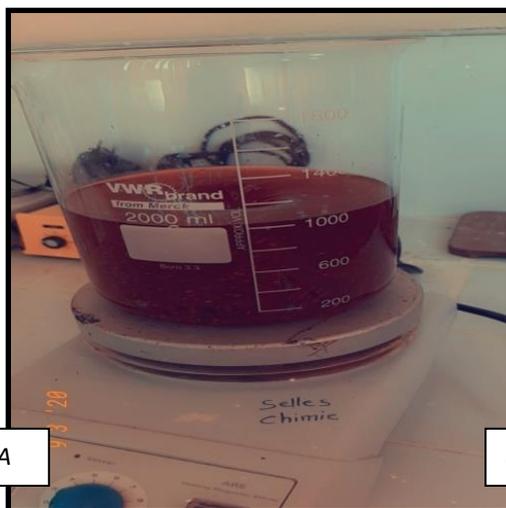
**Bouillon Nutritive g/l**

Solides d'infusion de cerveau .....	125g
Solides d'infusion de coeur de boeuf.....	5g
Protéasepeptone .....	10g
Glucose.....	2g
Chlorure de sodium.....	5g
Phosphate disodique.....	2.5g

**Milieu Muller-Hinton g/l**

Amidon.....	1.5g
Infusion de viande .....	2g
Hydrolysate de peptone de caséine .....	17.5g
Agar .....	17g

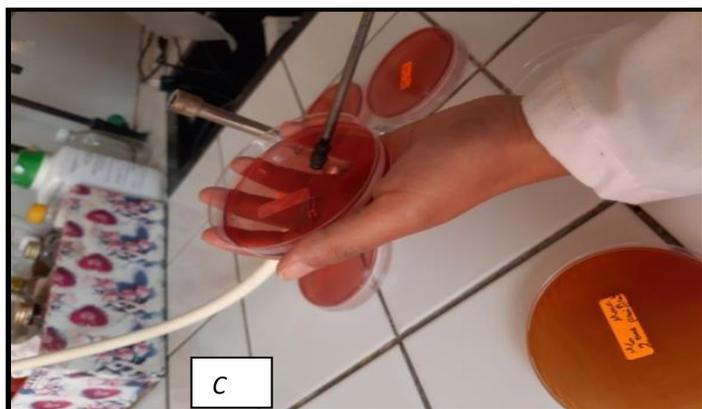
## Annexe N°2:Ensemencement et isolement



A



B



C

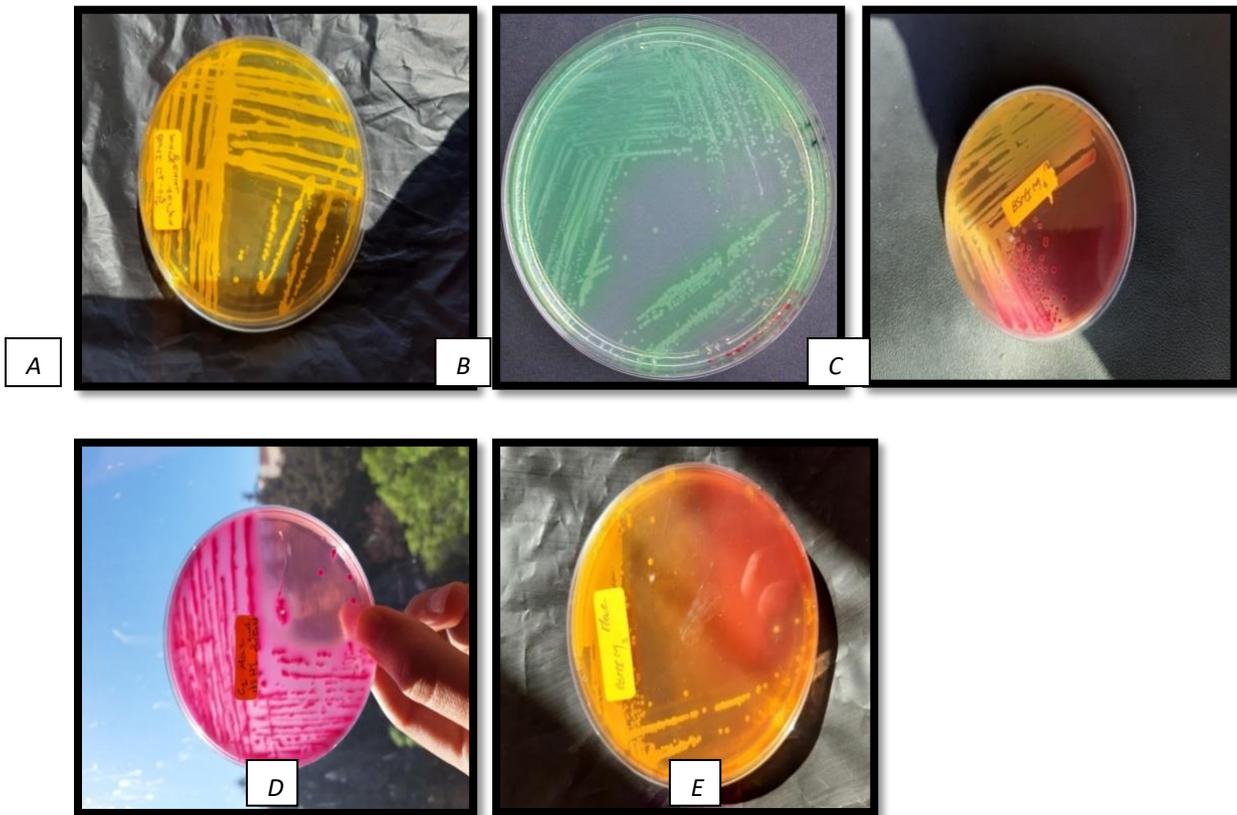
A : préparation des milieux de cultures B :écoulement des milieux de cultures

