REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSIEGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE DE MEDEA
FACULTE DES SCIENCES

Mémoire

Pour l'obtention du diplôme de **Master**

En sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

Par :
Benaouda widad
Guetiteni badia

Thème :

Identification et isolement des bactéries responsables des infections suppuratives au niveau de l'EPH de Médéa

Soutenue le 02 / 07 / 2025, devant le jury composé de :

Dr, Abes Rachida	**MCA**	U. Médéa	Présidente
Dr, Akloul Kamel	**MCB**	U. Blida	Examinateur
Dr, Bourahla Amel	**Médecin**	EPH. Médéa	Promotrice
Dr, Rahal Mohamed	**MCA**	U. Médéa	Co-promoteur

Année universitaire : 2024/2025

Remerciements

Avant tout, nous exprimons notre gratitude à Allah, le Tout- Puissant, le Clément et le Miséricordieux, qui nous a donné la santé, la force, la patience et la persévérance indispensables pour accomplir cette tâche. Sans Sa volonté, rien n'aurait pu être accompli.

Nous souhaitons exprimer notre profonde gratitude envers notre promotrice, Dr Bourahla Amel, pour son encadrement précieux, sa disponibilité constante, ses judicieux conseils et son soutien continu durant l'élaboration de ce mémoire.

Nous tenons également à remercier notre co-promoteur, le Dr Rahal Mohamed, pour sa collaboration, ses orientations de valeur et son suivi attentif, qui ont été d'une grande aide tout au long de notre projet de recherche.

Qu'Allah accorde sa récompense à tous ceux qui, de près ou de loin, nous ont aidés dans la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce travail à ma mère Ratiba, que Dieu accueille dans Sa miséricorde. Que son âme repose en paix et que son souvenir éclaire chacune de mes démarches, ses prières ma protège pour toute ma vie, merci maman et je t'aime.

Je l'offre aussi à mon père Hacene, pilier de ma vie, pour son amour constant, ses conseils précieux, ses sacrifices silencieux et ses efforts incessants pour un avenir meilleur pour nous.

Je pense à ma sœur Batoul, mon alliée, dont la présence réconfortante m'a accompagnée dans les moments de doute comme dans les instants de joie.

Je dédie une pensée particulière à ma copine Sara : merci pour ton écoute, ta gentillesse, ta fidélité et pour ton sens de l'humour unique.

À mon fiancé Abdenour, merci pour ta patience, ton soutien et ton amour indéfectible qui m'ont portée jusqu'ici.

Et enfin, à ma grande famille et à mes amies Widad, Fatiha, Sara, Nadjwa, et mes amies que j'ai rencontrées pendant ces années universitaires, merci pour les éclats de rire, les discussions enrichissantes et l'énergie collective qui ont rendu cette aventure tellement marquante : vous avez toutes et tous une place dans ce mémoire.

Badia

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail, fruit de mes études

À ma chère maman Amel, Celle qui m'a donné la vie, ma lumière dans les périodes sombres, ma force dans les moments de doute qui m'as appris la valeur de l'effort et mon inspiration chaque jour . Pour tes sacrifices silencieux, ton soutien, ton courage et tes prières qui m'ont toujours accompagnées. Que dieux te garde, te comble de santé, et te donne longue vie.

Mon cher père Mohamed : Des longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie., merci pour l'éducation et le soutient permanent venu de toi. Dieu tout puissant te garde et te procure santé, bonheur et longue vie.

À ma sœur, Assia ma unique douce sœur, ma confidente, merci pour ta présence précieuse dans chaque étape de ma vie. Je souhaite que Dieu nous accorde une longue vie et une bonne santé avec amour, honnêteté, sincérité, et solidarité.

À mon grand frère Sofiane, ma force silencieuse, merci pour tes mots, tes gestes, et ta présence qui m'ont énormément aidée tout au long de mon parcours.

À mon petit frère Wassim, ma source de joie,celui qui a me redonner le sourire dans les moments les plus lourds

A ma grande famille. A mon partenaire et mon personne préféré Rafraf ,et tous mes amies, Badia , Fatiha , Amel ,Sara , Hind , Lamia ,Manel et autres ..pour leur conseil et les souvenirs des bons moments passés ensembles.

Ce mémoire est le reflet de ton amour transformé en réussite

...Widad

Résumé

Les infections suppuratives sont des pathologies fréquentes, elles prennent des formes cliniques très variées. L'objectif de notre travail est d'identifier les souches bactériennes isolées des suppurations chez des patients hospitalisés dans différents services du EPH Médéa, notre analyse est basée sur les critères macroscopiques, microscopiques et biochimiques. Ensuite, les isolats bactériens ont subi une étude d'antibiorésistance et une caractérisation moléculaire.

Un total de 271 prélèvements a été collectés entre la période de 15 janvier et le 20 mai 2025. Le service médecine homme présente le plus grand nombre des cas (13.28 %) suivi par le service gynécologie de (9.59%). Parmi les 356 souches bactériennes isolées et identifiées, les espèces *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* ont été retrouvées. Des souches multirésistantes (BMR) telles qu'*Acinetobacter spp* et *Enterococcus spp* ont également été détectées. *Staphylococcus aureus* représentait (23,31 %) de l'ensemble des populations isolées, tandis qu'*Escherichia coli* prédominait avec (37,5 %) parmi les germes étudiés.

Cette étude a été réalisée sur 24 souches de bacilles Gram négatif (BGN). Ces souches proviennent d'infections d'origines divers avec des caractéristiques phénotypiques déterminées. Les gènes de résistance aux antibiotiques (*TEM*, *tet*, *aac*, *qnr*, *dfr*, *cmlA*) ont été recherchés par la technique de PCR standard. Les résultats ont montré que le gène *dfr* était le plus fréquemment détecté parmi les souches analysées, avec une prévalence de (50 %).

L'étude des populations a montré que la plupart des cas étudiés (63%) sont représentés par le sexe masculin contre (37%) chez les femmes, et la grande majorité des cas concerne les adultes, avec (89%) contre seulement (11%) de cas chez les enfants.

L'analyse des résultats de l'antibiogramme des souches isolées a permis de mettre en évidence la présence des taux élevés de résistance notamment chez les entérobactéries face à divers antibiotiques comme les β-lactamines (AMP 75%, OX, AMC) et sensibilité aux aminosides (GN, AK).

La majorité des profils phénotypiques ont été confirmés par les caractéristiques génotypiques. Toutefois, dans certains cas, une contradiction a été observée entre les résultats phénotypiques et génotypiques.

Mots clés : Infection cutanée, Suppuration, pus, BGN, *Staphylococcus aureus*, Antibiotique, gènes de résistance, PCR.

Abstract

Suppurative infections are common conditions that present with a wide variety of clinical forms. The aim of our study was to identify the bacterial strains isolated from suppurations in hospitalized patients from different departments of EPH Médéa. Our analysis was based on macroscopic, microscopic, and biochemical criteria. The bacterial isolates were then subjected to antibiotic susceptibility testing and molecular characterization.

A total of 271 samples were collected between January 15 and May 20. The male internal medicine department recorded the highest number of cases (13.28%), followed by the gynecology department (9.59%). Among the 356 bacterial strains isolated and identified, the most common species were *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Escherichia coli* ,Multidrug-resistant bacteria (MDR) strains were also identified, *Acinetobacter spp.* and *Enterococcus* .*Staphylococcus aureus* is the most prevalent (23.31%) of total isolates and *Escherichia coli* accounting for (37.5%) of the studied strains.

The molecular study focused on 24 Gram-negative bacilli (GNB) strains, which originated from various infections and had confirmed phenotypic profiles. Resistance genes (*TEM, tet, aac, qnr, dfr, cmlA*) were detected using standard PCR technique. The *dfr* gene was the most frequently identified, with a prevalence of (50%).

Population analysis revealed that 63% of the cases involved males and 37% females, with the majority of infections affecting adults (89%) compared to children (11%). Antibiotic susceptibility testing revealed high resistance rates among Enterobacteriaceae to β-lactams (e.g., AMP (75%)) and sensitivity to aminoglycosides (GN, AK).

Most phenotypic profiles were consistent with genotypic findings; however, some discrepancies were observed between phenotypic and genotypic results regarding certain resistance genes in the analyzed strains.

Keywords : Skin infection, suppuration, pus, GNB, *Staphylococcus aureus*, antibiotics, resistance genes, PCR

ملخص

تُعد' العدوى القيحية من الأمراض الشائعة، وهي تأخذ أشكالً سريرية متعددة. يهدف عملنا إلى تحديد العزلت البكتيرية المسؤولة عن التقيحات لدى المرضى المقيمين في مختلف مصالح المؤسسة الستشفائية العمومية(EPH) بالمدية. وقد استند تحليلنا إلى المعايير العيانية والمجهرية والبيوكيميائية، تلاها اختبار مقاومة المضادات الحيوية والدراسة الجزيئية للعزلت

تم جمع 271 عينة خلال الفترة الممتدة من 15 جانفي إلى 20 ماي. وسجلت مصلحة الطب الداخلي للرجال أعلى نسبة من الحالت (13.28%) تليها مصلحة أمراض النساء والتوليد (9.59%). من بين 356 عزلة بكتيرية تم تحديدها، كانت الأنواع
الأكثر شيوًعا: *Staphylococcus aureus*، *Pseudomonas aeruginosa*، و*Escherichia coli*، كما تم رصد
سلالت متعددة المقاومة(BMR) من *Acinetobacter spp* و*Enterococcus spp*.
وقد كان *Staphylococcus aureus* هو النوع المهيمن بنسبة (23.31%) من إجمالي السلالت، بينما ش 'كل *Escherichia coli* نسبة (37.5%) من إجمالي العزلت المدروسة.

شملت الدراسة الجزيئية 24 عزلة من العصيات سالبة الغرام(BGN)، وتم التعرف على خصائصها الفينوتيبية، وتقصي جينات المقاومة للمضادات الحيوية (*TEM*، *tet*، *aac*، *qnr*، *dfr*، *cmlA*) باستخدام تقنية الـPCR التقليدية. وقد أظهرت النتائج أن جين *dfr* كان الأكثر شيوعًا، بنسبة بلغت (50%).

أظهرت دراسة العوامل السكانية أن الذكور شكلوا (63%) من الحالت، مقابل (37%) من الإناث. كما سُجلت غالبية الإصابات عند البالغين (89%) مقابل (11%) فقط لدى الأطفال. أما اختبار الحساسية للمضادات الحيوية، فقد كشف عن نسب
مقاومة مرتفعة خصوصًا عند المعويات تجاه β-lactamines مثل AMP بنسبة (75%)، بينما لوحظت حساسية تجاه الأمينوغليكوزيدات (GN AK,).
تم تأكيد معظم الأنماط الفينوتيبية بنتائج جزيئية مطابقة، ومع ذلك، لوحظت بعض التناقضات بين النتائج الفينوتيبية والجينوتيبية فيما يخص بعض جينات المقاومة.

الكلمات المفتاحية: العدوى الجلدية، التقيحات، الصديد، BGN، *Staphylococcus aureus*، المضادات الحيوية، جينات المقاومة، PCR

Table des matières

Remerciement
Dédicaces
Résumé
Abstract
ملخص
Introduction ……01

Chapitre 1 : Généralité ……02
1. Définition des infections suppuratives ……02
2. Anatomie de la peau ……03
3. Physiopathologie des infections suppuratives ……04
4. Types d'infections de la peau ……06
4.1 Infections superficielles ……06

4.1.1 Cellulite ……06
4.1.2 Impétigo ……06
4.1.3 Plaies ……07
4.1.4 Erysipèle ……07
4.1.5 Folliculite ……07

4.2 Infections profondes ……07
4.2.1 Furoncle ……07
4.2.2 Anthrax ……07
4.2.3 Faciite nécrosante ……08
4.2.4 Abcès ……08

4.3Pied diabétique ……08
4.3.1 Définition ……08
4.3.2 Formes cliniques ……09

Chapitre 2 : Epidémiologie ……10
1. Epidémiologie des infections suppuratives……10

1.1 Fréquence ……10
1.2 Facteurs de risque ……10
1.2.1 Facteurs endogénes……10
1.2.2 Facteurs exogénes ……11
1.3 Modes de contamination ……11
1.3.1 Transmission par contacte directe ……11
1.3.2 Transmission par contacte indirecte ……12
2 Epidémiologie microbienne ……12
2.1 Cocci gram positif ……12
2.1.2 Staphylocoques ……12
2.1.3 Streptocoques ……14

2.2 Bacilles gram négatifs ……14
- Entérobactéries ……14

- Autres ……...……...16

Chapitre 3 : Diagnostic ……..17
1. Phase pré-analytique ……...17
1.1Prélèvement (superficiels, profondes) ……..17
1.2Transport et Conservation ……..18
1.3Fiche de renseignement ……..19
2. Phase analytique ……..19
2.1Étude macroscopique ……..19
2.2Etude microscopique ……..19
2.3Mise en culture ……..20
2.3.1 Milieux de culture ……..20
2.3.2 Techniques d'ensemencement ……..20
2.4 Identification ……..21
2.4.1 Critères de culture ……..21
2.4.2 Tests d'orientation ……..22
2.4.3 Caractères biochimique ……..23
2.5 Etude moléculaire ……..23
2.5.1 Processus de PCR ……..23
2.5.2 Gènes de résistance ……..24
2.5.2.1 Gène *TEM* ……24
2.5.2.2 Gène *cmLa* ……..24
2.5.2.3 Gène *dfr* ……..25
2.5.2.4 Gène *TET* ……25
2.5.2.5 Gène *qnr* ……..25
2.5.2.6 Gène *aac* ……..26
2.5.3 Conservation des souches ……26
2.5.4 Extraction d'ADN ……..26
2.6Antibiogramme ……27
2.6.2 Définition ……27
2.6.3 Technique d'ensemencement et condition d'incubation ……28
2.6.3.1 Préparation de l'inoculum ……..28
2.6.3.2 Ensemencement ……..28
2.6.3.3 Application des disques ……..28
2.6.3.4 Condition d'incubation ……28

2.6.3 Lecture……..28

2.7Recherche de BMR ……28
2.7.3 Définition ……28
2.7.4 BLSE ……29
2.7.5 MRSA/SARM ……..30
2.8Diagnostic indirecte ……..31
3 Phase post-analytique ……..31
3.6Incrimination des germes responsables ……..31

Chapitre 4 : Traitement et prévention ……..33
1. Traitement ……..33
1.1Traitement médicale ……..33

1.2Traitement chirurgicale ……..33

2. Prévention ……...33
2.1Mesures généraux ……...33
2.2Soins des plaies ……...36

Partie expérimentale ……
I. **Matériel et méthodes** ……..……37
1. Objectifs ……37
2. Période et lieu d'étude ……..37
3. Population d'étude ……37
4. Fiche de renseignement ……37
5. Prélèvement ……..37
6. Etude bactériologique ……...38
6.1Étude macroscopique ……..……..39
6.2Étude microscopique ……..……..39
6.3Mise en culture et l'isolement des germes ……..……39
6.4Identification ……..41
6.4.1 Identification macroscopique ……..41
6.4.2 Identification biochimique ……..42
6.4.2.1 Tests d'orientation ……..……..42
A. Test coagulase ……...……...42
B. Test staphaurex ……...……..42
C. Test oxydase ……..……43
D. Test catalase ……..……..43
6.4.2.2 Galerie API20E ……..……43
6.5Antibiogramme ……...44
7. Etude moléculaire ……..……44
7.1Méthode de conservation ……..44
7.2Milieux de réactivation (repiquage) ……45
7.3Extraction d'ADN ……...46
A. Milieux utilisés pour l'extraction d'ADN ……..……...46
B. Préparation de l'EDTA ……...46
C. Préparation de Tris-HCl ……46
D. Préparation de Tampon TE ……..……..46
E. Méthode d'extraction d'ADN ……..47

7.4PCR standard ……47

A. Préparation du Mix de PCR standard ……...49
B. Programmation PCR standard ……..49

7.5Electrophorèse sur gel d'agarose ……..50

A. Préparation du Tampon TBE (0.5M) ……....50
B. Préparation du gel d'agarose ……..……50
C. Electrophorèse ……...51

7.6Visualisation ……..51

II. Résultats
……..52

Etude rétrospective
……..52

1. Distribution des souches selon le sexe **……..52**
2. Distribution des souches selon l'âge **……52**
3. Distribution des souches selon le genre/espèces **……...53**
4. Distribution des souches selon le service hospitalier **……53**
5. Distribution des souches selon la résistance et la sensibilité aux antibiotiques **……54**

Etudes prospective
……55

1. Distribution des isolats conservées selon la résistance et la sensibilité aux antibiotiques ….**55**
2. Distribution des souches selon les gènes de résistance **……55**
3. Distribution des souches selon les clades **……..57**
4. Distribution des souches selon le génotype et le phénotype **…..59**

Discussion ……62
Conclusion ……66
Bibliographie ……67
Annexe ……..75
1. Fiche de renseignement **……75**
2. Tables de lecture d'antibiogramme **……76**
3. Fiche de renseignement (exemplaire) **……78**
4. Matériel non biologique **……79**

Liste des tableaux

Tableau 1 : Critères de culture des germes fréquemment isolés**……..……..21**

Tableau 2 : Tests d'orientation**.....22**

Tableau 3 : Traitement thérapeutique et mesures préventif des principales infections cutanées bactériennes**…….35**

Tableau 4 : Aspect des colonies**……..……..….41**

Tableau 5 *:* Milieux utilisés dans l'extraction d'ADN **……..46**

Tableau 6 : Amorces utilisées et les conditions d'amplification**……48**

Tableau 7 : Types de clades chez les *E.coli* **……..57**

Tableau 8: Types de clades chez les *Klebsiella spp* **.....57**

Tableau 9 : Types de clades chez les *Pseudomonas spp* **……..58**

Tableau 10 : Types de clades chez les *Proteus spp* **……..……..……..58**

Tableau 11 : Types de clades chez les *Enterobacter spp* **……...……..58**

Tableau 12 : Distribution des souches de *E.coli* selon le génotype et le phénotype des souches par rapport aux antibiotiques…**……..……...…..59**

Tableau 13 : Distribution des souches de *Proteus spp* selon le génotype et le phénotype des souches par rapport aux antibiotiques**…….……..60**

Tableau 14 : Distribution des souches de *Enterobacter spp* selon le génotype et le phénotype des souches par rapport aux antibiotiques **……..…60**

Tableau 15 : Distribution des souches de *Klabsiella spp* selon le génotype et le phénotype des souches par rapport aux antibiotiques **…….……60**

Tableau 16 : Distribution des souches de *Pseudomonas spp* selon le génotype et le phénotype des souches par rapport aux antibiotiques **…….……61**

Liste des figures

Figure 1 : Impétigo crouteux **.....6**

Figure 2 : Folliculite**……...…….7**

Figure 3 : Abcès…**……...……8**

Figure 4 : Méthodes des quadrants**.....20**

Figure 5 : Galerie api20E **……..23**

Figure 6 : Test de synergie BLSE+/BLSE-**……29**

Figure 7 : Test du double disque BLSE+…**……...30**

Figure 8 : Test du double disque BLSE-**……...30**

Figure 9 : Prélèvement par écouvillon**.....38**

Figure 10 : Gélose nutritive **……..39**

Figure 11 : Gélose au sang cuit. **……39**

Figure 12 : Milieu Hektoen…**……39**

Figure 13 : Milieu Chapman…**……39**

Figure 14 : Test de coagulase**.....42**

Figure 15 : Test de Staphorex…**……..42**

Figure 16 : Test oxydase + **……43**

Figure 17 : Test catalase +…**……43**

Figure 18 : Galerie API20E **……..…….44**

Figure 19 : Ensemencement et application des disques d'antibiogramme**.....44**

Figure 20 : Préparation de milieu GN**……45**

Figure 21 : Repiquage des souches conservées sur milieu GN.…**…….....45**

Figure 22 : Tampon TE (Tris + EDTA).…**……46**

Figure 23 : ADN extrait.…**……47**

Figure 24 : Barrette contenant 8 échantillons (système *cmLa*)**.....49**

Figure 25 : Programmation d'un thermocycleur pour la PCR standard.…**……49**

Figure 26 : Tampon TBE x0.5**……..50**

Figure 27 : Préparation de gel d'agarose**.....50**

Figure 28 : Migration d'ADN par électrophorèse sur gel d'agarose**……..51**

Figure 29 : Visualisation d'ADN par transilluminateur.…**……51**

Figure 30 : Distribution des souches selon le sexe **……52**

Figure 31 : Distribution des souches selon l'âge.…**……...…….52**

Figure 32 : Distribution des souches selon le genre et l'espèce**.....53**

Figure 33 : Distribution des souches selon le service hospitalier. **……...……...…….53**

Figure 34 : Profil de résistance vis-à-vis les antibiotiques.…**……..…..……54**

Figure 35 : Profil de résistance des isolats (étude prospective) vis-à-vis les antibiotiques……..…..**….55**

Figure 36 : Distribution des souches selon les gènes de résistance**……55**

Figure 37 : Présence du gène *aac* **…….....56**

Figure 38 : Présence du gène *TEM*…**……56**

Figure 39 : Présence du gène *dfr*…**……..56**

Liste des abréviations

Les antibiotiques

Famille	Abbreviations	Signification
Beta-lactamine	**P**	Pénicilline
	OX	Oxacilline
	AM/AMP	Ampicilline
	AMC	Amoxicilline + Acide clavulanique
	AMX	Amoxicilline
	TIC	Ticarcilline
	PIP/PRL	Pipéracilline
	CZ/CN	Cefazoline ou Céfaloridine (selon contexte)
	FOX/CX	Céfoxitine
	CTX	Cefotaxime
	CAZ	Ceftazidime
	IMP	Imipénème
	ATM	Aztréonam
Aminosides	**GN**	Gentamicine
	AK	Amikacine
	TM	Tobramycine
	NET/NA	Nétilomicine
	K	Kanamycine
Macrolides	**E/ET**	Érythromycine
	L	Lincomycine
	CM/CD/DA	Clindamycine
	PT/PR	Pristinamycine
	SR	Spiramycine
	AZM	Azithromycine
Quinolones	**NA**	Acide nalidixique
	OFX	Ofloxacine
	CIP	Ciprofloxacine
	LEV	Lévofloxacine
Divers	**TE/TET**	Tétracycline
	CS	Colistine
	SXT/COT	Triméthoprime + Sulfaméthoxazole (Cotrimoxazole)
	FT/F	Furanes
	FA	Acide fusidique
	RA	Rifampicine
	FOS/FF	Fosfomycine
	VA	Vancomycine
	MTR	Métronidazole
	C	Chloramphénicol
	ETP	Ertapénème
	QDF	Quinupristine/Dalfopristine

	TEI	Téicoplanine
	STRE	Streptomycine
	CA	Acide clavulanique
	CH	Chlortétracycline

Autres

BGN bacille gram négative
BHIB Brain Heart Infusion
CGP cocci gram positif
EDTA Acude éthyléne diamine tétra acétique
PCR polymerase chain reaction

Les services hospitaliers

CCI Centre de Chirurgie Infantile
CHF chirurgie femme
CHH chirurgie homme
EXT patients externes
GYN Gynécologie
HDJ Hôpital de Jour
INF Infectiologie
LABO Laboratoire (le personnel du labo)
MAT Maternité
ME Médecine enfant
MF Médecine femme
MH Médecine homme
N,chi Neuro-Chirurgicale
NNT Néonatologie
Onco Oncologie
OPHT Ophtalmologie
ORL Oto-Rhino-Laryngologie
Parazito Parasitologie
PED Pédiatrie
PHTF Pneumo-phtisiologie femme
PHTH Pneumo-Phthisiologie homme
POP Post-Opératoire
REA Réanimation
TRF Traumatologie femme
TRH traumatologie homme
UMC Unité de Médecine Continue

Introduction

Introduction :

L'infection est le résultat d'interactions complexes entre le système défensif du patient, le site de l'intervention et les bactéries. Il s'agit d'une multiplication microbienne entraînant des réactions au niveau cellulaire, tissulaire ou générale, qui ont la capacité de provoquer une maladie **(Bone *et al*., 1992).**

Les infections suppuratives sont des maladies infectieuses caractérisées par la formation de pus. Qui sont les résultats d'une réaction inflammatoire aiguë en réponse à la multiplication de micro-organismes pathogènes, comme les bactéries pyogènes (*Staphylococcus aureus* ou *Streptococcus pyogènes*) **(Manoj *et al*., 2020).**

Ces infections peuvent affecter différents tissus ou organes, allant de la peau et des tissus mous à des structures plus profondes telles que les os (ostéomyélite) ou superficielles (abcès, furoncle). **(Manoj *et al*., 2020)**

En pratique clinique, les infections suppuratives constituent un problème fréquent dans la santé publique en raison de leur morbidité, de leur risque de complications sévères, et de l'augmentation des résistances bactériennes, par les bactéries multirésistantes (BMR).

Dans ce contexte s'inscrit notre étude, dont l'objectif visant à déterminer le profil bactériologique et moléculaire des bactéries responsables des infections suppuratives à l'établissement public hospitalier (EPH) Mohamed Boudiaf de Médéa. Il s'agit d'une étude prospective réalisée à partir de prélèvements de pus obtenus chez des patients hospitalisés dans différents services et également chez des patients externes (non hospitalisés).

L'identification des souches bactériennes isolées a été complétée par une analyse moléculaire, notamment par PCR, permettant la détection spécifique des gènes de résistance aux antibiotiques.

Chapitre 1 : Généralités

1. Définition des infections suppuratives

Les infections suppuratives sont des maladies infectieuses qui se distinguent par la production de pus, une substance dense composée de globules blancs (les neutrophile), bactéries vivantes ou mortes, débris cellulaire et tissulaires et liquides inflammatoire, qui sont causées par des bactéries pyogènes (productrice de pus) **(anonyme.,2018).**

Ce type d'infection regroupe des formes cliniques très diverses selon la nature du tissu infecté (épiderme, derme, hypoderme, muscle), on distingue trois classes principale :

Classe I : Zones profondes fermées, normalement stériles

Les suppurations de classe I se développent dans des zones de l'organisme qui sont normalement exemptes de bactéries. Ces infections sont souvent graves et nécessitent une prise en charge médicale rapide.

- **Exemples :** abcès cérébral, adénopathies infectées, ostéomyélite (infection osseuse).
- **Caractéristiques :** Ces suppurations sont souvent causées par des bactéries très virulentes et peuvent entraîner des complications sévères

Classe II : Zones profondes communiquant avec des flores commensales

Les suppurations de classe II se situent dans des zones qui sont en contact avec des bactéries présentes naturellement dans l'organisme (flore commensale). Ces infections sont plus fréquentes que celles de classe I, mais peuvent tout de même être graves.

- **Exemples :** abcès abdominaux, infections dentaires, abcès pulmonaires.
- **Caractéristiques :** Les bactéries responsables de ces infections sont souvent moins virulentes que celles de la classe I, mais la présence de la flore commensale peut compliquer le traitement.

Classe III : Zones superficielles, contaminées directement par la flore commensale

Les suppurations de classe III concernent les zones de la peau et des muqueuses qui sont en contact direct avec l'environnement extérieur. Ces infections sont les plus courantes.

- **Exemples :** furoncles, abcès cutanés, plaies infectées.
- **Caractéristiques :** Ces infections sont généralement moins graves que celles des classes I et II, mais peuvent se compliquer si elles ne sont pas traitées correctement **(Denis *et al*.,2016).**

2. L'anatomie de la peau

La peau, notre plus grand organe, est bien plus qu'une simple enveloppe. C'est une véritable interface entre notre corps et le monde extérieur, assurant de nombreuses fonctions essentiel Il nous protège contre les toxines, les bactéries et la perte de fluides. **(Benedetti.,2024)**

Son anatomie, complexe et fascinante, lui permet d'être à la fois souple, résistante et sensible.

Structure de la peau

La peau se compose de trois couches principales :

- **L'épiderme** : C'est la couche la plus superficielle et visible. Elle est constituée principalement de kératinocytes, des cellules qui produisent de la kératine, une protéine qui durcit et protège la peau. L'épiderme est renouvelé en permanence, les cellules mortes étant éliminées à la surface.

  - **Couche cornée** : La couche la plus externe, composée de cellules mortes et aplaties, remplies de kératine.
  - **Couche granuleuse** : la kératinisation débute. Les cellules produisent des granulés durs et, à mesure que ces derniers sont poussés vers la surface, ils se transforment en kératine et en lipides épidermiques.

- **Couche épineuse** : les kératinocytes produisent de la kératine (fibres de protéine) et deviennent fusiformes., leur donnant une résistance mécanique.

Couche basale : C'est ici que se produisent les divisions cellulaires. **(Geras., 2008)**

- **Le derme** : Situé sous l'épiderme, le derme est plus épais et contient de nombreuses structures :

- **Collagène et élastine** : Des fibres protéiques qui confèrent à la peau sa résistance et son élasticité et sa souplesse, et sont essentiels pour conserver une peau jeune et saine
- **Vaisseaux sanguins et lymphatiques** : Assurent la nutrition de la peau et l'élimination des déchets.
- **Glandes sudoripares** : Produisent la sueur (qui fournissent l'eau et l'acide lactique à la surface de la peau), impliquée dans la thermorégulation.
- **Glandes sébacées** : Sécrètent le sébum, un film lipidique qui protège la peau.
- **Follicules pileux** : Contiennent les racines des poils.
- **Récepteurs sensoriels** : Permettent de percevoir le toucher, la douleur, la température, etc.

Le derme joue un rôle essentiel de protection du corps contre les agressions extérieures et les agents irritants, tout en nourrissant de l'intérieur les couches les plus externes de la peau **(Geras., 2008)**

- **L'hypoderme** : La couche la plus profonde de notre peau. Elle est principalement constituée de :

- Cellules adipeuses (adipocytes) : regroupées en amas sous forme de coussins.
- Fibres de collagène spéciales (appelées gaines ou cloisons de tissu) : tissu conjonctif spongieux et lâche qui maintient les cellules adipeuses ensembles.
- Vaisseaux sanguins.

(Geras., 2008)

3. Physiopathologie des infections suppuratives :

La physiopathologie de ces infections est complexe et implique une interaction entre l'agent infectieux et la réponse immunitaire de l'hôte.
Les étapes de l'infection :

Les Pénétration de l'agent infectieux :

- **Porte d'entrée :** Les bactéries pénètrent généralement dans l'organisme par des plaies, des muqueuses ou des orifices naturels.
- **Adhésion :** Les bactéries adhèrent aux cellules de l'hôte grâce à des molécules spécifiques

Multiplication bactérienne :

- **Prolifération :** Les bactéries se multiplient rapidement dans les tissus, créant un foyer infectieux.
- **Production de facteurs de virulence :** Les bactéries sécrètent des toxines et des enzymes qui endommagent les tissus et favorisent leur dissémination.

Réponse inflammatoire:

- **Recrutement de cellules inflammatoires:** L'organisme réagit en envoyant des cellules immunitaires (neutrophiles, macrophages) au site de l'infection.
- **Vasodilatation et augmentation de la perméabilité vasculaire:** Ces phénomènes favorisent l'arrivée des cellules immunitaires et des molécules impliquées dans la réponse inflammatoire (cytokines, médiateurs lipidiques)

Formation de pus:

- **Nécrose tissulaire:** Les tissus infectés sont détruits par les bactéries et les cellules immunitaires.
- **Formation d'une cavité:** Une cavité se forme, remplie de pus, qui isole l'infection du reste de l'organisme.

Réparation et la cicatrisation :

- Les fibres de collagène prolifèrent et s'entourent d'une matrice plus dense, tandis que les vaisseaux sanguins se referment.

- Les myofibroblastes, sous l'effet des signaux inflammatoires, développent des caractéristiques contractiles similaires aux cellules musculaires lisses et rapprochent les bords de la plaie.

- L'épiderme commence à se renouveler depuis la périphérie et les zones basales résiduelles, formant initialement une fine couche monocellulaire qui inhibe la croissance du tissu de granulation.
- Progressivement, il retrouve sa structure normale avec plusieurs couches cellulaires. La cicatrisation s'achève lorsque l'équilibre entre l'épiderme et le tissu conjonctif est atteint, marquant la formation définitive de la cicatrice. **(Aymeric *et al*..2023)**

Evolution des infections suppuratives

- **Destruction tissulaire locale :** Les infections suppuratives peuvent entraîner la destruction des tissus, la formation d'abcès et la perte de fonction des organes.
- **Dissémination de l'infection :** Dans certains cas, l'infection peut se propager à d'autres organes, entraînant des complications graves (septicémie, choc septique).
- **Formation de fistule. (Robert *et* Le Touze., 1993)**

4. Type d'infection de la peau :

4.1 Infections superficielles :

4.1.1 Cellulite purulente se caractérise par une inflammation cutanée accompagnée d'un écoulement ou d'un exsudat purulent, sans présence d'un abcès pouvant être drainé. Les infections pyogènes superficielles de faible gravité peuvent, si elles ne sont pas traitées, s'étendre aux espaces aponévrotiques de la tête et du cou, favorisant ainsi le développement d'une cellulite. **(DAHMAS *et al*.,2022)**

4.1.2 Impétigo est une infection bactérienne de la peau due à un staphylocoque ou un streptocoque. Existe sous de forme : la forme croûteuse, la plus fréquente, et la forme bulleuse. Il est contagieux avec une transmission en général par contact direct avec les lésions, est à l'origine de petites épidémies dans les collectivités d'enfants.

(Anonyme., 2025)



Figure 1 : impétigo **(Naser *et* Algembre.,2020)**

4.1.3 Plaies sont caractérisées par une rupture de la continuité des tissus corporels. Ces blessures peuvent être dues à des causes mécaniques ou non. Le processus de guérison d'une plaie est influencé non seulement par sa surface et sa profondeur, mais également par les éléments susceptibles de retarder ou d'entraver sa cicatrisation **(DAHMAS *et al*.,2022)**

4.1.4 Érysipèle Se réfère habituellement à une cellulite plus superficielle du visage ou des membres associés à une atteinte lymphatique, majoritairement provoquée par une infection à streptocoque. **(DAHMAS *et al*.,2022)**

4.1.5 Folliculite est une infection touchant un follicule pileux. Elle se manifeste comme une petite pustule rouge ou blanche à la racine d'un poil sans autre symptômes. Dont *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus pyogenes* sont les bactéries les plus fréquemment responsable de cette infection **(Denis *et al*.,2007)**



Figure 2 : folliculite **(Larquey *et* Mahé.,2018)**

4.2 Les infections profondes :

4.2.1 Furoncle : C'est une infection profonde et nécrosante du follicule pilo-sébacé engendrée par le Staphylococcus aureus avec l'apparition d'une suppuration accompagnée d'une évacuation spontanée de pus, qui correspond au follicule nécrotique. Le furoncle se présente comme un nodule inflammatoire et sensible, au centre duquel se trouve une pustule**.** La répétition d'épisodes de furoncle pendant plusieurs semaines ou mois provoque furonculose. **(DAHMAS *et al*.,2022)**.

4.2.2 Anthrax : est une infection éventuellement fatal causée par *Bacillus anthracis*_. Elle peut toucher la peau, les poumons ou, de manière moins fréquente, le système digestif (tractus gastro-intestinal). On peut distinguer l'anthrax comme une complication du furoncle (conglomérat de furoncle) **(Bush *et al*., 2023)**.

4.2.3 Faciite nécrosante : La fasciite nécrosante (FN) est une infection peu courante touchant la peau et les tissus sous-cutanés profonds, elle se diffuse à travers les fascias et le tissu adipeux, provoquant des lésions sur la peau supérieure, tout en épargnant jusqu'à un stade évolué avancé les muscles sous-jacents. **(EL ALEM.., 2017)**

4.2.4 Abcès : On définit un abcès cutané comme une infection des couches plus profondes de la peau, formant une accumulation de pus distincte et localisée. Dans un contexte clinique, un abcès cutané se manifeste généralement sous forme de nodule ou de plaque, qui présente une fluctuation et est habituellement inflammatoire. **(Sène *et al*.,2017).** Sachant qu'il existe plusieurs type d'abcès : abcès dans une cavité naturelle (Abcès intracrâniens, oculaires, Oto-Rhino-Laryngée, urineux et fécale), abcès intra-abdominale (abcès du sein, sous péritonéale et de la plèvre, sous phrénique, pulmonaire, hépatique at splénique), et abcès en contact d'un os (abcès alvéolaire, apical, ossifluent, épidurale et de Brodie). **(DAHMAS *et al*.,2022).**

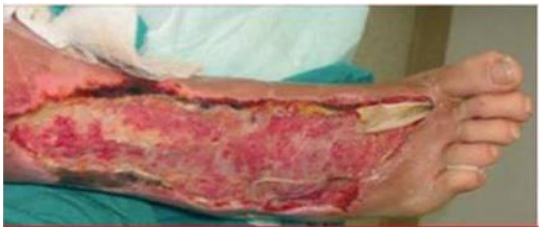


Figure 3 : faciite nécrosante **(Plainvert *et al*., 2016)**

4.3Pied diabétique :

4.3.1 Définition :

Chez les personnes diabétiques, les plaies du pied s'infectent souvent en raison de complications chroniques liées à la maladie. La combinaison de troubles nerveux (neuropathie), de problèmes de circulation sanguine (artériopathie) et d'un système immunitaire affaibli rend la guérison plus difficile. À un moment donné de leur vie, entre 15 et 25 % des diabétiques feront face à une infection du pied **(Hoppenot., 2024),** entraînent un risque élevé d'amputation **(PASQUEREAU., 2024)**

4.3.2 Formes cliniques du pied diabétique :

- **La gangrène humide** est caractérisée par la présence de tissus nécrotiques de couleur noire. Elle évolue rapidement, présentant un décollement et un pus grisâtre à l'odeur insupportable, ce qui peut entraîner une détérioration rapide de l'état général du patient, conduisant à un sepsis, un déséquilibre métabolique et une insuffisance rénale. **(Anonyme., 2006)**
- **Pied neuropathique :** est la complication d'une plaie neuropathique qui se manifeste sur un pied correctement vascularisé où les pouls sont visibles. Elle est généralement plantaire ou pulpaire, souvent bordée d'une région d'hyperkératose et non douloureuse. On fait généralement référence à cela comme le mal perforant plantaire. **(PASQUEREAU., 2024)**
- **Pied artériopathique ou ischémique :** est la conséquence de la plaie ischémique, qu'elle est généralement dorsale ou latérale, sans être entourée d'hyperkératose et peut être douloureuse. Cette douleur peut être due à une infection et/ou à une ischémie. **(PASQUEREAU., 2024).**

Pied diabétique neuro-ischémique (mixte) : c'est une plaie associée à une neuropathie due à une ischémie. La lésion se manifeste sur le contour du pied, à la pointe des orteils, ou même sous les ongles des pieds. Le premier signe est souvent une ampoule, semblable à celle qui se forme à la suite d'un frottement répété du pied dans une chaussure trop petite ou trop étroite. **(PASQUEREAU., 2024)**

- **Pied de Charcot :** ou également appelée neuro-ostéo-arthropathie, est une affection arthropathique progressive et dévastatrice affectant une ou plusieurs articulations à la suite d'une atteinte neurologique. Dans la plupart des situations, elle est sans douleur et entraîne une déformation importante du média ou de l'avant-pied.

Il s'agit d'un phénomène plutôt rare mais largement sous-évalué, dont l'origine principale est la neuropathie.

Par ailleurs, l'ostéopénie, qui est la fragilisation des os due à une augmentation du flux sanguin dans le pied, contribue aussi à des déformations ou altérations osseuses ainsi qu'à des fractures spontanées. **(PASQUEREAU., 2024)**

Chapitre 2 : épidémiologie

Chapitre 2 : Epidémiologie

1. Epidémiologie des infections suppuratives :

1.1 La fréquence :

Les infections bactériennes superficielles et profonds de la peau sont courantes dans la pratique quotidienne, leur fréquence est difficile à estimer. Les infections graves sont nettement plus rares. Environ 30% des patients infectés sont des infections nosocomiales. Ces épidémies représentent l'une des rares urgences réelles en matière de santé publique au sein des hôpitaux **(Simon, 2007).**

L'impétigo est plus courant chez les enfants et dans les environnements précaires. C'est une maladie transmissible, pouvant être inoculée par contact direct et auto-inoculation, avec le potentiel de petites épidémies (au sein de la famille, dans les communautés).

On estime que l'érysipèle touche entre 10 et 100 personnes pour 100 000 habitants chaque année. Il touche surtout les adultes de plus de 40 ans et affecte très rarement les enfants, et Les folliculites et les furoncles sont courants, bien qu'inoffensifs.

La cause des infections cutanées est déterminée en fonction de leur localisation et de leur nature, ainsi que du caractère primaire/secondaire et communautaire/hospitalier. Il est possible que cela soit dû à une grande variété d'espèces bactériennes.
Une recherche française réalisée en 2006 a déterminé les bactéries responsables.

Dans 49% des cultures positives, un micro-organisme a été identifié. Parmi ces derniers, on a trouvé Staphylococcus aureus dans 57% des cas (dont 4% de souches résistantes à la méthicilline, SARM), une entérobactérie dans 24%, ou encore un streptocoque dans 6**%. (Rasigade *et* Tristan, 2019)**

1.2 Les facteurs de risque :

Les infections cutanées sont favorisées par un ensemble de facteurs de risque.

1.2.1 Les facteurs endogènes : liée au patient

-Un système immunitaire affaibli, en raison de maladies chroniques (le diabète ou le VIH), ou de la prise de médicaments immunosuppresseurs qui diminue la capacité du corps à combattre les infections.

-Déséquilibres hormonaux qui contribuer à l'apparition de l'acné ou de certaines maladies dermatologiques.

-Maladies cutanées préexistantes : eczéma, psoriasis

-Colonisation microbienne naturelle : déséquilibre du microbiote cutané (par exemple, Staphylococcus aureus).

-Âges extrêmes : Les nourrissons et les personnes âgées sont plus fragiles.

-Xérose : Une peau extrêmement sèche peut présenter des microfissures invisibles, mais suffisamment larges pour permettre l'entrée de micro-organismes pathogènes .**(Rahmus *et* tesini,2023)**

1.2.2 Les facteurs exogènes : augmentant le risque d'infections cutanées proviennent de l'environnement ou d'actions externes.