C :ensemencement des milieux de culture De culture dans les boîtes pétris

### Annexe N°3: Lecture de la galerie api 20 E

TABLEAU DE LECTURE DE LA GALERIE MINIATURISÉE API 20E						
Microtube	Substrat :	Caractère recherché	Révélateur	Lecture directe ou indirecte Test (si nécessaire)	Résultat -	Résultat +
ONPG	ONPG = Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	Béta galactosidase		Lecture directe		
ADH LDC ODC	Arginine Lysine Ornithine	Arginine Dihydrolase Lysine Décarboxylase Ornithine Décarboxylase	Rouge de phénol	Lecture directe		
[CIT]	Citrate	Utilisation du citrate	BBT	Lecture directe		
H <sub>2</sub> S	Thiosulfate de sodium	Production d'H <sub>2</sub> S	Fe III	Lecture directe		
URÉ	Urée	Uréase	Rouge de Phénol	Lecture directe		 
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase		Lecture indirecte		 
IND	Tryptophane	Tryptophanase ou production d'indole		Lecture indirecte	 	 
[VP]	Pyruvate de sodium	production d'acétoïne (3-hydroxybutanone)		Lecture indirecte		 
[GEL]	Gélatine	gélatinase	Particules de charbon	Lecture directe		
GLU à ARA = zymogramme	Substrat carboné (glucide)	Utilisation de substrats carbonés (glucides)	BBT	Lecture directe		
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> /N <sub>2</sub>	Nitrates (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	Nitrate réductase		Lecture indirecte		

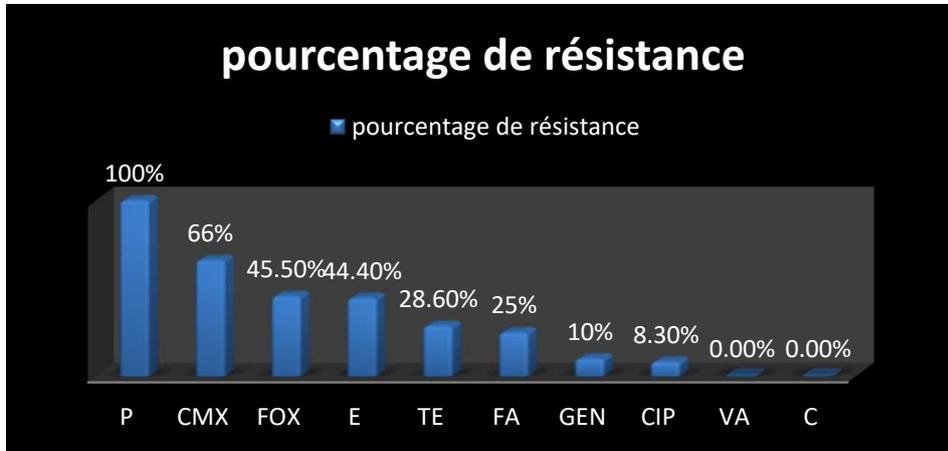
**Annexe N°4:** Aspect des colonies de certaines souches isolées sur les différents milieux gélosés



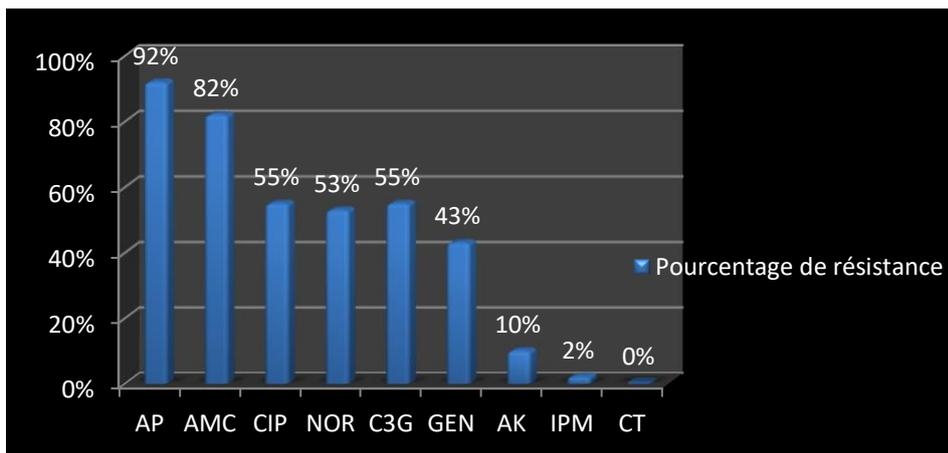
**A** : *Staphylococcus aureus* **B** : *P. aeruginosa* **C** : *Klebsiella pneumoniae* **D** : *E. coli*