- Les lésions cutanées, telles que les coupures, brûlures et les piqûres d'insectes mal soignées,

- Actes médicaux : pose de cathéters, changement de pansements, interventions chirurgicales (le risque d'infection du site opératoire dépend de la contamination par des germes) **(Hazrat *et al*.,2013)**
- Mauvaise hygiène et manque de soins
-Climat : la chaleur et l'humidité favorise à la multiplication des bactéries ou champignons
-le contact direct avec des agents infectieux présents dans l'environnement, sur des objets ou transmis par d'autres personnes

Par Des micro-organismes provenant d'un environnement contaminé (source exogène) qu'ont la capacité d'adhérer aux surfaces ou aux tissus hôtes grâce à des structures spécifiques telles que les protéines de paroi, les pili ou les fimbriae, les flagelles, etc. Ces facteurs de virulence facilitent la colonisation, l'invasion des tissus et le déclenchement d'une infection**. (Annonyme,2019)**

1.3 Mode de contamination :

1.3.1 Transmission par contact direct :

−le contact direct avec des agents infectieux que ce soit peau a peau avec d'autres personnes infecté ou par contact sexuel. **(Tristan *et* Rasigade., 2019)**

1.3.2 Transmission par contact indirect :

-par des objets contaminés présents dans l'environnement comme les matériaux présents à l'hôpital, des animaux, ou le sol **(vidal recos,2016)**

II.Epidémiologie microbienne :

2.2 Les Cocci gram positif :

2.2.1 Les staphylocoques :

Les staphylocoques sont des bactéries ubiquitaires présentes dans l'environnement (air, sol, eau, aliments, mobilier) et colonisent la peau et les muqueuses de l'homme et des animaux de manière commensale, sont des cocci Gram positif, mesurant entre 0,8 et 1 µm de diamètre. Ils sont immobiles et peuvent s'observer isolément, par paires (diplocoques), en courtes chaînettes, ou plus typiquement en amas irréguliers évoquant des grappes de raisin ou des tétrades. Ils sont à coagulase positive, Ces germes sont peu exigeants et peuvent être isolés en bouillonou ou sur milieux solides simples (gélose ordinaire , gélose au sang) incubé en aérobiose à 35–37 °C **(Denis *et al.*, 2016).**

Staphylococcus aureus affectionne particulièrement la muqueuse nasale, où il est retrouvé chez environ 30% des individus en dehors de tout contexte hospitalier, et ce portage peut varier d'intermittent à persistant selon les personnes. **(Caby *et al.*, 2010 ; Denis *et al.*, 2016)**. Elle est principalement responsable des infections suppuratives loco-régionales, y compris celles de l'acné, des furoncles, de la paronychie, de l'anthrax, de la cellulite, de la sinusite et de l'otite.
L'agent pathogène complique rarement ces infections par une propagation locale et régionale ou par une dissémination hématogène. Dans ces cas, il peut entraîner des infections profondes, telles que la septicémie, l'endocardite, la pneumonie, l'ostéomyélite, l'arthrite et la méningite **(Tristan *et* Rasigade., 2019)**

- Les infections dù aux toxines

On distingue plusieurs types d'infections toxiques, notamment le choc toxique staphylococcique, le syndrome d'exfoliation généralisée, l'impétigo bulleux, la pneumonie nécrosante et les toxi- infections alimentaires.**(Tristan *et* Rasigade., 2019)**

Les facteurs de virulence :

La virulence de *S. aureus* est associée à de nombreux facteurs, dont beaucoup sont des protéines de surface qui permettent à l'agent pathogène d'adhérer à l'hôte et favorisent la progression et la dissémination de l'infection. Certains définissent en outre des toxines spécifiques qui sont à l'origine de syndromes toxiniques **(Tristan *et* Rasigade., 2019).**

- **Protéines de surface : colonisation.**

S. aureus colonise la peau et les muqueuses s'il adhère aux cellules et aux composants de la matrice extracellulaire. Cette colonisation s'effectue sans blessure préalable et est favorisée par la rupture de la barrière cutanéo-muqueuse. Par conséquent, de nombreuses protéines de surface de *S. aureus* exposées à l'environnement peuvent se lier aux molécules de l'hôte. Certaines de ces protéines sont appelées adhésines. Un certain nombre d'entre elles appartiennent à la catégorie MSCRAMM(Microbial Surface component Recognizing Adhesive Matrix Molecule), des protéines reconnaissant les molécules de la matrice extracellulaire contenant du collagène, ainsi que des protéines reconnaissant l'élastine, les protéoglycanes et les glycoprotéines structurelles telles que la fibronectine.
Les plus étudiées sont la protéine A, la protéine liant le collagène pour les types I, II et IV, les protéines liant la fibronectine et les facteurs d'agglutination des protéines liant le fibrinogène (ClfA, ClfB) **(Verdier *et al.*, nd)**

- **Les toxines:**

- Les exfoliatines A et B sont respectivement responsables du syndrome exfoliatif général et de l'impétigo. Le mode d'action implique l'élargissement des espaces intercellulaires et le clivage des desmosomes au sein de l'épiderme, très probablement à la suite de l'activation d'une protéase.

- Les superantigènes induisent une activation massive des lymphocytes T polyclonaux en se liant au CMH II et au TCR2. Parmi les staphylocoques, le TSST-1 et les entérotoxines sont assez fréquents. L'activation anormale qui s'ensuit peut déclencher un choc toxique ou des réactions d'auto-immunité, qui pourraient être impliquées dans des maladies telles que la maladie de Kawasaki, la dermatite atopique, le psoriasis et certaines formes d'arthrite.

- La leucocidine de Panton-Valentine (PVL) est une toxine à deux composants. Ils forment un pore dans la membrane cellulaire des cellules immunitaires, ce qui entraîne leur lyse. L'histamine et d'autres médiateurs inflammatoires sont libérés à des concentrations plus faibles. Elle est

codée par un bactériophage présent dans une minorité de souches de S. aureus et est associée à des infections cutanées primaires telles que les furoncles **(Verdier *et al*., nd).**

2.2.2 Les streptocoques :

La famille des *Streptococcaceae* comprend un groupe de bactéries sphériques (Cocci) Gram positif, caractérisées par l'absence de catalase et de cytochrome oxydase. Elles produisent de l'acide lactique par fermentation du glucose et peuvent tolérer l'absence d'oxygène (anaérobies- aérotolérantes) **(Garmier *et* Denis., 2011).** Les streptocoques jouent un rôle majeur en pathologie humaine et animale. Certaines espèces hautement virulentes, telles que *Streptococcus pyogenes* et *Streptococcus pneumoniae*, sont des pathogènes stricts responsables d'infections aiguës chez l'homme. D'autres espèces, habituellement commensales, peuvent devenir pathogènes opportunistes dans des conditions spécifiques **(Tristan *et* Rasigade., 2019).**

2.2 Bacilles à Gram négatif :

- **Les Entérobactéries :**

La famille des Entérobactéries regroupe plus de 130 espèces bactériennes Gram négatif de 2-4 µ X 0,4-0,6 µ , généralement mobiles grâce à une ciliature péritriche mais parfois immobile . Elles sont faciles à cultiver en laboratoire et présentent un métabolisme aéro-anaérobie facultatif, fermentant le glucose avec ou sans production de gaz, tout en étant dépourvues d'oxydase et capables de réduire les nitrates en nitrites. Leur remarquable capacité d'adaptation et la fréquence de leurs résistances aux antibiotiques font d'elles les bactéries les plus souvent impliquées dans les infections humaines. Ces bactéries colonisent préférentiellement le tractus intestinal des animaux et de l'homme, mais peuvent également persister dans l'environnement extérieur, notamment dans le sol et l'eau **(PHILIPPON .,2001)**

Parmi les genres les plus fréquemment rencontrés en pathologie humaine figurent *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, *Klebsiella*, *Enterobacte*r, *Serratia*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia* et *Citrobacter* **(Zitouni *et al*..2021).**

- ***E.coli* :**

Escherichia coli domine les espèces aérobies du tube digestif humain et animal. Sa détection dans l'environnement extérieur signale une contamination fécale., *E. coli* se caractérise par sa mobilité, l'absence d'uréase, la production d'indole, et l'incapacité à utiliser le citrate, cette

espèce présente une importante diversité antigénique, classée selon les antigènes O, K et H **(Zitouni *et al*,.2021).**

- ***Klebsiella pneumoniae:***

Klebsiella pneumoniae, l'espèce la plus fréquemment isolée du genre, est une bacille Gram négatif, immobiles et typiquement entouré d'une capsule. Appartienst à la famille des Entérobactéries. Elle est anaérobie facultatives et présente une taille variable. Elle est pathogène opportuniste impliqué dans des infections acquises en communauté (notamment broncho-pulmonaires et intra-abdominales) mais est surtout un agent majeur d'infections nosocomiales. On la retrouve couramment dans les infections urinaires associées aux sondes, les bactériémies, les pneumonies, les infections de sites opératoires et les infections néonatales **(Zitouni *et al*,. 2021)**. Le genre est également caractérisé par une diversité antigénique capsulaire importante, avec 77 antigènes K identifiés **(Janda *et* Abbott., 2006)**

- ***Serratia:***

Les espèces du genre *Serratia* sont présentes dans divers environnements tels que les plantes, le tube digestif des rongeurs, les insectes, l'eau et le sol **(Euzéby., 2003).** Ce genre comprend dix espèces, dont la principale espèce pathogène est *Serratia marcescens*, souvent responsable d'infections nosocomiales. Cependant, d'autres espèces comme *S. plymuthica*, *S. liquefaciens*, *S. rubidaea* et *S. odorifera* ont également été impliquées dans des infections **(Sekhsokh *et al*., 2007 ; Basilio., 2009)**

- ***Proteus :***

Les *Proteus* spp sont des bactéries Gram négatif en forme de bâtonnet, généralement très mobiles et polymorphe**).** On les trouve dans le sol, l'eau et l'intestin de l'homme et de diverses espèces animales **(Lamnaouer., 2002).** Le genre *Proteus* comprend actuellement cinq espèces, dont trois sont particulièrement importantes en pathologie humaine : *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris* et *Proteus penneri* **.** Parmi celles-ci, *Proteus mirabilis* est l'espèce la plus fréquemment isolée dans les prélèvements cliniques **(Goubau *et al*., 2000).**

- ***Enterobacter :***

Enterobacter cloacae est l'espèce la plus couramment isolée du genre *Enterobacter*. Elle forme des colonies rondes, légèrement aplaties et à bords irréguliers. *E. cloacae* est fréquemment

impliquée dans diverses infections nosocomiales, notamment les infections urinaires, les bactériémies, les méningites et les suppurations diverses **(Zitouni., 2004).**

- ***Acinetobacter :***

Les *Acinetobacter* sont des bactéries Gram négatif immobiles, aérobies, souvent en paires courtes, et généralement inoffensives dans l'environnement et sur la peau **(Pierre *et al*., 2003).** Cependant, *Acinetobacter baumannii* est un opportuniste majeur à l'hôpital, causant des infections pulmonaire **(Jans *et al*., 2004),** de plaies et urinaires difficiles à traiter en raison de sa forte résistance aux antibiotiques **(Levent *et al*., 2011).** Chez les nouveau-nés, il peut provoquer des infections graves du sang et des méninges **(Robinson *et al*., 2008).**

- **Autres :**

Pseudomonas :

Les *Pseudomonas* sont des bacilles Gram négatif, strictement aérobies avec un métabolisme oxydatif. Saprophytes de l'eau, des sols humides et des végétaux, ils sont généralement mobiles grâce à une ciliature polaire, rarement immobiles, et ne forment pas de spores (**Talon *et* Bertrand, 2004**). Une caractéristique notable de ces bactéries est leur résistance aux antiseptiques et aux antibiotiques **(Avril *et al*., 1992).** *Pseudomonas aeruginosa* est une espèce pathogène opportuniste présente dans le tube digestif **(Fauchére., 2002),** Il est identifié comme principal agent pathogène hospitalier pour les patients immunodéprimés **(Mesaros *et al*., 2007)** . Elle peut également surinfecter des lésions cutanées, des plaies traumatiques ou postopératoires **(Cattoir., 2005).**

Chapitre 3 : Diagnostic

Chapitre 3 : Diagnostic

1. Phase pré-analytique :

1.1 Prélèvement :

Tous les prélèvements doivent être réalisés avant le traitement/antibiothérapie.

- **Ecouvillonnage :** Un écouvillonnage est réalisé lors de blessures superficielles telles que les furoncles, plaies, brûlures, morsures, etc.
  Il est conseillé que ces échantillons soient restreints, car ils sont fréquemment contaminés par la flore aérobie cutanée, plus exposée à la dessiccation et peu adaptée à la recherche de germes anaérobies. Ces types d'échantillons ne sont pas appropriés pour le diagnostic d'une infection profonde. Avant la collecte, la peau doit être nettoyée et antiseptisée soigneusement.
  La collecte est effectuée au niveau de la lésion (bulle, furoncle…), après retrait de la croûte ou incision de la bulle ou de la peau afin de récupérer le pus, ou encore au niveau d'une plaie**.**
  (Rasigade *et al*.,2019)

- **Ponction :** La ponction se réalise en utilisant une aiguille fixée sur une seringue, suite à une préparation précise. Pour assurer la survie des anaérobies, il faut évacuer l'air. **(DAHMAS *et al*.,2022)**
- **Biopsie :** Des flacons stériles, dépourvus de tout conservateur et de liquide, reçoivent les échantillons de tissu d'une taille considérable. Des échantillons réduits sont placés au fond d'un tube stérile, accompagnés de 3 à 4 gouttes de sérum physiologique stérile pour prévenir la déshydratation. **(Cattoir *et al*.,2022)**
- **Concernant le pied diabétique :** les échantillons ne doivent être prélevés que si une infection est cliniquement prouvée, les lésions sans manifestations cliniques (locales ou systémiques) ne nécessitent pas de prélèvement (à moins d'une recommandation du praticien en charge).

  Le débridement est un processus indispensable, car la colonisation superficielle est courante et fréquemment sans signification pathologique. Il s'agit d'une intervention chirurgicale ou mécanique, suivie d'un nettoyage (sérum physiologique) et d'une désinfection (effectuée avec du sérum physiologique) avant la collecte.
  Tous les écouvillons sont placés dans un environnement de transport.

L'écouvillonnage superficiel, bien que largement répandu, est la technique là moins fiable. Un écouvillon a été appliqué sur une zone de 1 cm2 de la plaie en effectuant un mouvement de zigzag associé à une rotation.

Il est complexe de faire la différence entre les microorganismes colonisateurs et ceux infectieux. On ne recherche généralement pas les anaérobies.

Le curetage - écouvillonnage profond consiste à obtenir des échantillons de tissu en raclant la base de l'ulcère avec une curette ; les éléments prélevés lors du curetage sont récupérés grâce à un écouvillonnage. Il est possible de rechercher des anaérobies. L'aspiration est pertinente pour les infections profondes ou agrégées. L'extraction du pus se fait directement à travers une zone désinfectée, ou après l'injection de 1 à 2 ml de sérum physiologique (par aspiration avec une seconde seringue). La seringue est envoyée au LBM sans aiguille, exempte d'air et scellée de manière stérile et hermétique.

La biopsie tissulaire. 2 à 4 échantillons de tissu prélevés par « punch biopsy » sont rapidement déposés dans un flacon aseptisé contenant quelques gouttes de sérum physiologique (pour prévenir la déshydratation++).

L'ostéite, la biopsie osseuse est considérée comme la méthode standard. Effectuée suite à une période thérapeutique d'au moins 15 jours, elle est acheminée avec une petite quantité de sérum physiologique pour la culture aérobie et une portion est placée dans un milieu de transport dédié à la culture anaérobie. Il est nécessaire de compléter l'analyse biologique par un examen histopathologique. **(Anonyme. LxBIO)**

La dernière étape à faire et d'identifier le prélèvement (nom, prénom, date de naissance).

1.2 Transport et conservation :

Conformément à la procédure standard, ces échantillons doivent être acheminés au laboratoire dans les plus brefs délais, à température ambiante et dans des milieux appropriés. Cela exige une coopération étroite entre le personnel médical, l'infirmière et la coursière, compte tenu du risque élevé de dessiccation et de lyse bactérienne. (**Cattoir *et al*.,2022)**

Dans le cas d'écouvillon : - manipulation dans 2h si l'écouvillon est sec

- Manipulation dans 24h si l'écouvillon est mis dans un milieu de transport (qui doit protéger les bactéries anaérobies de l'oxygène de l'air, empêcher la dessiccation du produit pathologique, et préserver la multiplication ultérieure des bactéries aérobies ou anaérobies). **(Cattoir *et al*.,2022)**

1.3 Fiche de renseignement :

Tout prélèvement doit être accompagnés d'une fiche de renseignement clinique. Les informations cliniques sont cruciales pour la gestion et l'interprétation de l'examen (détermination du genre d'infection et de son localisation, méthodes de collecte, contexte clinique général : âge, statut immunitaire, diabète, traitement par corticoïdes, antécédent médico-chirurgicale etc.) et éventuelle thérapie antibiotique.

2. Phase analytique :

2.1 Etude macroscopique :

-La consistance, la couleur, l'apparence et la viscosité du pus est noté et qu'il peut présenter une consistance épaisse, visqueuse et élastique, être mêlé ou non au sang, et se manifester sous forme de fluide ou de sérosité.

-La couleur peut aller du chocolat au blanc, avec quelques pus présentant des teintes verdâtres ou bleues (teinte bleue, générée par le bacille pyocyanique). **(Zidani *et al*., 2019-2020)**

-Pus semi-transparent, il est très fluide grâce à la quantité importante de sa composante liquide

(Fingerhut *et al*., 2022)

- Pus d'aspect crémeux, dense grâce à la prépondérance des composants solides **(DAHMAS *et al*.,2022)** sont des pus à Staphylocoques ou à Pneumocoques sont des éléments d'orientation dont il faut tenir compte. **(Zidani *et al*., 2019-2020)**

2.2 Etude microscopique :

Une évaluation à la fois cytologique et bactériologique. Les procédures qui mettent l'accent sur l'examen complet des bactéries reposent principalement sur les méthodes microscopiques. **(Cattoir *et al*., 2022)**

- **Examen en l'état** : cela implique d'observer l'échantillon entre la lame et la lamelle au microscope optique à un grossissement de 40, sans aucune fixation préalable par chaleur ou alcool. **(Cattoir *et al*., 2022)**
- **Après coloration** : Ces méthodes facilitent une visualisation plus précise des morphologies bactériennes et la détermination de leurs arrangements mutuels. Les colorations différentielles permettent de distinguer les bactéries selon la structure de leur paroi cellulaire. On utilise deux colorations standard :

¬ La coloration de Gram qui permet de différencier les bactéries Gram-positives des bactéries Gram-négatives.

¬ La technique de coloration de Ziehl-Neelsen qui souligne la présence de bacilles acido-alcoolo-résistants. **(DAHMAS *et al.*,2022)**

2.3 Mise en culture :

2.3.1 Les milieux de culture :

Des isolements sur plusieurs milieux sont effectués en se basant sur la fiche de renseignements cliniques et les analyses macro et microscopiques des échantillons suivants :

 Gélose au Sang Cuit incubée sous CO2 pendant 48h (bactéries exigeantes),

 Gélose au Sang Frais,

 Gélose Chapman (milieu sélectif pour les staphylocoques), incubée en 37°c pendant 24h,

 Gélose Hecktoen (milieu sélectif pour les entérobactéries), incubée en 37°c pendant 24h,

 Gélose Columbia au sang frais, incubée en conditions anaérobies pendant 48 heures à 05-07 jours en anaérobiose,

 Gélose Loweinstein Jensen (en cas de suspicion de Mycobactéries),

 D'autres types de milieux si le clinicien oriente vers certains types spécifiques de germes.

(Zidani *et al.*, 2019-2020)

2.3.2 Technique d'ensemencement :

Le positionnement de l'échantillon ou de la suspension de germe se fait à proximité d'un bord de la boîte de Petri, ou par le biais d'une strie située dans un quart de la boîte qui servira de premier quadrant. L'isolement est réalisé en utilisant une pipette Pasteur à bout ou un ensemenceur stérile à usage unique. Avec cette technique, le quadrant le plus récent comprend des colonies isolées dont la morphologie aide à identifier une espèce, un genre de bactéries, voire une famille entière de bactéries. Des tests d'identification pourront être effectués et la sensibilité aux antibiotiques vérifiée à partir de ces colonies isolées. **(Fingerhut *et al.*, 2022)**

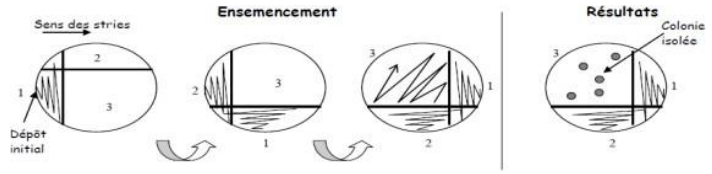


Figure 4 : méthodes des quadrants **(Belmessikh et al.,)**

2.4 Identification :

2.4.1 Critères de culture :

En raison de la variété des bactéries isolées on peut les subdiviser en deux principales catégories basées sur leurs besoins nutritionnels : celles qui sont exigeantes et celles qui ne le sont pas. Les bactéries non exigeantes ont la capacité de se développer facilement sur des milieux de culture ordinaires tels que la gélose nutritive ou le bouillon ordinaire, étant donné qu'elles produisent la majorité des composants requis pour leur croissance. Par exemple, cela s'applique aux entérobactéries ou à *Pseudomonas aeruginosa*. Cependant, les bactéries exigeantes ont besoin de milieux enrichis qui contiennent des éléments nutritifs spécifiques tels que des acides aminés, des vitamines ou des facteurs hématiques. On trouve parmi elles :

Les streptocoques qui nécessitent une gélose au sang frais **.**

Les staphylocoques exigent un milieu sélectif (milieu Chapman)

La sélection du milieu de culture, du pH, de la température (généralement 35–37 °C) et des conditions atmosphériques (aérobie, anaérobie) est indispensable pour assurer un développement optimal de chaque espèce bactérienne.

Tableau 1 : Critères de culture des germes fréquemment isolés **(Anonyme,. 2019)**

Germe	**Mileu de culture**	**Condition d'incubarion**	**Aspect des colonies**
Enterobacterie *(Escherichia coli)*	Gélose nutritive, Hektoen, MacConkey, EMB	37°C, aérobie	Colonies lisses, convexes, lactose + (roses sur MacConkey)
Pseudomonas aeruginosa	Gélose nutritive,	37°C, aérobie strict	Colonies plates, pigment bleu-vert, odeur de jasmin
Staphylococcus aureus	Gélose sang, Chapman (mannitol-sel)	37°C, aérobie ou anaérotolérant	Colonies dorées, élevées, hémolyse β sur gélose sang
Streptococcus pyogenes	Gélose sang enrichie (5% CO_2)	35-37°C, atmosphère enrichie en CO_2	Petites colonies, hémolyse β franche, opalescentes

Streptococcus pneumoniae	Gélose sang, gélose chocolat	35-37°C, 5-10% CO_2	Colonies ombiliquées, alpha-hémolytiques, grises
Klebsiella pneumoniae	MacConkey, EMB	37°C, aérobie	Colonies grosses, muqueuses, lactose + (roses sur MacConkey)

2.4.2 Tests d'orientation :

Des tests qui sont rapide, sans mise en culture (recherche d'oxydase, catalase, nitrate réductase et de coagulase en cas de staphylocoque) **(DAHMAS *et al*.,2022)**

Tableau 2 : Tests d'orientation **(Tortora *et al*., 2018)**

Test	**principe**	**Lecture**	**Exemple positif**	**Exemple négatif**
Catalase	Détection de l'enzyme catalase qui dégrade le **H_2O_2 en O_2 + H_2O**	+ : bulles immédiates (O_2 libéré) – : absence de bulles	*Staphylococcus aureus*	*Streptococcus pyogenes*
Oxydase	Détection de l'enzyme **cytochrome c oxydase** (chaine respiratoire)	+ : coloration bleu-violet < 30 sec – : pas de coloration	*Pseudomonas aeruginosa*	*Escherichia coli*
Réduction des nitrates	Capacité à réduire les **nitrates (NO_3^-)** en **nitrites (NO_2^-)** ou azote	+ : rouge après Griess ou pas de couleur après zinc – : rouge après zinc	*Enterobacter cloacae*	*Acinetobacter baumannii*

2.4.3 Caractères biochimique :

Galerie biochimique :

Il existe principalement deux type de galerie :

Macro galerie : la galerie classique = en tube

Micro galerie : souvent appelée galerie API (Appareils et Procédés d'identification) qui est la plus utilisée. **(DAHMAS *et al.*,2022)**

La galerie miniaturisée et standardisée de tests biochimiques possède :

- Des éléments qui se manifestent sous la forme de petits tubes appelés tubules, ouverts à leur extrémité supérieure par des cupules qui facilitent le remplissage du tubule avec la suspension bactérienne de la bactérie en question.
- Chaque tubule est associé à un test biochimique particulier tel que ONPG, ADH, fermentation du glucose, gélatinase, etc.
- La lecture se réalise en recherchant le changement de couleur d'un indicateur coloré ou suite à l'introduction d'additif (par exemple, l'ajout du réactif de Kovacs dans le tube examinant la production d'indole). **(BENAMARA *et al.*,2024)**



Figure 5 : galerie api20E **(Kernanec., 2024)**

2.5 Etude moléculaire :

2.5.1 Processus de PCR :

La PCR, mise au point par Kary Mullis en 1985, constitue l'une des méthodes les plus significatives en biologie moléculaire. Elle se base sur la capacité des ADN polymérases à synthétiser un brin complémentaire à partir d'une amorce, en présence d'une séquence cible connue. Grâce à l'utilisation de deux amorces particulières, la PCR offre la possibilité d'amplifier de manière exponentielle l'ADN ciblé.

Bien que la PCR semble simple, elle comporte plusieurs risques d'erreurs, en particulier une

En particulier une contamination par des produits d'amplification précédents, ce qui peut affecter la précision des résultats. Il faut donc traiter chaque expérience avec prudence **(Ben Abderrazak., 2004)**.

En général, un cycle de PCR comprend trois phases distinctes :

a- Dénaturation : L'échantillon d'ADN qui renferme la séquence cible est soumis à une température élevée, généralement proche de 95 °C. Ceci favorise la séparation des deux brins d'ADN, créant ainsi des brins simples.

b- Hybridation : lors de cette phase, la température est abaissée (≈56 °C cette température varie selon les amorces utilisées) pour permettre aux amorces de se fixer spécifiquement sur les brins simples d'ADN.

c- Élongation : Une enzyme connue sous le nom d'ADN polymérase, généralement dérivée d'organismes thermophiles (*Thermus aquaticus*), se lie au complexe. L'ADN polymérase produit un nouveau brin d'ADN en incorporant des nucléotides complémentaires à la séquence visée, en se basant sur les amorces comme référence. Pour stimuler l'activité de la polymérase, on élève généralement la température à environ 72°C lors de cette étape.

Ces 3 processus sont généralement répètes plusieurs fois (x39) pour amplifier la séquence d'ADN cible de manière exponentielle **(Ahrberg *et al.*, 2016).**

2.5.2 Gènes de résistance aux antibiotiques :

2.5.2.1 Gène *TEM*

C’est une enzyme produite par certaines bactéries principalement les BGN, elle se trouve souvent sur le plasmide ce qui facilite sa transmission par conjugaison.

La β-lactamase *TEM-1* hydrolyse efficacement les pénicillines et de nombreuses céphalosporines, mais elle n'est pas un catalyseur efficace pour le renouvellement des céphalosporines à spectre étendu. **(Brown *et al.*,2009)**

2.5.2.2 Gène *cmlA* :

Le gène de résistance au chloramphénicol de type *cmlA* est un gène acquis qui code pour une protéine **(***CmlA*) agit comme une pompe à efflux sachant que la résistance bactérienne au chloramphénicol, aussi bien chez les bactéries à Gram négatif que Gram positif, est généralement médiée par cette proteine qui empêche la liaison ultérieure du chloramphénicol à la sous-unité 50S du ribosome**. (Bissonnetteet *et al.*, 1991)**

2.5.2.3 Gène *dfr* :

Le gène de résistance DFR, qui signifie « Dihydrofolate Reductase », est un gène qui manifeste une résistance à plusieurs médicaments, y compris les antibiotiques de type triméthoprime qui est généralement associé avec le sulfamide pour meilleure efficacité sachant que le gène *dfr* (*dfr1, dfr2*…etc.*)* est responsable de la résistance au trimethoprime et le gène *sul* (*sul1* et *sul2*) pour la résistance au sulfamide. Ces médicaments fonctionnent en bloquant l'enzyme dihydrofolate réductase, essentielle pour la production d'ADN et d'ARN chez les bactéries.

Le gène *dfr* code pour une version altérée de cette enzyme, qui ne réagit plus à ces traitements, ce qui permet à la bactérie de persister et de se reproduire en présence de ces antibiotiques**.**

(Sköld, Ola.,2001)

2.5.2.4 Gène *TET* :

De nombreuses espèces bactériennes présentent une large résistance aux tétracyclines, généralement à travers des gènes situés sur des plasmides, notamment ceux des types *tet*(A) à *tet*(E). Ces gènes sont généralement responsables de la production de pompes d'efflux, qui ont pour fonction de éliminer l'antibiotique hors de la cellule, diminuant ainsi son efficacité.

Selon leur structure protéique, ces pompes sont réparties en sept catégories. Les groupes 1 et 2 sont les plus couramment rencontrés en pratique clinique :

Le groupe 1, qui inclut *tet*(A) et *tet*(B), est fréquemment présent chez les bactéries Gram négatif. On rencontre souvent le groupe 2, comprenant *tet*(K) et *tet*(L), chez les bactéries à Gram positif. Ces pompes ont la capacité de reconnaître différentes tétracyclines (telles que la tétracycline, doxycycline et minocycline), mais elles ne sont pas efficaces face à la tigécycline et l'ervacycline. **(Grossman., 2016).**

2.5.2.5 Gène *qnr* :

L'émergence de la résistance aux quinolones est habituellement attribuée à des mutations chromosomiques affectant les gènes gyrA, gyrB, parC et parE, provoquant un changement des cibles bactériennes **(Wang *et al.*, 2006),** ou encore à une réduction de la perméabilité de la membrane et à une surabondance des pompes d'efflux **(Pakzad *et al.*, 2011)**. Néanmoins, des mécanismes plasmidiques ont aussi été détectés, en particulier à travers les gènes qnr, qui codent pour des protéines appartenant à la famille des répétitions pentapeptidiques. Ces protéines défendent l'ADN gyrase et la topoisomérase IV contre les impacts des quinolones **(Rezazadeh *et al.*, 2016).**

Les gènes *qnr*, généralement liés aux intégrons de classe 1, se classent en cinq familles majeures : *qnr*A, *qnr*B, *qnr*C, *qnr*D et *qnr*S. Les plus courantes sont *qnr*A, *qnr*B et *qnr*S. **(Djimabi *et al.* 2019)**

Le gène *qnr*A confère une résistance à l'acide nalidixique et augmente jusqu'à 32 fois la concentration minimale inhibitrice (CMI) des fluoroquinolones chez E. coli. Il stimule également le déclenchement de résistances chromosomiques additionnelles. **(Pakzad *et al.*, 2011)**

2.5.2.6 Gène *aac* :

Le gène aac(6′)-Ib est le gène le plus courant codant pour une enzyme modifiant les aminoglycoside et conférant une résistance à la tobramycine, à la streptomycine et à la kanamycine. Le gène aac(6′)-Ib-cr confère une résistance tant aux aminoglycosides qu'aux fluoroquinolones (FQ) **(Gharbi *et al.*,2023)**

Ces enzymes transforment les aminoglycosides en ajoutant un groupe acétyle, ce qui les rend inactifs et confère une résistance à ces antibiotiques **(Costa *et al.*, 1993)**

2.5.3 Conservation des souches

Le but de conservation est de garder la viabilité des souches pour une période précise sachant qu'il existe plusieurs méthodes tels que :

- Pour des conservations de courte durée, les bactéries peuvent rester viables quelques jours à température ambiante sur des milieux solides comme la gélose au sang (BAB), TSA ou HIA, à condition d'éviter les milieux contenant des sucres (risque d'acidification).
- Pour des conservations prolongées, des méthodes plus avancées comme la congélation à -70°C, la congélation dans l'azote liquide ou la lyophilisation sont nécessaires, avec des milieux spécifiques (glycérol, lait écrémé, sérum...) **(standardisation des tests aux antibiotiques à l'échelle nationale., 2020).**

2.5.4 Extraction d'ADN :

L'extraction des acides nucléiques présente la première étape de toute recherche en biologie moléculaire, et est par conséquent perçu comme un processus essentiel. L'ADN peut être isolé de différentes sources, allant des prélèvements cliniques comme les empreintes digitales, aux tissus

des végétaux et animaux, en passant par les protozoaires, les bactéries et les levures...
L'extraction d'ADN repose sur les phases suivantes :

- Dégradation des membranes cytoplasmiques et nucléaires.
- Isolement et purification de l'ADN à partir d'autres éléments du lysat cellulaire comme les lipides, les protéines, autres acides nucléiques... etc.
- Concentration et purification de l'ADN.

Il est essentiel de garantir la qualité et le quantité d'ADN extrait lorsque l'on sélectionne une méthode appropriée, afin d'être capable de mener les applications prévues par la suite **(Shetty., 2020).**
Les méthodes d'extraction des acides nucléiques peuvent être classées en deux types différents :

- Les méthodes en solution (comme la méthode au phénol-chloroforme)
- Les méthodes basées sur la phase solide (comme les billes magnétiques ou les colonnes de centrifugation) **(anonyme, clinisciences.com)**

2.6 Antibiogramme :

2.6.1 Définition

L'antibiogramme est une méthode visant à anticiper la sensibilité ou la résistance d'une bactérie face à un ou plusieurs antibiotiques, principalement dans un contexte thérapeutique **(Jehl *et al*., 2015).**
Il existe diverses méthodes tels que :

- Méthodes de diffusion sur un milieu gélosé :

Ensemencement de l'inoculum bactérien sur une gélose (gelose Müeller-Hinton est considéré comme le meilleur milieu solide pour ce test de routine) de manière homogène ce que permet la diffusion depuis le disque d'antibiotique utilisé **(Lalitha., 2004).**

- Méthodes de dilution :

Les méthodes de dilution sont employées pour déterminer la concentration minimale inhibitrice nécessaire pour inhiber ou éliminer le micro-organisme. On peut y parvenir en diluant l'antimicrobien dans des milieux soit d'agar soit de bouillon **(Lalitha., 2004).**

2.6.2 Technique d'ensemencement et condition d'incubation :

2.6.2.1 Préparation de l'inoculum

Quelques colonies identiques, bien isolées, provenant d'une culture pure et jeune, sont prélevées à l'aide d'une anse de platine, puis sont transférées dans de l'eau physiologique stérile. La suspension est ensuite agitée vigoureusement, tout en vérifiant l'opacité et la densité optique (DO) du mélange.

2.6.2.2 Ensemencement

L'écouvillon est imprégné de la suspension préparée, puis est passé sur toute la surface de la gélose, en effectuant des stries serrées de haut en bas, en deux passages. L'ensemencement est complété en frottant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

2.6.2.3 Application des disques d'antibiotiques

Dans chaque boîte de 90 mm, le nombre de disques ne doit pas dépasser six. Chaque disque est placé et pressé à l'aide d'une pince bactériologique stérile. Une fois en contact avec la gélose, le disque ne doit plus être déplacé.

2.6.2.4 Conditions d'incubation

La température, la durée et l'atmosphère d'incubation sont ajustées en fonction du germe testé. **(Standardisation des tests aux antibiotiques à l'échelle nationale., 2020).**

2.6.3 La lecture :

La lecture est effectuée après une incubation de 18 à 24 heures en se basant sur le diamètre des zones d'inhibition, elle peut être réalisée de manière manuelle ou automatique **(Lalitha., 2004).**

Dans le cas de lecture manuelle, les résultats finals sont obtenus après une comparaison des mesures des zones d'inhibition avec les valeurs critiques ce que permet de classer la bactérie au tant qu'une bactérie résistante R, sensible S ou intermédiaire I.

Ces valeurs critiques figurent dans les tables de lectures (voir annexe) **(standardisation des tests aux antibiotiques à l'échelle nationale., 2020).**

2.7 Recherche des BMR :

2.7.1 Définition :

Les Bactéries Multi Résistantes aux antibiotiques (BMR) sont des bactéries qui conjuguent plusieurs mécanismes de résistance à plusieurs familles d'antibiotiques, ce qui limite les possibilités thérapeutiques en cas d'infection **(Meunier *et al.*, 2016)**.

2.7.2 BLSE :

Les Bêta-Lactamases à Spectre Élargi (BLSE) sont considérés comme une grande famille d'enzymes bactériennes apparue dans les années 1980 en France et en Allemagne. Elles sont majoritairement codées par des plasmides, ou proviennent de mutations génétiques chez des bactéries telles que *Klebsiella spp*, ce qui permet aux bactéries d'hydrolyser une vaste sélection de pénicillines, céphalosporines (comprenant celles de troisième génération) et monobactames. Les BLSE sont fréquemment des variantes naturelles de bêtalactamases, telles que TEM-1, TEM-2 et SHV-1. L'acide clavulanique, le tazobactam et le sulbactam les inhibent, cependant, elles ne réalisent pas l'hydrolyse des céphamycines ni des carbapénèmes (IMP).

L'émergence de ces bactéries est liée à l'utilisation courante des céphalosporines et des quinolones, et leur présence est fréquemment associée à une résistance face aux fluoroquinolones **(Vora *et al.*, 2009).**

Dans le domaine clinique, les BLSE confèrent une résistance à la majorité des bêtalactamines habituellement administrées, entraînant des infections sévères aussi bien en milieu hospitalier qu'au sein de la communauté. Les carbapénèmes soutiennent la thérapie optionnelle. L'usage approprié des antibiotiques est essentiel pour limiter leur diffusion **(Vora et al., 2009).**

Dans le cas des entérobactéries on peut détecter les BLSE par plusieurs tests tels que :

- Test de synergie : ce test consiste de placer un disque de AMC (amoxiciline + acide clavulanique) à 30mm centre à centre d'un disque de C3G (cefalosporine de 3eme génération) puis après incubation, la production de BLSE se traduit par l'apparition de l'image de synergie ou appelée aussi le bouchon de champagne entre les disques. **(Ouar.,2008)**



Figure 6 : test de synergie BLSE+/BLSE- **(Ouar.,2008)**

- Test du double disque (test de confirmation) :

Il s'agit de placer un disque d'AMC et un disque de céphalosporine de troisième génération à une distance de 30mm (du centre du premier au centre du second), puis de laisser les antibiotiques se diffuser pendant une heure à température ambiante. Une fois la diffusion terminée, on retire le disque d'AMC et on le remplace par un disque de CTX.

Le test du double disque est positif quand le diamètre d'inhibition du disque de céphalosporine de 3eme génération appliqué après diffusion du disque AMC ou TCC est supérieur ou égal à 5mm par rapport au diamètre d'inhibition du disque de céphalosporine de 3eme génération seul, ce qui indique une production d'une BLSE **(Ouar.,2008).**



Figure 7 : test du double disque BLSE+ **(Ouar.,2008)**



Figure 8 : test du double disque BLSE- **(Ouar.,2008)**

2.7.3MRSA/SARM :

Le *Staphylococcus aureus* est une bactérie qui peut provoquer une infection mais elle résiste aux antibiotiques (généralement aux bêta-lactamines), on l'appelle *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) **(the Ottawa Hospital.,2017).**

S.aureus est responsable de près de 20% des infections nosocomiales, les infections cutanées et les infection de site opératoire . Dans moins de 30% des cas, il est résistant à la pénicilline (SARM) **(Meunier *et al.*, 2016)**.

La détection des MRSA est réalisée par l'utilisation de la céfoxitine en remplacement de l'oxaciline. Pour le *S.aureus*, l'existence de résistances associées comme celle aux fluoroquinolones permet de suspecter la résistance à la méticilline **(Cattoir *et al* .,2016).**

2.8 Diagnostic indirect :

Le diagnostic indirect des infections cutanées repose sur Le bilan inflammatoire qui peut inclure des examens sanguins tels que la vitesse de sédimentation (VS), la protéine C réactive (CRP), et la numération formule sanguine (NFS) pour évaluer l'intensité de la réponse inflammatoire (le nombre de polynucléaire PN). Des examens d'imagerie comme les radiographies peuvent également être utiles, notamment dans les infections nécrosantes de la peau. Il est également essentiel de faire appel à la sérologie afin de distinguer les affections cutanées d'origine virale des autres formes d'infections bactériennes, dans un objectif de diagnostic différentiel.

(Wingfield *et* Rehmus., 2023).

Il est également possible d'observer des infections cutanées d'origine virale qui entraînent des éruptions légères et résolutives spontanément (telles que la varicelle, la rougeole, le zona) aux lésions plus durables ou graves (comme certaines verrues, le molluscum contagiosum, ou les manifestations cutanées de l'herpès simplex ou du VIH). L'identification de ces maladies virales cutanées peut parfois être complexe, ce qui rend le diagnostic indirect d'une grande importance **(Léger.,2022).**

3 Phase post-analytique

3.1 Incrimination des germes responsables :

Les suppurations cutanées sont majoritairement causées par des bactéries pyogènes, notamment le Staphylococcus aureus, considéré comme l'agent pathogène le plus fréquent pour sa capacité à produire des enzymes comme la coagulase et des toxines cytolytiques qui favorisent l'inflammation purulente telle que des abcès, furoncles et infections cutanées post-traumatiques On retrouve souvent d'autres bactéries, y compris les entérobactéries telles que *Klebsiella spp*, *Enterobacter spp* et *Proteus spp*, ainsi que *Pseudomonas aeruginosa*, dans les infections chroniques ou nosocomiales, en particulier chez les patients qui ont un système immunitaire affaibli ou qui présentent des plaies ouvertes. Ces microorganismes profitent des déséquilibres locaux ou systémiques pour envahir les tissus cutanés, entraînant une réponse inflammatoire aiguë avec formation de pus. Leur importante incrimination dans les infections cutanées suppuratives met en évidence la nécessité d'une surveillance microbiologique appropriée **(Dryden., 2009)**

Chapitre 4 : Traitement et prévention

Chapitre 4 : Traitement et prévention

1. Traitement :

1.1Traitement médicale :

-Antibiotiques : Ils sont administrés suite à des prélèvements bactériologiques avec antibiogramme dans le but d'identifier le type 'infection en cause et d'adapter la thérapie en conséquence. Il est courant de commencer l'antibiothérapie rapidement, parfois même avant d'obtenir les résultats des tests, en fonction de la gravité de l'infection **(Gauzit *et al.*, 2021)**

-antibiothérapie locale sous forme de crème comme mupirocine 2 à 3 fois par jour en cas de l'impetigo, ou de clindamycine est souvent efficace pour la folliculite **(Rehmus *et* Tesini ,2019)**

-prendre un médicament pour la soulager comme les analgésiques (paracétamol) Si l'infection s'accompagne de fièvre **(vidal recos,2016)**

-Discussion sur un anticoagulant préventif Chez les personnes qui présentant un risque thromboembolique élevé (formation de caillots de sanguin dans les veines profondes en cas de l'érésipèle **(Baptiste.,2024)**

-Évitez certains médicaments en vente libre, tels que les anti-inflammatoires comme l'ibuprofène qui cachent les signes et favorisent les complications **(Gauzit *et al.*, 2021)**

1.2Traitement chirurgical :

-Le débridement se réfère à l'élimination des tissus mous ou de la peau qui sont infectés, dépourvus de vie ou nécrosés

-Drainage d'un abcès **(Gauzit *et al.*, 2021)**

2. Prévention :

2.1Mesures généraux :

-Hygiène quotidienne (nettoyage à l'eau et au savon)

-Évitez de toucher l'infection (cela réduit le risque de complications) **(ROGEAUX,2025)**

-protection des blessures à l'aide de bandages

-Une hospitalisation est nécessaire si des signes généraux marqués, des complications locales, une comorbidité, ou une absence d'amélioration à 72 heures sont présents

(vidal recos,2016).