**E** : *Serratia marcescens*

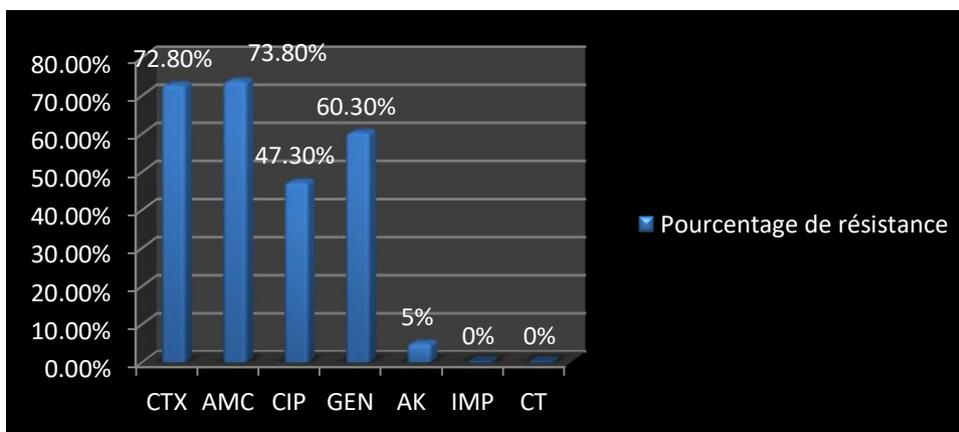
Annexe N°5: profil de résistances des bactéries isolées



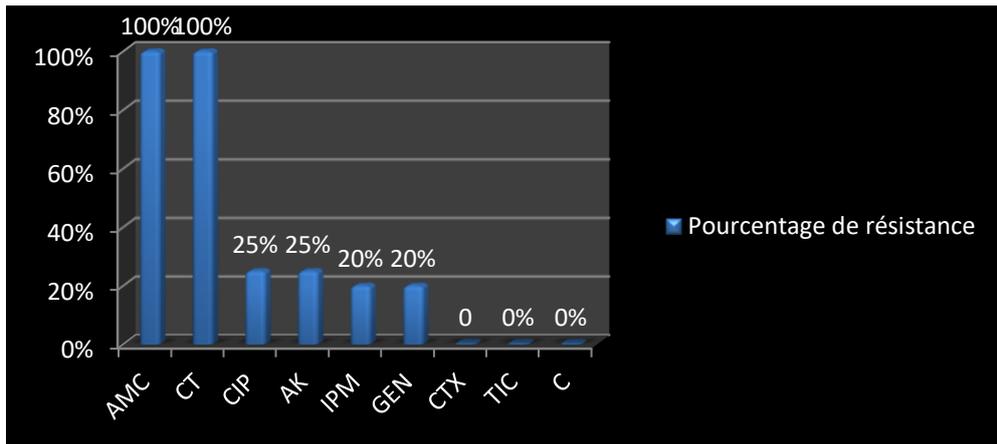
Profil de résistance des *Staphylooccus aureus*( *Barika et baouusaidi ,2019*)



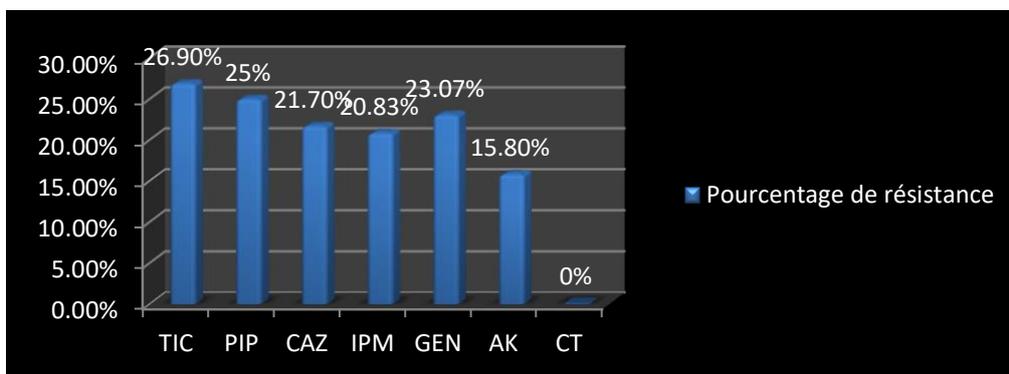
Profil de résistance d'*E.coli*(*Aich,2017*).



Profil de résistance de *Klebsiella pneumoniae*(*abdelmalek et lazzer,2016*)



Profil de résistance de *Serratia marcescens*(**abdelmalek et lazzer,2016**)



Profil de résistance de *pseudomonas aeruginosa*(**Memdough et Reddaf , 2018**).