Tableau 3 : traitement thérapeutique et mesures préventif des principales infections cutanées bactériennes. **(Baptiste.,2024)**

Traitement / Type d'infection	Antibiothérapie orale	Prévention spécifique
Furoncle et anthrax	Adulte: -clindamycine 600 mg x 3/j (4/j si poids > 100 kg) pendant 5 jours -ou pristinamycine 1g x 3/j pendant 5 jours -adaptation à l'antibiogramme et l'évolution Enfant : -amoxicilline/acide clavulanique 80 mg/kg/j (max 3 g/j) en 2-3 prises pendant 5 jours -ou céfalexine 50 mg/kg/j (max 4 g/j) en 2-3 prises pendant 5 jours -si allergie à la pénicilline et +6 ans: clindamycine 30 mg/kg/j (max 1,8 g/j) en 3 prises pendant 5 jours sinon SMX avant 6 ans: sulfaméthoxazole-triméthoprime 30 mg/kg/j de SMX (max 800/160 mg/j) pendant 5 jours **.**	Douches antiseptiques utilisant une solution moussante de chlorhexidine comme savon et shampooing (une fois par jour durant 7 jours), Mise en application de la pommade de mupirocine deux fois par jour sur le nez pendant une semaine (Bactroban, version générique du mupirocine
L'impétigo	antibiothérapie orale durant 7 jours Pristinamycine per os Céfalexine per os réévaluer en fonction des résultats des prélèvements bactériologiques Amoxicilline/acide clavulanique (pour enfant)	L'exclusion scolaire ou de la crèche pour quelques jours (72 heures après le début du traitement antibiotique si les zones ne sont pas couvertes)

Erésypèle	Traitement antibiotique anti-streptocoques Adulte amoxicilline : 50 mg/kg/j en 3 prises, maximum 6 g/j 7jour Si allergie à la Pénicilline : Pristinamycine : 1g x 3/j ou Clindamycine : 600 mg x 3/j, jusqu'à 600 mg x 4/j (P >100 kg) enfant amoxicilline-acide clavulanique : 80 mg/kg/j d'amoxicilline en 3 prises/j (maximum 3g/j) Si allergie à la Pénicilline Clindamycine : 40 mg/kg/j en 3 prises/j (enfants > 6 ans) Sulfaméthoxazole-triméthoprime : 30 mg/kg/j (exprimé en sulfaméthoxazole) en 3 prises/j (forme suspension buvable pour enfants < 6 ans)	ydrater la peau des jambes H avec une lotion ou une crème après le bain -Il est conseillé de laisser ses chaussures respirer, pour les personnes qui ont une insuffisance veineuse chronique pour réduire les œdèmes et à prévenir l'érysipèle **.**
cellulite	Un traitement par voie orale est généralement approprié, souvent à base de dicloxacilline 250 mg ou de céphalexine 500 mg quatre fois par jour. Pour les patients présentant une allergie à la pénicilline, l'utilisation de la clindamycine à raison de 300 à 450 mg trois fois par jour constitue une option de substitution.	Les patients porteurs de bactéries multirésistantes (BMR) doivent être placés en isolement afin de limiter la transmission croisée et de prévenir la propagation de ces agents infectieux
folliculite	un traitement systémique (par exemple, céfalexine 250 à 500 mg par voie orale 3 à 4 fois par jour pendant une durée de 10 jours)	Un nettoyage au peroxyde de benzoyle à 5% peut être effectué pendant 5 à 7 jours lors de la douche - Un montage humide sous hydroxyde de potassium peut être appliqué sur un prélèvement de poils pour éliminer une folliculite fongique.

2.2 Soins des plaies:

- Il est important de désinfecter toute plaie rapidement de veiller à la santé de la peau et d'intervenir rapidement sur les infections fongiques **(vidal recos,2016)**

-Utilisation de pansements appropriés pour conserver un milieu humide favorable à la cicatrisation et protéger la plaie **(Gauzit *et al*.,2021)**

Partie expérimentale

I. Méthodologie

1. Objectifs :

Ce travail vise à:

- Identifier les bactéries responsables des infections suppuratives.
- Déterminer leur profil de résistance aux antibiotiques.
- Détecter les gènes de résistance par PCR.
- Optimiser la prise en charge thérapeutique

2. Période et lieu d'étude :

Notre travail a été effectué au niveau du laboratoire de microbiologie de L'Etablissement Public Hospitalier (EPH) Mohamed Boudiaf de Médéa durant la période allant de 1 mars 2024 au 1 mars 2025. Aussi au sein du laboratoire de microbiologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Yahia Farés à MEDEA.

3. Population d'étude :

Cette recherche a ciblé des patients hospitalisés souffrants de plaies infectées avec formation abondante de pus, des patients de différents services de l'établissement tels que : services de Chirurgie générale, Chirurgie infantile, Postopératoire, médecine interne (homme et femme), Traumatologie (Chirurgie orthopédique) et service maternité(césarienne).

4. Fiche de renseignement :

La fiche de renseignement médicale recueille des informations essentielles sur le patient, notamment son nom, prénom, service d'hospitalisation et sexe. Elle précise également si le patient suit un traitement antibiotique, et le cas échéant, demande d'indiquer lequel. Elle permet d'identifier les symptômes présents, tels que la fièvre, les douleurs locales, la sensibilité, la sensation de chaleur, l'hémorragie ou encore la tuméfaction.

Les facteurs de risque sont aussi pris en compte, incluant les antécédents médico-chirurgicaux, la présence de diabète, les infections post-opératoires, et l'utilisation de dispositifs médicaux comme les sondes, cathéters ou chambres implantables.

Un espace est réservé pour mentionner d'autres facteurs éventuels. Enfin, la fiche s'intéresse à l'examen cytobactériologique des prélèvements cutanés superficiels, en notant la localisation, le

diagnostic présumé (fistule, escarre, plaie infectée post-opératoire ou abcès), le mode de prélèvement (écouvillon, seringue ou pot stérile) ainsi que les éventuels prélèvements associés comme l'hémoculture ou d'autres examens complémentaires (voir annexe).

5. Prélèvement :

Pour chaque patient, le prélèvement a été réalisé à l'aide d'un écouvillon stérile ou de pot stérile qui nécessitent une humidification par l'eau physiologique, sauf dans le cas des biopsies il nécessite un broyage avant l'humidification pour l'isolement des bactéries à partir de la partie la plus purulente.

Le transport de l'écouvillon au laboratoire doit se faire rapidement pour éviter la déshydratation.

- Une fiche de renseignements doit accompagner le prélèvement, indiquant les informations de patient.

- Une coloration de MGG ou coloration avec bleu de méthylène peut être pratiquée pour meilleure observation.

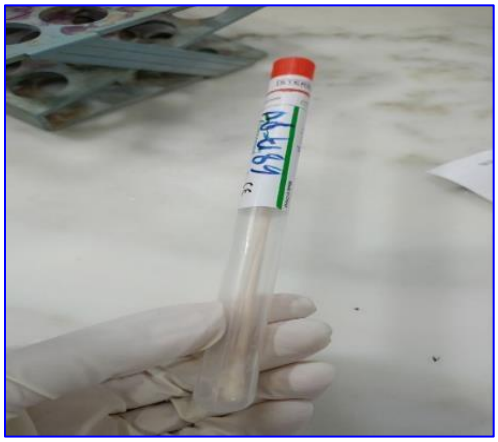


Figure 9 : prélèvement par écouvillon **(photo personnelle)**

6. Etude bactériologique :

Un examen bactériologique est une analyse permet d'identifier et de rechercher les bactéries responsables d'une infection.

6.1 Étude macroscopique :

On observe la couleur (jaunâtre, verdâtre, brunâtre, etc.), la consistance (liquide, épaisse, caséeuse), l'odeur (notamment fétide en cas d'infection anaérobie) du prélèvement.

6.2 Étude microscopique :

Une cytologie sous le microscope a été réalisé pour meilleure identification, l'écouvillon et humidifiée par l'eau physiologique puis une goutte est déposée sur lame propre afin de l'observer.

6.3 Mise en culture et l'isolement des germes :

4 milieux ont été utilisées :



Figure 10 : gélose nutritive **(photo personnelle)**

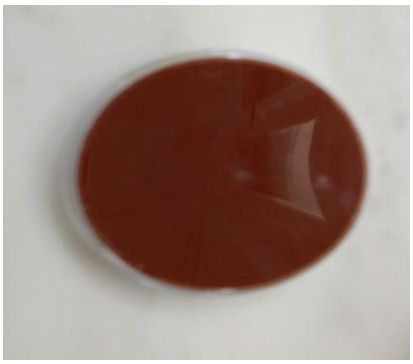


Figure 11 : gélose au sang cuit **(photo personnelle)**

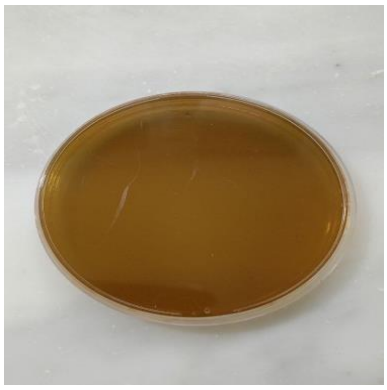


Figure 12 : milieu hektoén **(photo personnelle)**

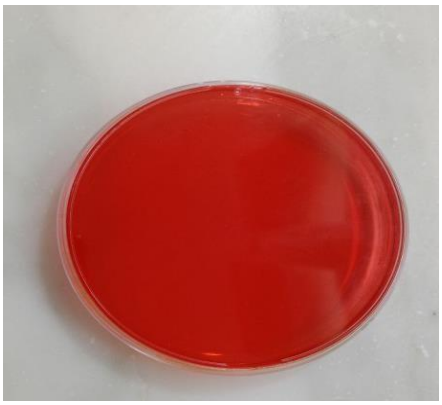


Figure 13 : milieu Chapman **(photo personnelle)**

Technique d'ensemencement : On a utilisé la méthode des quadrants pour L'ensemencement des milieux solide.

Incubation : Incuber pendant 24-48 heures à 37°C.en anaérobiose pour la gélose au sang et les autres milieux en aérobiose

Prélèvement après désinfection

Ecouvillon



seringue



ponction articulaire



biopsie



Etude macroscopique : aspect de prélèvement

Humidification par l'eau physiologique puis agitation par vortex

Broyage + eau physiologique puis agitation par vortex

Etude microscopique : débris cellulaire, leucocytes, germes…

Mise en culture : ensemencement sur 4 milieux par épuisement en stries



Gélose nutritif



Milieu chapman



Gélose au sang cuit



Milieu hektoéne

Incubation 37°c pdt 24h en aérobiose (sauf gélose au sang cuit incubé en anaérobiose)

6.4 Identification :

6.4.1 Identification macroscopique :

L'observation macroscopique consiste à examiner les bactéries ensemencées après l'incubation à l'œil nu après la période d'incubation qui est basée sur l'aspect des colonies, la taille (petites, moyenne, grosses), la forme (plates bombées), la couleur (blanchâtres, grisâtres…etc.) et l'abondance des colonies (rares, nombreuse, très nombreuse).

Tableau 4 : Aspect des colonies **(Koneman *et al*.,2017)**

Milieu de Culture	**Aspect Typique des Colonies**	**Aspect du Milieu**
Gélose Nutritive	**Bactéries non exigeantes** : Colonies variées (blanches, grises, translucides, opaques, lisses etc..) selon l'espéce	Reste blanc cassé. Les colonies sont visibles en surface.
Gélose Chapman	-***Staphylococcus aureus*** : Grosses colonies doré (jaune) trés fins -colonies blanches (s**taphylocoque blanc).**	Le milieu est initialement rouge. Il vire au jaune en cas de fermentation du mannitol et d'acidification
Gélose Hektoen	- Colonies saumon : *Escherichia, Citrobacter, Enterobacter, Serratia* . -Colonies "saumon" à centre noir : *Proteus vulgaris*. -Colonies bleues-vertes ou vertes : différencier de *Proteus morganii* , *Pseudomonas*	-La production d'hydrogène sulfuré (H2S) est caractérisée par des colonies à centre noir -La fermentation d'au moins un des sucres se traduit par une coloration "saumon" des colonies. - L'absence de fermentation se traduit par une coloration bleue ou verte des colonies.
Gélose au Sang	**Streptocoques β-hémolytiques (ex:***S. pyogenes***)** : Petites colonies, entourées d'une large zone claire (hémolyse totale)	Le milieu reste rouge

6.4.2 Identification biochimique

Une série de tests biochimiques est utilisée pour identifier les diverses propriétés métaboliques et enzymatiques spécifiques des différentes espèces bactériennes.

6.4.2.1 Les tests d'orientation :

A. Test coagulase :

Dans un petit tube à essai, le plasma sanguin humain de TP (Temps de Prothrombine) à 100 % a été introduit, puis une suspension bactérienne a été ajoutée à l'aide d'une pipette Pasteur. Le mélange a ensuite été incubé à 37 °C pendant 2 heures, puis la formation d'un corps solide (coagulase +) a été observée, ce qui permet l'identification de *Staphylococcus aureus*.



Figure 14 : test de coagulase **(photo personnelle)**

B. Test staphaurex :

Il consiste à mélanger une goutte de ce réactif avec une à deux colonies bactériennes pendant quelques secondes. Une agglutination est ensuite observée, ce qui rend le test positif et permet ainsi l'identification de *Staphylococcus aureus*.



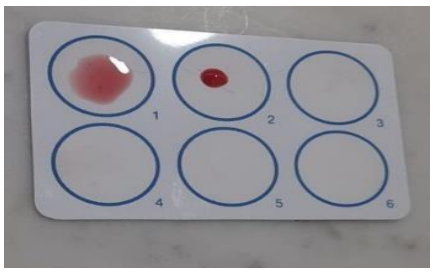


Figure 15 : test de staphaurex ; 1 : test positif **(photo personnelle)**

C. Test oxydase :

Sur un disque d'oxydase commercial déjà imprégné, une colonie bactérienne pure a été prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur**,** puis elle a été frottée sur le disque**.**

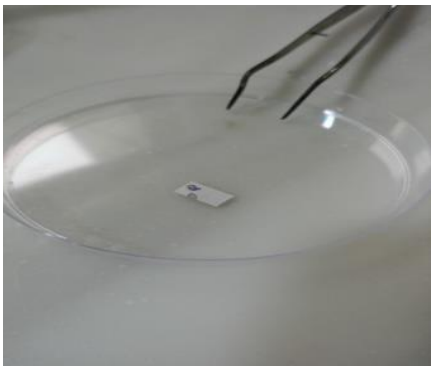


Figure 16 : test oxydase positif **(photo personnel)**

D. Test catalase :

Une goutte de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) a été déposée sur une lame de verre propre. Ensuite, une petite quantité d'une colonie bactérienne a été prélevée à l'aide d'une anse stérile, puis elle a été appliquée directement sur la goutte de H_2O_2.

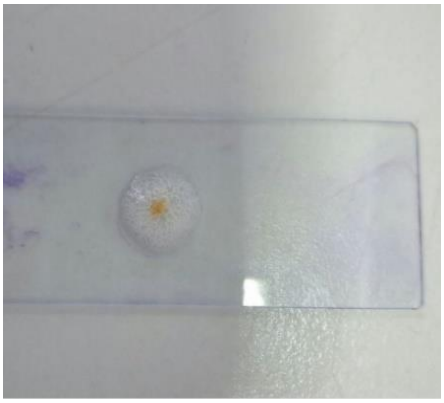


Figure 17 : Test catalase + **(photo personnelle)**

6.4.2.2 Galerie API20E :

Des galeries API20E ont été utilisées, puis inoculées avec la suspension bactérienne conformément aux instructions du kit**.** Elles ont ensuite été incubées à 37 °C pendant 24 heures**.**

La lecture été réalisé selon le virage de couleur de chaque réactif.

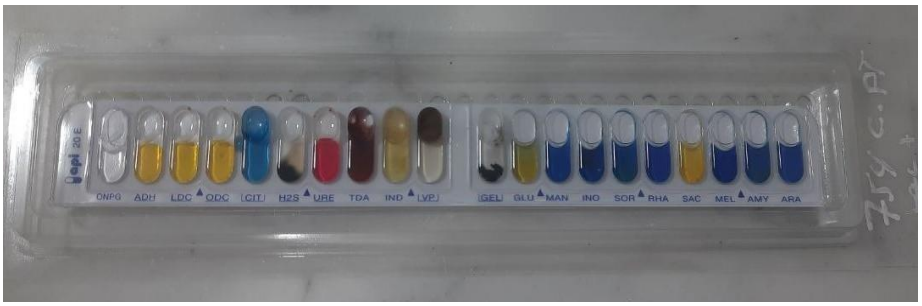


Figure 18 : galerie API20E **(photo personnelle)**

6.5 Antibiogramme :

- La méthode utilisée est l'ensemencement par écouvillonnage en stries serrées (en 3 fois) sur milieu Mueller-Hinton (MH)**.** Cette technique est conforme à la méthode appliquée au niveau de l'EPH, telle que décrite dans le livre de standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale (2020)**.**

- les disques d'antibiotiques utilisés se varie selon le germe désiré, ils sont mentionnés dans des tables (voir annexe)





Figure 19 : ensemencement et application des disques d'antibiogramme **(photo personnelle)**

7 Etude moléculaire :

7.1 Méthode de conservation :

- Dans le milieu liquide : Deux à trois colonies de cultures bactériennes ont été récoltées dans des tubes contenant un mélange composé de 50% glycérol (0.6ml) et de 50% BHIB (0.6ml)

-Dans le milieu solide : Des colonies bactériennes ont été inoculées par piqure centrale dans des tubes remplis d'un milieu de conservation solide

Ces deux méthodes permettent de conserver les souches bactériennes à température ambiante ou au réfrigérateur pendant plusieurs semaines.

7.2 Milieux de réactivation (repiquage) :

Les souches collectées ont été repiquées dans le milieu de gélose nutritive pour passer à l'extraction d'ADN.

Préparation de milieu GN :

La préparation débute par le pesage de 7 g de poudre GN pour 250 mL. Ensuite, 250 mL d'eau distillée sont versés dans un bécher propre, puis la poudre est ajoutée progressivement sur une plaque chauffante avec agitation, à l'aide d'un barreau magnétique placé à l'intérieur du bécher. Une fois le milieu porté à ébullition et devenu homogène**,** il est réparti éventuellement dans un flacon. La stérilisation est ensuite effectuée en autoclave à 120 °C pendant 15 minutes. Après stérilisation, les boîtes sont coulées autour du bec Bunsen**.**



Figure 20 : préparation de milieu GN **(photo personnelle)**

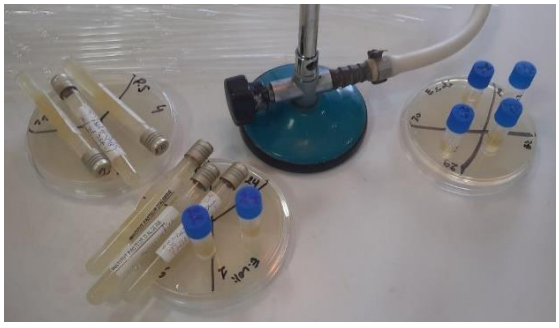


Figure 21 : repiquage des souches conservées sur milieu GN **(photo personnelle)**

7.3 Extraction d'ADN :

A. Les milieux utilisés pour l'extraction d'ADN :

Tableau 5 : les milieux utilisés dans l'extraction d'ADN

Les milieux	Les composants	Le volume
Tampon TE	Tris-cl	1 ml
	EDTA	0.2 ml
	L'eau distillé	98.9 ml
EDTA	EDTA	1.8 g
	L'eau distillé	8 ml
Tris-cl	Tris	1.2 g
	L'eau distillé	8 ml

B. Préparation de l'EDTA :

1.8 g d'EDTA a été dissous dans 8 mL d'eau distillée. Après L'agitation, le NaOH a été ajoutée pour ajuster le pH à 8, le volume total a été complété avec de l'eau distillée, à l'aide d'une éprouvette graduée, jusqu'à atteindre 100ml.

4. Préparation de Tris-HCl :

1.2 g de tris ont été mélangés avec 8 ml d'eau distillée. Après l'agitation de mélange, on utilise le (HCl) pour ajuster le pH de la solution. Le HCL a été ajouté jusqu'à l'ajustement du PH à une valeur de PH=8. Ensuite, l'eau distillée a été ajoutée de manière précise avec une éprouvette graduée pour atteindre un totale de 100ml

5. Préparation de Tampon TE :

Le tampon TE est préparé en mélangeant 1 ml de la solution de Tris et 0,2 ml de la solution d'EDTA, puis en complétant avec 98,8 ml d'eau distillée, pour obtenir un volume final de 100 ml.

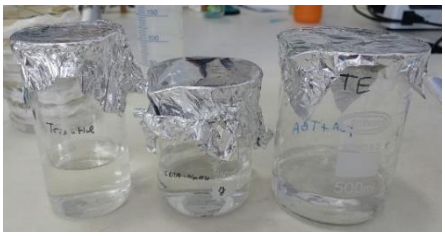


Figure 22 : Tampon TE (Tris + EDTA) **(photo personnelle)**

6. Méthode d'extraction d'ADN :

Dans un Eppendorf stérile contenant 150 µL de tampon TE, 2 à 3 colonies ont été ajoutées (cette étape a été répétée pour les 24 souches sélectionnées pour la PCR).

Les tubes ont été chauffés à 100 °C pendant 10 minutes à l'aide d'un thermo-agitateur.

Ensuite, une centrifugation a été réalisée à 12 000 tr/min pendant 14 minutes à température ambiante.

Le surnageant, contenant l'ADN, a été soigneusement récupéré et transféré dans d'autres Eppendorf stériles, tandis que le culot, contenant les débris cellulaires, a été éliminé**. (Nguyen et al., 2016)**

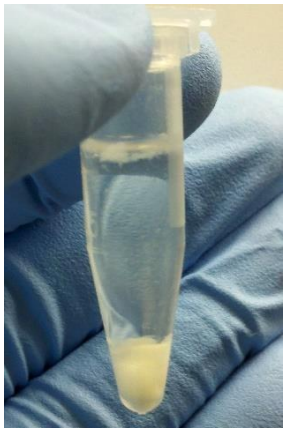


Figure 23 : ADN extrait **(photo personnelle)**

7.4 PCR standard :

Dans la démarche de recherche des gènes de résistance au sein des souches conservées, une analyse sur la présence des gènes codant pour *TEM, cmlA, dfrA1, tet(A), aac(3) et qnr* a été effectuée.
Les amorces ont été préparées selon les instructions du fabricant afin de garantir l'exactitude des résultats.

Les séquences des amorces utilisées sont données dans le tableau suivant :

Tableau 6 : les amorces utilisées et les conditions d'amplification

Gene	primer	Séquence	Germe	Tm(°C)	Durée d'élongation	references
Betalactamas	*TEM*	(F) CATTTCCGTGTCGCCCTTATTC (R) CGTTCATCCATAGTTGCCTGAC	*E. coli Klebsiella pneumoniae*	56°c	1min	(Ashmony et al.2022)
Chloroamphenicol	*cmlA*	(F) CCGCCACGGTGTTGTTGTTATC (R) CACCTTGCCTGCCCATCATTAG	*E.coli Klebsiella pneumonia Pseudomonas aeruginosa Enterobacter spp*	56°c	1min	(Momtaz and Jamshidi., 2012)
Tetracycline	*tet(A)*	(F) GGTTCACTCGAACGACGTCA (R) CTGTCCGACAAGTTGCATGA	*E.coli Klebsiella pneumonia Pseudomonas aeruginosa Enterobacter spp Proteus spp*	60°c	1min	(Momtaz and Jamshidi., 2012)
Quinolones	*qnr*	(F) GGGTATGGATATTATTGATAAAG (R) CTAATCCGGCAGCACTATTTA	*E.coli Pseudomonas aeruginosa Enterobacter spp Proteus mirabilis Klebsiella pneumonia*	55°c	1min	(Momtaz and Jamshidi., 2012)
Trimethoprim	*dfrA1*	(F) GGAGTGCCAAAGGTGAACAGC (R)GAGGCGAAGTCTTGGGTAAAA AC	*E.coli Klebsiella pneuloniae Pseudomonas spp Proteus spp*	55°c	1min	(Momtaz and Jamshidi., 2012)
Aminoglycosides	*aac(3) II*	(F) ACTGTGATGGGATACGCGTC (R) CTCCGTCAGCGTTTCAGCTA	*E.coli Klebsiella pneumonia Enterobacter spp*	60°c	1min	(Momtaz and Jamshidi., 2012)

A. Préparation du Mix de PCR standard :

Les concentrations finales des différents composants des réactions de PCR ont été déterminées conformément aux normes du fabricant.

Pour la préparation d'un mélange réactionnel de 20 µL, les quantités suivantes ont été ajoutées :

2 µL de Buffer B, 0,2 µL de DNA polymérase, 2 µL de $MgCl_2$, 0,2 µL de dNTP, 0,2 µL de GC-rich (commercialisé par SolisBioDyne), 0,5 µL d'amorce Forward, 0,5 µL d'amorce Reverse, ainsi que 9,4 µL d'eau ultra pure sans ADNase ni ARNase.

Ensuite, 5 µL d'ADN ont été ajoutés pour compléter le volume final de 20 µL par test.

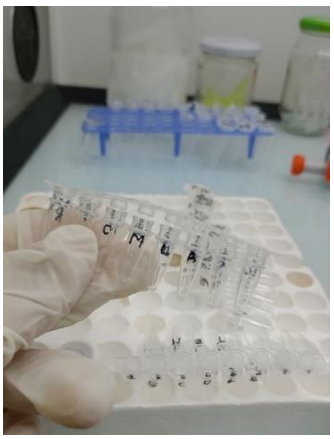


Figure 24 : barrette contenant 8 échantillons (system cmLa) **(photo personnelle)**

B. Programmation PCR standard :

Une PCR standard a été effectuée à l'aide d'un thermocycleur comportant 39 cycles, impliquant une répétition des trois phases clés. La première phase de dénaturation s'est déroulée à une température élevée de 95 °C pendant 15 minutes, suivie d'une seconde phase de dénaturation également à 95 °C, mais pour une durée de 30 secondes. L'hybridation des amorces à la matrice ont été effectuée à une température plus basse (température de fusion Tm selon les amorces utilisées) pendant 30 secondes.

Une phase d'élongation de 1 min à 72 °C, suivie d'une phase d'élongation finale à 72 °C pendant un laps de temps de 5 minutes.



Figure 25 : programmation d'un thermocycleur pour la PCR standard **(photo personnelle)**

7.5 Electrophorèse sur gel d'agarose :

L'électrophorèse de l'ADN sur gel d'agarose est une technique de biologie moléculaire utilisée pour séparer les fragments d'ADN en fonction de leur taille. C'est une méthode peu compliquée, visualisable et cruciale pour analyser l'ADN extrait et vérifier le succès d'une PCR

A. Préparation du Tampon TBE (0.5M) :

La préparation de la solution mère de TBE commence par la dissolution de 0,389 g d'EDTA dans un volume de 2 ml d'eau distillée. Le pH de cette solution est ajusté au ph=8 à l'aide de NaOH. Cette solution d'EDTA est mélangée avec 5,9 g de Tris base et 2,75 g d'acide borique. Le mélange est ensuite complété avec de l'eau distillée jusqu'à atteindre un volume final de 1 litre de tampon TBE de concentration x0.5 prêt à emploie



Figure 26 : tampon TBE x0.5 **(photo personnelle)**

B. Préparation du gel d'agarose :

6 g d'agarose sont ajoutés à 400 ml de tampon TBE, puis le mélange est chauffé au micro-ondes pendant environ 6 minutes jusqu'à dissolution complète. Après refroidissement léger, 50 ml du mélange sont versés dans un flacon, puis 1 µL de Syber Safe est ajouté pour permettre la visualisation de l'ADN sous UV.

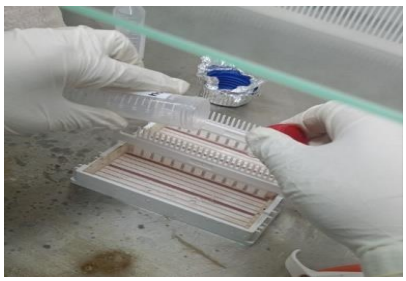


Figure 27 : préparation de gel d'agarose **(photo personnelle)**

C. Electrophorèse :

Le peigne a été retiré et le gel ainsi que son support sont immergés dans la cuve de migration contenant du tampon TBE 0.5X.

5µl du marqueur de poids moléculaire (ladder) ont été déposé dans le dernier puit (13) sans l'ajout de bleu de charge, 6 µl de produit PCR + 2 µl de bleu de charge (loading buffer) ont été déposés dans le reste des puits du gel d'agarose, la migration est effectuée à 1k835 volts pendant 20 minutes.



Figure 28 : Migration d'ADN par électrophorèse sur gel d'agarose **(photo personnelle)**

7.6 Visualisation :

L'observation des fragments d'ADN a été réalisée à l'aide d'un transilluminateur UV. L'incorporation de SYBR Safe dans le gel d'agarose, offre une coloration extrêmement sensible qui rend visible l'ADN sur le gel sous forme de bande fluorescente.

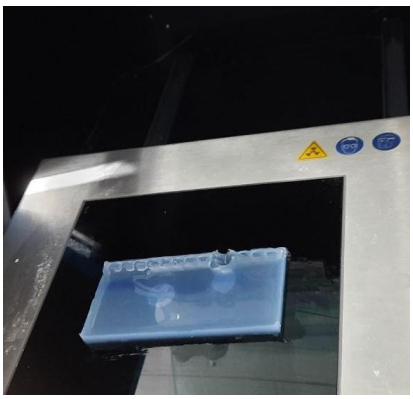


Figure 29 : visualisation d'ADN par transilluminateur **(photo personnelle)**

Résultats

II. Résultats

Etude rétrospective

1. Distribution des souches selon le sexe :

La répartition par sexe de 271 patients dans les différents services hospitaliers est illustré comme suit : Il y a 172 hommes (M) et 99 femmes (f).

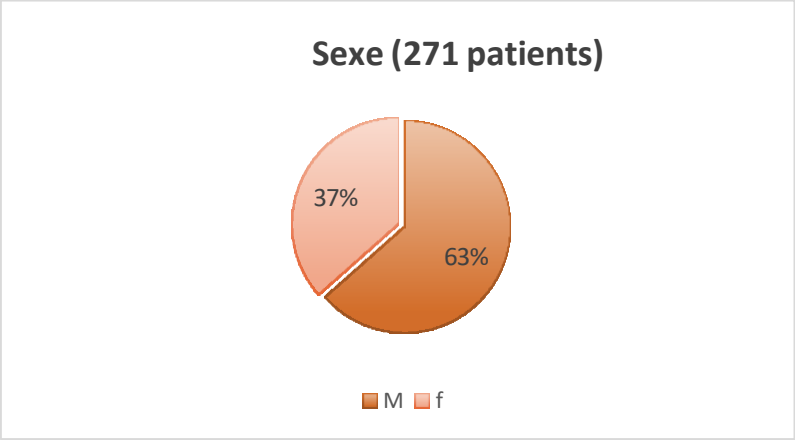


Figure 30 : distribution des souches selon le sexe

Ce graph montre que la plupart des cas étudiés 63% sont présentés par le sexe masculin.

2. Distribution des souches selon l'âge :

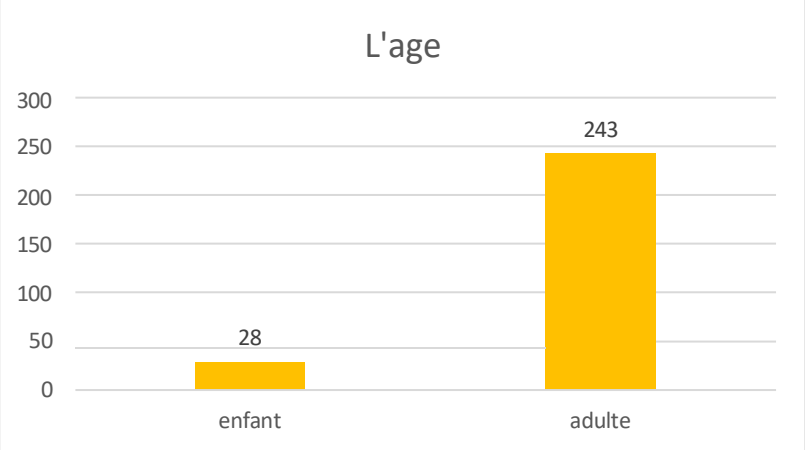


Figure 31 : distribution des souches selon l'âge

On observe que la grande majorité des cas concerne les adultes, avec 243 cas, contre seulement 28 cas chez les enfants. Ceci indique une nette prévalence des adultes dans le groupe étudié, suggérant que la problématique ou la situation examinée affecte principalement les adultes dans ce contexte.

3 Distribution des souches selon le genre/espèces :

Les différents genres et espèces de la population étudiée sont présentés dans le graphe au-dessus :

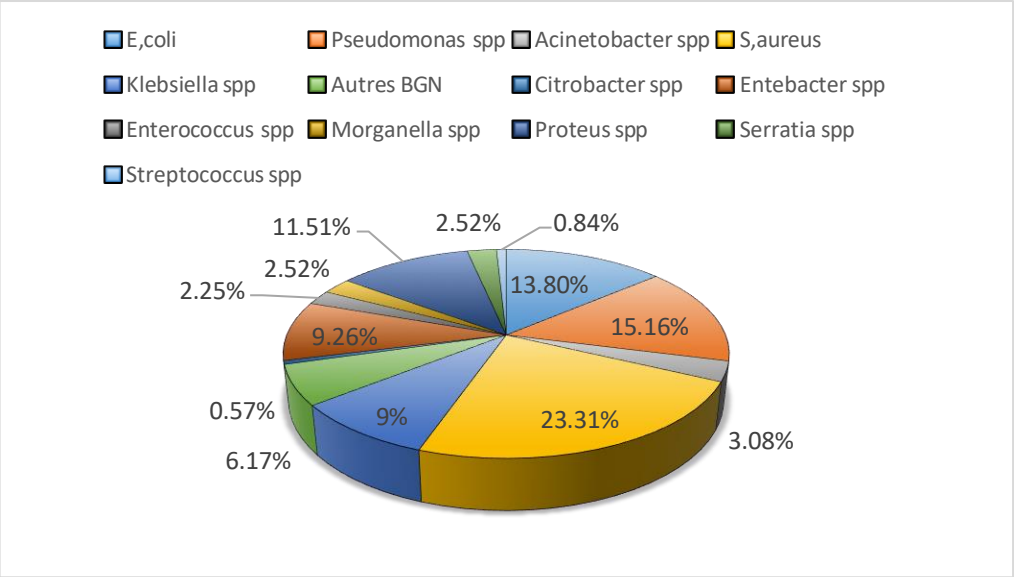


Figure 32 : distribution des souches selon le genre et l'espèce

La diversité bactérienne montre une variété d'agents infectieux, suggérant potentiellement des patients immunodéprimés ou en milieu hospitalier à cause des infection suppurative et nosocomiale, La bactérie la plus fréquente est *Staphylococcus aureus* avec 23.31 % des cas.

4 Distribution des souches selon le service hospitalier :

Ce graphique présente le nombre de cas associés à différents services ou spécialités médicales. Les services sont classés par ordre décroissant, Cela peut indiquer une prévalence de certaines pathologies.

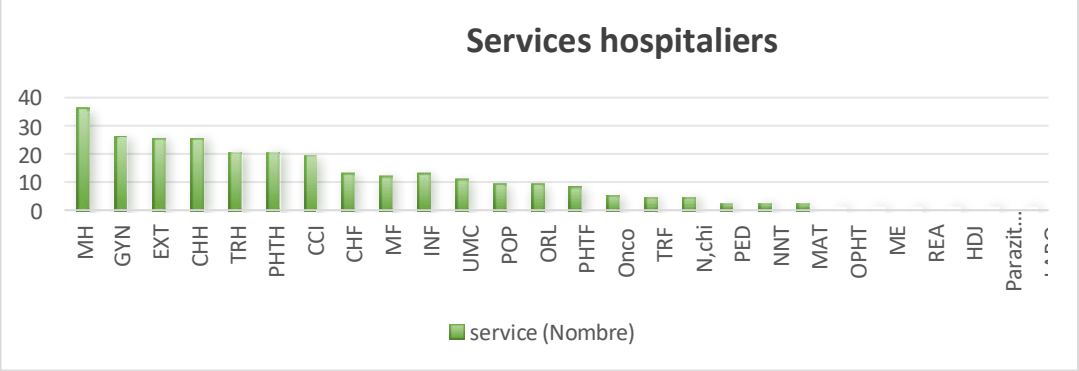


Figure 33 : distribution des souches selon le service hospitalier

Le service MH (Médecine Hommes) compte le plus grand nombre de cas, suivi de près par GYN (Gynécologie), EXT (consultations externes) et CH (Chirurgie hommes). La majorité des cas est centralisée au sein de ces quatre services.

Cependant, les services tels que LABO, Parasitologie, REA, HDJ (hôpital de jour) et SAMU affichent des valeurs très basses, voire inexistantes, signalant un engagement limité ou un nombre insignifiant de cas signalés dans ces secteurs.

5 Distribution des souches selon la résistance et la sensibilité aux antibiotiques :

Le graph au-dessus illustre les pourcentages de résistance (R) et de sensibilité (S) à divers antibiotiques examinés sur une population bactérienne de 271 patients au niveau de l'hôpital de Médéa :

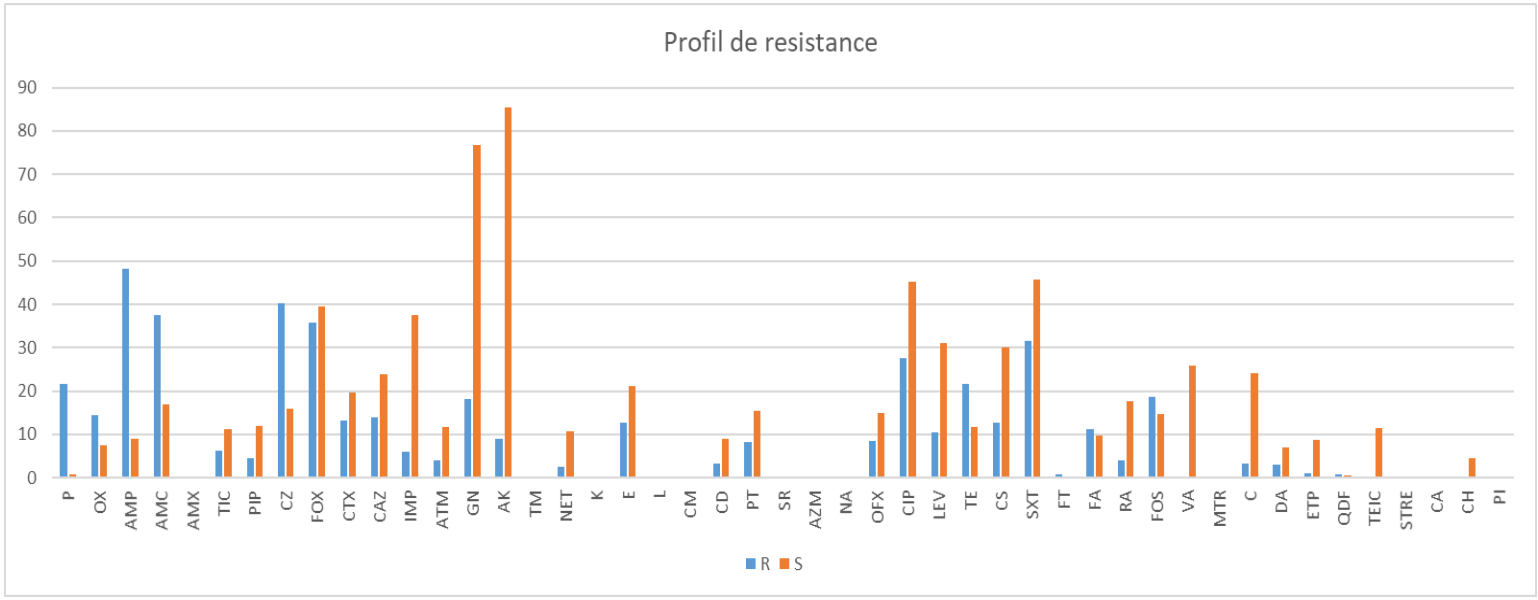


Figure 34 : profil de résistance vis-à-vis les antibiotiques

Grace à ce graphe là on observe une forte résistance face à divers antibiotiques, en particulier les aminosides (GN, AK) et les β-lactamines (AMP, OX, AMC).

Et d'autres antibiotiques tels que la CIP, la LEV et le SXT demeurent efficaces, bien qu'on observe l'apparition de résistances.

Pour quelques antibiotiques, la résistance et la sensibilité se trouvent en équilibre, indiquant une variation dans la réaction bactérienne.

Etudes prospective

1. Distribution des isolats conservées selon la résistance et la sensibilité aux antibiotiques :

Ce graphe représente les resultats d'antibiogramme de la population bactérienne : 24 souches de 5 différents genre et espèces tels que : *E.coli, Pseudomonas spp, Enterobacter spp, Proteus spp* et *Klebsiella spp*, et qu'on a sélectionné pour la PCR en effet ce sont des souches cultivées puis conservées.

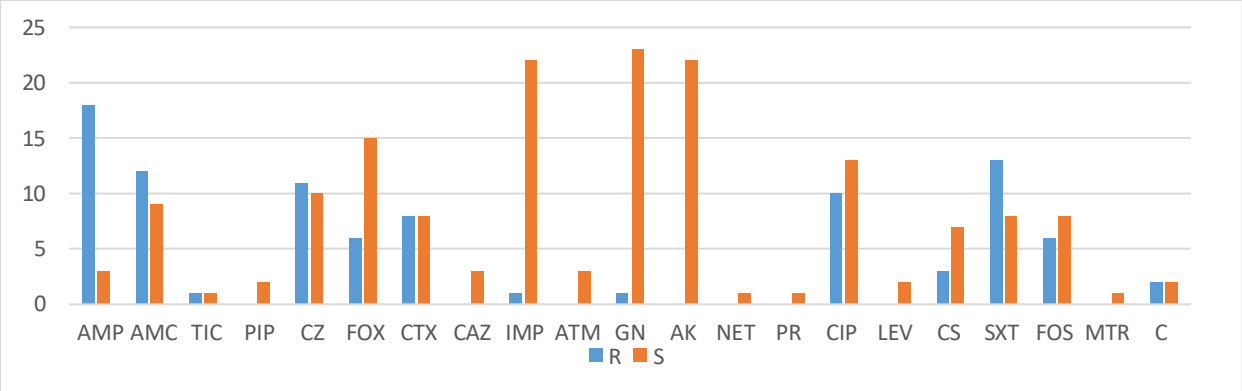


Figure 35 : profil de résistance des isolats (étude prospective) vis-à-vis les antibiotiques

Il est observé que la plupart des bactéries montrent une sensibilité prédominante (S) aux antibiotiques tels que l'ATM, GN, IMP et CAZ. En revanche, une forte résistance (R) est notée pour des antibiotiques tels que l'AMP, l'AMC.

2. Distribution des souches selon les gènes de résistance :

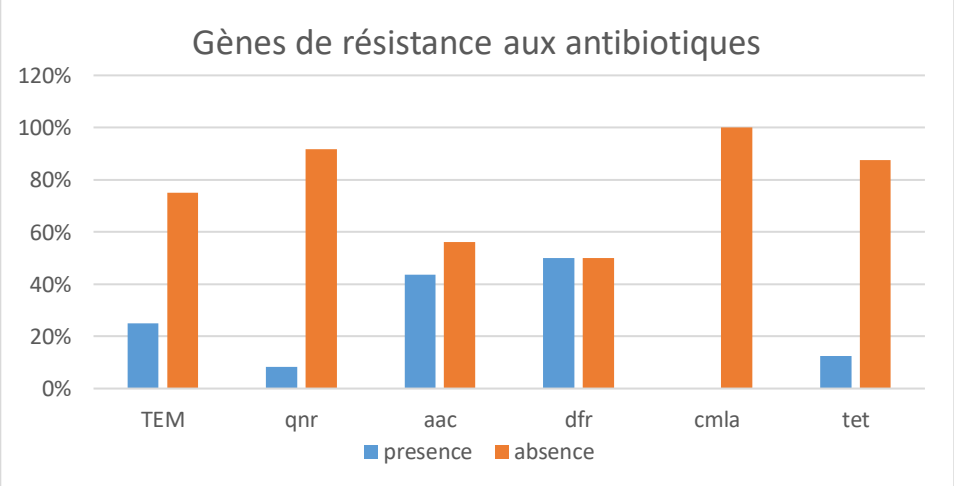


Figure 36 : distribution des souches selon les gènes de résistance

D’après ce graphe des pourcentages du présence et absence des gènes de résistances chez les 24 souches étudiées, on observe que le gène *dfr* est largement répandu parmi les souches analysées. Par contre, l’absence totale du gène *cmLa*

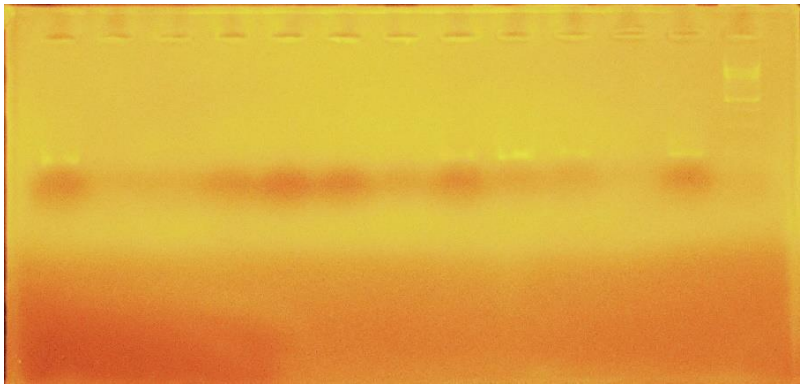


Figure 37 : présence de gène *aac*

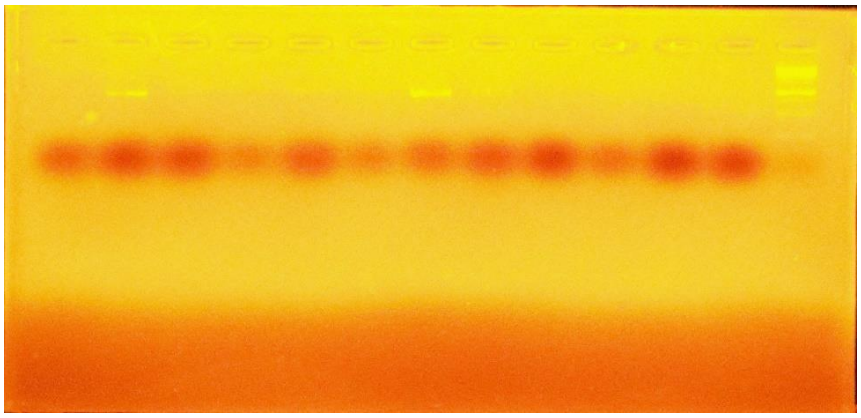


Figure 38 : présence de gène *TEM*

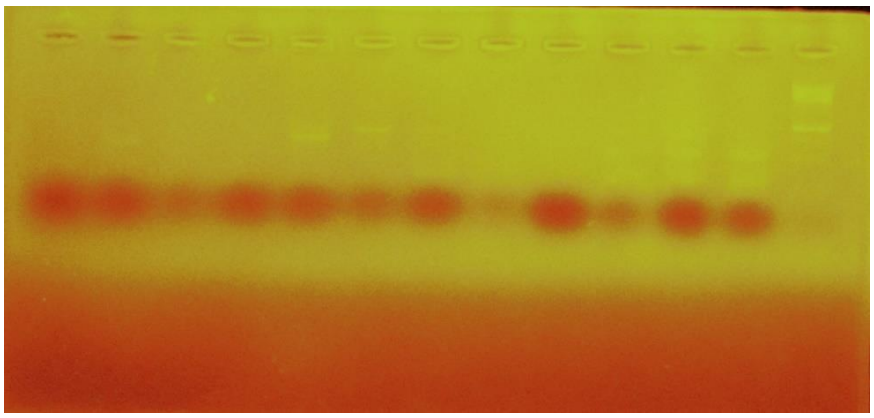


Figure 39 : présence de gène *dft*

3. Distribution des souches selon les clades :

Répartitions des résultats selon les clades (les souches bactériennes regroupées dans un même clade possèdent un patrimoine génétique suffisamment proche pour indiquer une origine évolutive commune**)** circulant pour *E.coli*, *Enterobacter spp*, *Klebsiella spp*, *Proteus spp* et *Pseudomonas spp* au sein de population étudiée.

Les types et les nombre des clades sont mentionnées aux tableaux suivants :

E. coli

Tableau 7 : les types de clades chez les *E.coli*

Les souches	type de clade	TEM	TET	aac	Qnr	dfr	CMLA	nombre
1		A	A	P	A	A	A	1
2		P	A	A	A	P	A	2
3		A	A	A	A	A	A	0
4		A	A	A	A	A	A	0
5		A	A	A	A	P	A	1
6		A	P	A	A	P	A	2
7		P	P	A	A	A	A	2
8		P	A	P	P	A	A	3
9		A	P	P	A	A	A	2

A : absence, P : présence

Klebsiella spp :

Tableau 8 : les types de clades chez les *Klebsiella spp*

Les souches	type de clade	TEM	CMLA	TET	Qnr	dfr	aac	nombre
1		A	A	A	A	A	P	1
3		A	A	A	A	A	P	1
2		A	A	A	A	A	A	0

Pseudomonas spp :

Tableau 9 : les types de clades chez les *Pseudomonas spp*

les souches	type de clade	CMLA	TET	Qnr	dfr	nombre
1	1	A	A	A	P	1
2	1	A	A	A	P	1
3	1	A	A	A	P	1

Proteus spp :

Tableau 10 : les types de clades chez les *Proteus spp*

Les souches	type de clade	TET	Qnr	dfr	nombre
1	1	A	A	A	0
2	2	A	A	P	1
3	2	A	A	P	1
4	2	A	A	P	1
5	2	A	A	P	1

Enterobacter spp :

Tableau 11 : les types de clades chez les *Enterobacter spp*

Les souches	type de clad	cmLa	TET	qnr	aac	nombre
1	1	A	A	P	A	1
2	2	A	A	A	P	1
4	2	A	A	A	P	1
3	3	A	A	A	A	0

D'après ces tableaux, on observe que les différentes souches appartiennent à des clades distincts. En effet les 9 souches d'*E. coli* se répartissent en 8 clades différents, les 4 souches d'*Enterobacter spp* en 3 clades, les 5 souches de *Proteus spp* et les 3 souches de *Klebsiella spp* en 2 clades. Cependant on note que les 3 souches de *Pseudomonas spp* se répartissent en même clade.

4. Distribution des souches selon le génotype et le phénotype :

E.coli

Tableau 12 : La distribution des souches de *E.coli* selon le génotype et le phénotype des souches par rapport aux antibiotiques

Le système *TEM*

Souches	TEM	AMP	AMC	CZ	FOX	CTX	IMP
1	A	R	R	R	R	R	S
2	P	R	R	S	S	S	S
3	A	S	S	S	S	S	S
4	A	R	S	S	S	S	S
5	A	R	R	S	S	S	S
6	A	R	S	S	S	S	-
7	P	R	R	R	S	R	S
8	P	R	S	S	S	S	S
9	A	R	R	R	S	R	S

A : absence, P: présence, R : resistant, S: sensible

Les systèmes *Qnr, aac, dfr, CMLA et TET*

Souches	Qnr	CIP	aac	GN	AK	dfr	SXT	CMLA	CL	TET	TE
1	A	S	P	S	S	A	S	A	-	A	-
2	A	S	A	S	S	P	R	A	-	A	-
3	A	S	A	S	S	A	S	A	-	A	-
4	A	S	A	S	-	A	S	A	-	A	-
5	A	S	A	S	S	P	S	A	S	A	-
6	A	R	A	S	S	P	R	A	S	P	-
7	A	R	A	S	S	A	R	A	-	P	-
8	P	R	P	S	S	A	S	A	-	A	-
9	A	R	P	S	S	A	R	A	-	P	-

Proteus spp

Tableau 13 : La distribution des souches de *Proteus spp*_selon le génotype et le phénotype des souches par rapport aux antibiotiques.

Souches	Qnr	CIP	dfr	SXT/COT	TET	TE
1	A	S	A	R	A	-
2	A	R	P	R	A	-
3	A	S	P	S	A	-
4	A	S	P	S	A	-
5	A	R	P	R	A	-

Enterobacter spp

Tableau 14 : La distribution des souches de *Enterobacter spp* selon le génotype et le phénotype des souches par rapport aux antibiotiques.

Souches	qnr	CIP	aac	GN	AK	cmLa	CL	TET	TE
1	P	S	A	S	S	A	-	A	-
2	A	S	P	S	S	A	-	A	-
3	A	-	A	S	S	A	-	A	-
4	A	R	P	S	S	A	R	A	-

Klebsiella spp

Tableau 15 : La distribution des souches de *Klabsiella spp* selon le génotype et le phénotype des souches par rapport aux antibiotiques.

Souches	TEM	AMP	AMC	CZ	FOX	CTX	IMP	Qnr	CIP	aac	GN	AK	dfr	SXT	CMLA	CL	TET	TE
1	A	R	R	R	R	R	S	A	R	P	S	S	A	R	A	-	A	-
2	A	R	S	S	S	S	S	A	R	A	S	S	A	R	A	-	A	-
2	A	R	R	R	R	R	S	A	R	P	R	-	A	R	A	-	A	-

Pseudomonas spp

Tableau 16 : La distribution des souches de *Pseudomonas spp selon* le génotype et le phénotype des souches par rapport aux antibiotiques.

Souches	qnr	CIP	dfr	SXT	cmLa	CL	TET	TE
1	A	S	P	-	A	-	A	-
2	A	S	P	-	A	-	A	-
3	A	S	P	-	A	-	A	-

On observe dans d'après ces tableaux qu'il y a une compatibilité entre le phénotype et le génotype dans certaines souches étudiées. Toutefois, d'autres souches présentent une incohérence marquée.

Discussion

III. Discussion

Les échantillons de pus, quelle que soit leur source, sont régulièrement analysés dans l'établissement. Nous avons observé qu'ils proviennent généralement de patients hospitalisés dans des services médico-chirurgicaux et chirurgicaux tels que le service médecine homme (MH) avec un nombre de 36 cas (13.28%) comprenant des patients admis pour prise en charge des pieds diabétiques. Cette observation est également confirmée par plusieurs autres études, dont une effectuée au Sri Lanka par **(Shioya, Sato *et al.*, 2018)** qui indique que 35,4% des échantillons de pus provenaient de patients en chirurgie tandis que 33,6% étaient issus de patients admis dans des services médicaux.

Pour ce qui concerne la répartition des isolats selon le sexe, cette étude a montré que le sexe masculin est le plus dominant avec 63%, Cela serait relationnel à une combinaison de facteurs biologiques, immunologiques et comportementaux. D'un côté hormonal, la testostérone présente chez l'homme a un effet d'immunosuppression, tandis que les œstrogènes chez la femme renforcent le système immunitaire. De plus, divers comportements, comme l'engagement plus régulier dans des activités physiques ou professionnelles dangereuses, une hygiène cutanée moins stricte, ou encore une consultation médicale retardée, peuvent augmenter le risque d'apparition et la gravité des infections. D'un point de vue physiologique, la peau masculine, étant plus épaisse et plus abondante en glandes sébacées, fournit un milieu favorable à la multiplication de bactéries comme Staphylococcus aureus **(Fimmel *et al.*, 2005).** Ce résultat est cohérent avec ceux cités par **(Oninla *et al.*,2017)** qui est un article de revue réunit les études actuelles sur l'impact des hormones sexuelles sur l'apparition et la fréquence de différentes pathologies cutanées.

Cette étude montre que l'agent infectieux dominant est le *staphylococcus aureus* avec pourcentage de 23.31%, cela peut être expliquée par la nature de ce germe qui prend la peau humaine comme habitat naturel. Ce résultat est compatible avec ceux mentionnés par **(Becker *et* Bubeck Wardenburg., 2015).**

Les résultats d'antibiogrammes on observe qu'il y a une similarité de résistance aux bêta-lactamine chez les 2 populations étudiées : une pour l'étude rétrospective (271 patients pendant 1 an), et l'autre pour l'étude prospective (32 souches isolées). Sur le plan des 32 isolats étudiés une forte résistance (R) est notée pour des antibiotiques tels que l'AMP (75%),

l'AMC (50%), Cela peut être expliqué par la capacité des BGN de synthétiser une β-lactamase AmpC chromosomique. L'amoxicilline, l'acide clavulanique, la ticarcilline et les céphalosporines de première génération stimulent fortement cette enzyme, entraînant une hydrolyse rapide de ces substances dans l'espace périplasmique et provoquant ainsi une résistance intrinsèque **(Ruppé *et al*.,2015)**, et par l'usage excessif à ces antibiotiques au sein de nos établissements de santé, ainsi que par l'automédication, et l'étude réalisé par Amraoui et al en 2022 qui indique un taux de résistance modéré pour Amoxicilline (AMX) 54.54 % , Amoxicilline + ac.clavulanique (AMC) 45 ,46% confirme ces résultats **(Amraoui *et al*., 2022).**

Concernant l'imipenème, les bactéries étudiées présentent une sensibilité de presque 92%. Ce qui signifie l'absence d'émergence de ces isolats résistantes à l'imipenème. Ceci est proche avec les résultats publiés par **(Sangare *et al*.,)** qui a trouvé une sensibilité de (100%).

Une sensibilité prêt de 96% est noté concernant les aminosides tels que GN et Ak, Cela est en accord avec les résultats menés par **(Fadel *et al*.,2023)** qui ont trouvé aucune résistance mais une sensibilité de 100% ce que présentent une bonne activité sur les souches identifiées grâce à leurs action en se fixant sur la sous-unité 30S du ribosome bactérien, bloquant la synthèse des protéines bactériennes de manière bactéricide rapide **(Brian., *2024).***

Les résultats de la PCR montrent que le gène de résistance *dfr* a marqué une large abondance parmi les souches examinées avec un pourcentage de 50% proche de cela trouvé dans l'étude effectuée en Iran par **(Karimpour *et al*. 2019)** qui ont marqué un pourcentage de 63.15%.

Le gène *aac* arrive en deuxième lieu avec 43.75% des isolats testées. Cependant dans une étude menée en 2023 par **(Bengherbia *et al*.,2023)** ont révélé l'absence totale de ce gène, malgré les deux études ont effectués dans la même région mais dans différentes période d'étude, Nous avons obtenu des résultats complètement différents.

Un taux de 25% a été atteint par le gène *TEM*, ces résultats sont cohérents avec d'autres études menées à Mansoura en Egypte par **(Younis *et al*. 2017)** a montré une proportion également la même (25%). Et un taux de 12.5% par le gène *tet* peut être due à la non utilisation des tétracyclines dans le traitement de la plupart des infections, alors que qu'en Egypte un taux de présence de 100% a été marqué par **(Younis *et al.* 2021).** Nos résultats étaient proche des études en Romannie par Butiuc-Keul qui a rapporté 9,09 % des isolats possédaient le gène tet(A) **(Butiuc-Keul *et al*., 2021).** Au sujet des gènes *qnr*, on a marqué le plus faible taux de 8.33% et absence absolu du gène *cmLa*,

comparativement, dans les souches étudiées dans une autre étude en Iran **(Karimpour *et al*. 2019)** où le taux de présence était de 5.26% pour le gène cmlA.

Selon les données de distribution des divers clades, notre étude a permis d'observer que les différentes souches appartiennent à des clades distincts. En effet les 9 souches d'*E. coli* se répartissent en 8 clades différents, les 4 souches d'*Enterobacter spp* en 3 clades, les 5 souches de *Proteus spp* et les 3 souches de *Klebsiella spp* en 2 clades, et ce qu'indique une diversité génétique au sein de cette population bactérienne, cette variation peut être attribuée à des sources distinctes, comme différents types d'infections. Cela peut aussi résulter de mutations qui se sont progressivement accumulées dans ces gènes testés **(Van Rossum *et al*., 2020)**. Cette attribution signale donc une évolution indépendante ou une adaptation à diverses situations biologiques ou cliniques, ce qui suggère qu'elles n'ont pas toutes un ancêtre commun récent et qu'elles ont évolué sous diverses pressions de sélection.
Toutefois, il est observable que les 3 souches de *Pseudomonas spp* se regroupent au sein d'un même clade, ce qui suggère une diversité génétique minimale entre elles. Cela peut s'expliquer par une stabilité génétique, une origine évolutive commune, ou encore par le fait qu'elles proviennent d'un même type d'infection.

Dans notre analyse, nous avons obtenus des résultats de concordance ce qui confirme les résultats phénotypiques et génotypiques, sauf dans certains cas qu'on a remarqué une contradiction entre les résultats phénotypiques et génotypiques concernant certains gènes de résistance dans les espèces analysées.

Effectivement, la présence du gène avec sensibilité phénotypique indique que peut être cette bactérie n'exprime pas/plus ce gène de résistance, soit à cause de mutation soit à cause d'une répression appliquée sur ce gène-là. Sans oublier la possibilité des erreurs de manipulation ou de contamination ce qui favorise ces fautes. Éventuellement, le gène de la pompe à efflux (qui est une protéine membranaire bactérienne utilisée pour expulser activement les antibiotiques hors de la cellule) est présent dans le génome, peut être donc est détecté par PCR mais non exprimé ou peu exprimé (faible transcription), ou que la protéine n'est pas active à cause de mutations non détectées ce que résulte un faux positif en PCR.

Alors que l'absence du gène vis-à-vis une résistance phénotypique peut être dû à la faible spécificité des amorces aux gènes testés sachant que les amorces utilisées dans la PCR ciblent généralement un système de résistance commun à plusieurs antibiotiques d'une même famille.

Toutefois, ce mécanisme ne garantit pas une résistance à toutes les molécules de la famille, ni une expression suffisante pour produire un impact phénotypique, donc la contradiction entre le génotype et le phénotype est possible. Ou bien c'est dû à l'antibiogramme, en effet la raison repose sur la probabilité des disques d'être déchargés ou périmés ou ils soient contenant des molécules non convenables au antibiogramme par diffusion. Autrement, l'association de résistance qui indique la présence de 2 gènes ou plus sur les mêmes intègrons (par exemple : le CIP et le SXT).

Il est important de souligner que la difficulté de déduire la sensibilité par les disques de certains antibiotiques par la démarche habituelle (diffusion) tels que la colistine pour les BGN, la vancomycine et la ticoplanine pour les *staphylococcus aureus*, dont il est recommandé d'utiliser les techniques de la CMI ; toutefois, l'indisponibilité de cette dernière a restreint notre capacité à comparer la sensibilité ou la résistance phénotypique et génotypique de manière complète.

Lors de l'analyse de ces gènes résistants via la PCR standard, il est essentiel de considérer le potentiel d'obtenir des résultats erronés, soit des faux positifs ou des faux négatifs. D'où Il est également important de noter que des erreurs potentielles pourraient avoir lieu lors des manipulations expérimentales, ce qui peut impacter la crédibilité des résultats. Il est donc crucial de mettre en place des contrôles adéquates et de déployer des mesures supplémentaires pour réduire les erreurs liées aux expériences tels que le contrôle positif par des souche ATCC (souches de référence standardisées). Dans notre étude, cette étape n'a pas été réalisée en raison de la difficulté d'accès à ces souches.

Les conditions de manipulation jouent un rôle crucial dans la fiabilité des résultats d'une expérience scientifique. Des modifications dans des facteurs tels que la température, l'humidité, la durée d'incubation ou l'exactitude du dosage peuvent provoquer des différences notables dans les observations.

De même, un équipement non stérile ou non propre peut provoquer des contaminations, comme la présence des germes indésirables peuvent dissimuler ou simuler les effets des souches en cours de la démarche. Une erreur dans le pipetage ou une dilution incorrecte altère les concentrations réelles, ce qui peut rendre les données inutilisables. En outre, les conditions de lecture et d'interprétation peuvent introduire des fautes non négligeables.

Conclusion

Conclusion :

Les infections suppuratives représentent un enjeu majeur en milieu hospitalier, en raison de la diversité des agents pathogènes impliqués et de la montée préoccupante des résistances bactériennes.

Ce travail nous a permis de mettre en évidence la prédominance de *Staphylococcus aureus, Escherichia coli et Pseudomonas aeruginosa dans les prélèvements de pus analysés, ainsi que la présence de souches multirésistantes telles que Acinetobacter spp, et Enterococcus spp.*

L'analyse phénotypique et l'étude de l'antibiorésistance ont montré des taux élevés de résistance, notamment aux β-lactamines, tandis qu'une certaine sensibilité a été conservée vis-à-vis des aminosides. La PCR a permis de détecter plusieurs gènes de résistance, avec une fréquence marquée du gène *dfr*.

L'ensemble de ces résultats souligne l'importance d'un diagnostic microbiologique rigoureux, associant techniques classiques et méthodes moléculaires, pour une prise en charge thérapeutique efficace et pour le contrôle de la propagation des bactéries résistantes dans les structures de soins.

Références

Ahrberg, C., Manz A, and Chung B. 2016. “Polymerase Chain Reaction in Microfluidic Devices.” Lab on a Chip 16(20):3866–84. doi: 10.1039/c6lc00984k.

Amraoui, R., Bensaad, A., & Beldjezzar, A. (2022). Isolement et identification de Proteus sp. Étude de l’antibiorésistance. Université Frères Mentouri, Constantine.

Anonyme . (2025). Impetigo. Ameli.fr (https://www.ameli.fr/)

Anonyme. Collège des enseignants en dermatologie de France. Infections cutanéo-muqueuses bactériennes et mycosiques.AnnDermatol Venerol. 2015;142(suplement 2):S83-S100 site de internet :ameli .fr

Anonyme. Haute Autorité de santé, Société française de dermatologie, Société de pathologie infectieuse de langue française. Prise en charge des infections cutanées bactériennes courantes. Recommandations. Saint-Denis La Plaine : HAS; 2019.

Anonyme. activity in chronic obstructive pulmonary disease by pulmonary rehabilitation and pharmacological treatment. Respiratory Investigation. juill 2018;56(4):292-306.

Anonyme. Haute Autorité de santé. Choix et durée de l'antibiothérapie : Prise en charge des furoncles chez l’adulte et chez l’enfant. Site internet : HAS. Saint Denis-La Plaine (France) ; 2021 [consulté le 9 juin 2023)

Anonyme. LBM LxBIO. Réalisation d’un prélèvement cutané ou sous-cutané. Ref : IT CBP 1040, Version 02. Rodez (France): Laboratoire de Biologie Médicale LxBIO; [sans date].

Anonyme. Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française (SPILF). Prise en charge du pied diabétique infecté : Recommandations pour la pratique clinique. Version courte au 18 septembre 2006. Médecine et Maladies Infectieuses, 2006.

Anonyme. Société française de dermatologie. Les infections cutanées bactériennes. Furoncle et anthrax. Site internet : Dermato.info. Paris ; 2019 [consulté le 9 juin 2023]

Anonyme. SYNTHÈSE DE LA RECOMMANDATION DE BONNE PRATIQUE « Prise en charge des infections cutanées bactériennes courantes » – Février 2019 sur www.has-sante.fr

Anonyme. Vidal Recos, 11/2016 Érysipèle et fasciite nécrosante : prise en charge, Société française de dermatologie, sur site: www.vidal.fr

Anonyme.Magazine Science. « Les infections suppuratives cutanéo-muqueuses. » *Magazine Science*, 14 mai 2018, https://www.magazinescience.com/biologie/infections-suppuratives-cutaneo-muqueuses/.magazinescience.com+1magazinescience.com+1

Anonyme.Société Française de Microbiologie. Guide de bonnes pratiques microbiologiques en bactériologie médicale. SFM, 2019.

Anonyme. Bactériémie à Serratia rubidaea, Médecine et maladie infectieuse (2007) ;37 :287

Assurance Maladie (anonyme). "Reconnaître l'impétigo." *Ameli.fr*, 26 févr. 2025, https://www.ameli.fr/assure/sante/themes/impetigo/reconnaitre-impetigo

Anonyme. Institut Pasteur. *Chapitre 10 : Conservation des isolements.* Manuel de laboratoire, s.d. PDF.

Avril J-L, Dabernat H, Denis F, Monteil H, 1992 : Bactériologie Clinique Ellipses 2ème édition, paris .

Baptiste J FRON,2024 Infections cutanées bactériennes : impétigo, folliculite, furoncle, furonculose et abcès cutané sur site: https/recomedicales.fr

Basilio, J.A. 2009: Serratia. eMedicine Specialties. Infectious Diseases. Bacterial Infections. Sur le lien : http://emedicine.medscape.com/article/228495-overview.

Becker RE, Bubeck Wardenburg J. Staphylococcus aureus and the skin: a longstanding and complex interaction. Skinmed. 2015 Mar-Apr;13(2):111-9; quiz 120. PMID: 26137737.

Belmessikh A, Mergoud L. Manuel des travaux pratiques de microbiologie générale – 2e année LMD : TP n°2 Techniques d'ensemencement et d'isolement des microorganismes. [sans date].

Ben Abderrazak, S. "BASES DE LA TECHNIQUE PCR ET METHODES APPARENTEES APPLIQUEES EN PARASITOLOGIE VETERINAIRE." *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, vol. 81, no. 1-4, 2004, pp. 51-57.

Benamara, M., Azrou, S., et Berouaken, S. *Galerie Biochimique*. Université de Blida, Faculté de Médecine, Département de Pharmacie, 2024. Scribd, https://fr.scribd.com/document/732581355/galerie-biochimique.

Benedetti J, MSD Manuals**.** "Structure et fonction de la peau." *Manuel MSD*, édition grand public, Merck & Co., Inc., 2024, https://www.msdmanuals.com/fr/accueil/troubles-cutan%C3%A9s/biologie-de-la-peau/structure-et-fonction-de-la-peau.

Bengherbia, I, Alikhoudja K, et Driouch Kelai C. *Caractérisation moléculaire des isolats d'Escherichia coli entérohémorragiques des prélèvements cliniques à Médéa*. Mémoire de Master en sciences biologiques, spécialité microbiologie appliquée, Université Dr. Yahia Farès de Médéa, 2022–2023.

Brown NG, Shanker S, Prasad BV, Palzkill T. Structural and biochemical evidence that a TEM-1 beta-lactamase N170G active site mutant acts via substrate-assisted catalysis. J Biol Chem. 2009 Nov 27;284(48):33703-12. doi: 10.1074/jbc.M109.053819. Epub 2009 Oct 6. PMID: 19812041; PMCID: PMC2785212.

Bush .L , Vazquez-Pertejo. M et Tesini. B. (2023). "Anthrax." Manuel MSD – Édition Grand Public.

Butiuc-Keul, A., Carpa, R., Podar, D., Szekeres, E., Muntean, V., Iordache, D., & Farkas, A. (2021). Antibiotic Resistance in Pseudomonas spp. Through the Urban Water Cycle. Current Microbiology, 78(4), 1227–1237. https://doi.org/10.1007/s00284-021-02389-w

Caby, F., Bismuth, R. et Bossi, P. (2010). Infections à staphylocoques. EMC - Traité de médecine AKOS. Elsevier, 12(3), p. 1-7

Cattoir, V, et Leclercq, R. *Bactériologie médicale : techniques usuelles*. 3e éd., Elsevier Masson, 2016.

Cattoir,V 2005 : les bacilles a gram négatif ,laboratoire de Bacteriologie –VirologieHygiéne ,cours de DCEM1.Faculté de médecine de créteil.

Costa Y, Galimand M, Leclercq R, Duval J, Courvalin P. Characterization of the chromosomal aac(6')-Ii gene specific for Enterococcus faecium. Antimicrob Agents Chemother. 1993 Sep;37(9):1896-903. doi: 10.1128/AAC.37.9.1896. PMID: 8239603; PMCID: PMC188089.

DAHMAS M, TEBBAKH S et ZIBOUCHE I. Profil Bactériologique Des Infections Suppuratives Diagnostiquées au CHU-BLIDA. Thèses. Blida. 2022. 134p

Denis F, Ploy M, Mertin M, Cettoir V. Bactériologie médicale : techniques usuelles. 3eme Edition. Elsevier. 28 Novembre 2007

Djimabi S, Soubeiga, Serge Theophile', Ouattara AK, Adodo Yao Sadji, Metuor-Dabire A, Dorcas Obiri-yeboah, Abiba Banla-kere, Simplice Karou, and Jacques Simpore. 2019. "Distribution of Quinolone Resistance Gene (Qnr) in ESBLProducing Escherichia Coli and Klebsiella Spp. in Lomé , Togo." Antimicrobial Resistance and Infection Control 8:1–8.

EL ALEM. A. La faciite nécrosante des membres. Thèse doctorat. Marrakech. 2017. 184p

Euzéby, J.P. 2003 :Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire. Serratia. Sur le liens :http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/

Fadel, F, MEGHSEL H, FOURA L. *Caractérisation moléculaire des isolats de Klebsiella pneumoniae des prélèvements cliniques à Médéa*. 2023. Université Yahia Farès de Médéa, Mémoire de Master.

Fauchére J L 2002 : Bactériologie médicale et générale .Edition Ellipses

Fimmel, S., & Zouboulis, C. C. (2005). Influence of physiological androgen levels on wound healing and immune status in men. *The Aging Male*, *8*(3–4), 166–174. https://doi.org/10.1080/13685530500233847

Fingerhut A, Marroun I, Quevauvilliers J, Thomas Sené - Nouveau dictionnaire médical - Google Livres [Internet]. [cité 26 juin 2022])

Gamal Y A., Elkenany R M ,. Fouda M A , and Mostafa N F. 2017. "Virulence and Extended-Spectrum β-Lactamase Encoding Genes in Escherichia Coli Recovered from Chicken Meat Intended for Hospitalized Human Consumption." 10:1281–85. doi: 10.14202/vetworld.2017.1281-1285.

Gauzit R, Castan B, Bonnet E, Bru JP, Cohen R, Diamantis S, et al. Anti-infectious treatment duration: The SPILF and GPIP French guidelines and recommendations. Infect Dis Now 2021;51(2):114-39

Geras. "Coupe de peau." *In Dermatology*, 1990. Cité dans *Verso*, mars 2008, p. 1.

Gharbi, M., Abbas, M. A. S., Hamrouni, S., & Maaroufi, A. (2023). First Report of *aac(6')-Ib* and *aac(6')-Ib-cr* Variant Genes Associated with Mutations in *gyrA* Encoded Fluoroquinolone Resistance in Avian *Campylobacter coli* Strains Collected in Tunisia. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(22), 16116. https://doi.org/10.3390/ijms242216116

Goubau, P., et Pellegrims, E. 2000 : Repères en microbiologie. Garant, 3Ed. pp.116

Grossman, T. H. (2016). Tetracycline Antibiotics and Resistance. 1–24.

Hoppenot. I. (2024). "Infections du pied diabétique : mise à jour des recommandations." *Vidal.fr*. https://www.vidal.fr/actualites/30629-infections-du-pied-diabetique-mise-a-jour-des-recommandations.html.

James B. Kaper, James P. Nataro & Harry L. T. Mobley Articles universitaires correspondant aux termes Pathogenesis of E. coli l.,2004

Janda, J. M., & Abbott, S. L. (2006). The Genera Klebsiella and Raoultella. *The Enterobacteria* (2nd ed., pp. 115-129). Washington, USA: ASM Press

Jans B, Glupezynski. Y,Suetens. C,Cleemput E. 2004 : Enquête épidémiologique relative à Acinetobacter baumannii. producteur de BLSE (type VEB-1) en Belgique

Jawetz, Melnick & Adelberg's. Medical Microbiology. 28 edition. 2007

Jehl, F., A. Chabaud, and A. Grillon. 2015. "L'antibiogramme : Diamètres Ou CMI ?" Journal Des Anti-Infectieux 17(4):125–39. doi: 10.1016/j.antinf.2015.08.003.

Karimpour, M, Vadood Razavilar, Nordahr , Rokni, and Ahmadi M. 2019. "Egyptian Journal of Veterinary Sciences." 51(1):43–54. doi: 10.21608/ejvs.2019.17122.1098.

Kernanec. A.2024. Fiche Technique : Les Galeries API en Microbiologie. https://wiki.fablab.sorbonne-universite.fr/BookStack/books/techniques-de-base/page/galerie-api

Koneman, Elmer W. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 7th ed., Lippincott Williams & Wilkins, 2017

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 3-7.0

Larquey, M., & Mahé, E. (2018). Infections cutanées à staphylocoque et streptocoque chez l'enfant. Perfectionnement en Pédiatrie, 1(1), 25-31.

Léger, S. "Diagnostic des Infections Virales Cutanées." *Manuel de Dermatologie Infectieuse*, édité par Paul Dubois, Elsevier Masson, 2022, pp. 245-60.

Levent T, Lambiotte F, Ourtou J 2011 : Prévention des risques infectieux en réanimation. ILIS équipe opérationnelle en hygiène .CHSA .

L. BISSONNETTE, CHAMPETIER S, BUISSON J P, AND ROY P H. Characterization of the Nonenzymatic Chloramphenicol Resistance(cmlA) Gene of the 1n4 Integron of Tn1696: Similarity of the Productto Transmembrane Transport Proteins. JOURNAL OF BACTERIOLOGY, JUIY 1991, p. 4493-4502

Manoj K, Lakra N, Sharma AK, Prasad A, Seema K. Bacterial profile and antibiogram of pus isolates in a tertiary care hospital. 2020.

M.K. Lalitha. 2004. Manual on Antimicrobial Susceptibility Testing. Indian Association of Medical Microbiologists. Christian Medical College Vellore, Tamil Nadu.47p
Médecine directe (https://www.medecindirect.fr/maladies/abces)

Meunier, O., J. Exinger, and F. Kara. *SARM, ABRI, E.BLSE... ERG et EPC des BMR à l'émergence des BHRe*. Centre Hospitalier de Haguenau, 2016.

Naser, Algembre. "STREPTOCOCCAL INFECTIONS." (2020).

N. Sène et V. Del Marmol. (2017). Abcès cutanés multiples et récidivants : approche diagnostique. Rev Med Brux 2017 ; 38 : 26-32 (article synthétique)

N. Mesaros.2007. Pseudomonas aeruginosa: resistance and therapeutic options at the turn of the new millennium.article.

O. ROGEAUX Infectiologie CH métropole Savoie 12 février 2025 DU de thérapeutiques anti-infectieuses fi plast infectliologie .com

Olumayowa Abimbola Oninla1, S. Olorunyomi Oninla2 and Ajani A A. "Gender Dermatoses: The Role of Sex Hormones in Skin Diseases." *Journal of Dermatology and Plastic Surgery*, vol. 2, no. 2, 6 Sept. 2017, p. 1016.

Ouar.M.N. *ANTIBIOGRAMME -(BLSE) B-LACTAMASES À SPECTRE ÉLARGI*. 2008. PDF.

Pakzad, I., S. Ghafourian, M. Taherikalani, N. Sadeghifard, H. Abtahi, M. Rahbar, and N. M. Jamshidi. "Qnr Prevalence in Extended Spectrum Beta-Lactamases (ESBLs) and None-ESBLs Producing *Escherichia coli* Isolated from Urinary Tract Infections in Central of Iran." *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, vol. 14, no. 5, 2011, pp. 458–464.

PASQUEREAU. C. Le pied diabétique : épidémiologie et physiopathologie, prise en charge des plaies, prévention et rôle du pharmacien d'officine. Thèses doctorat. Université de Limoges.2024 pharmacologiques et toxicologiques) des plantes médicinales et aromatiques du PNT.

PHILIPPON (Faculté de Médecine COCHIN-PORT-ROYAL, Université PARIS V)(04.09.2001) cours de bactériologie médicale

Pierre A, Marie C., 2003 : bactériologie –niveau DCEM1.Faculté de médecine. Université d'Alger 3.

Plainvert, C., & Lavigne, J. P. (2016). Infections cutanées. Bactériologie médicale: Techniques usuelles, 183.

R. Gauzit, B. Castan et al .2021. Anti-infectious treatment duration: The SPILF and GPIP French guidelines and recommendations

Rasigade J, Tristan A. Société française de microbiologie. *Diagnostic bactériologique des infections cutanées*. Juillet 2019,

Rezazadeh, M, Baghchesaraei H, and Peymani A. 2016. "Plasmid-Mediated Quinolone-Resistance (Qnr) Genes in Clinical Isolates of Escherichia Coli Collected from Several Hospitals of Qazvin and Zanjan Provinces, Iran." Osong Public Health and Research Perspectives 7(5):307–12. doi: 10.1016/j.phrp.2016.08.003.

Ruppé É, Woerther PL, Barbier F. Mechanisms of antimicrobial resistance in Gram-negative bacilli. Ann Intensive Care. 2015 Dec;5(1):61. doi: 10.1186/s13613-015-0061-0. Epub 2015 Aug 12. PMID: 26261001; PMCID: PMC4531117.

S. zitouni Faculté de médecine de Constantine III. *Entérobactéries : Partie 1*. Novembre 2021, facmed.univ-constantine3.dz/wp-content/uploads/2021/11/ENTEROBACTERIES-Partie-1.pdf.

Sekhsokh Y, Arsalante L El Ouenass M, Doubali T ,Bajjou T ,et Lahlou A, Shetty, P. (2020). The Evolution of DNA Extraction Methods. American Journal of Biomedical Science & Research, 8(1), 39–45. https://doi.org/10.34297/ajbsr.2020.08.001234

Shioya T, Sato S, Iwakura M, Takahashi H, Terui Y, Uemura S, et al. Improvement of physical Simon F.,Kraemer p ., Demortiere E., Rapp C .(2007) . le risque nosocomial en Afrique intertropicale – partie 2 : Les infections des patients .control .Hosp. Epidemiologie . 67(2), 197-20.

Sköld, Ola. "Resistance to Trimethoprim and Sulfonamides." *Veterinary Research*, vol. 32, no. 3-4, 2001, pp. 261–273. EDP Sciences, https://hal.science/hal-00902703.

Standardisation des tests aux antibiotiques à l'échelle nationale. 2020. 8ème Edition. Ministre de la santé de la population et de la réforme hospitalière. (Livre)

The Ottawa Hospital. *STAPHYLOCOCCUS AUREUS RÉSISTANT À LA MÉTHICILLINE (SARM): Renseignements à l'intention des patients*. Janvier 2017. PDF.

Tortora, Gerard J., Berdell R. Funke, and Christine L. Case. *Microbiology: An Introduction*. 13th ed., Pearson, 2018.

Van Rossum T, Ferretti P, Maistrenko OM, Bork P. Diversity within species: interpreting strains in microbiomes. Nat Rev Microbiol. 2020 Sep;18(9):491-506. doi: 10.1038/s41579-020-0368-1. Epub 2020 Jun 4. PMID: 32499497; PMCID: PMC7610499.
Vérifié/Révisé juin 2023 site d'internet https://www.msdmanuals.com/fr/accueil/troubles-cutanés-infections-bactriennes-de-la-peau

Vora, S., et R. Auckenthaler. "Que signifie «bêtalactamases à spectre élargi» en pratique?" *Revue Médicale Suisse*, vol. 5, 7 oct. 2009, pp. 1991-4.

Waleed Y, Hassan S, and Hams A. M. 2021. "Molecular Characterization of Escherichia Coli Isolated from Milk Samples with Regard to Virulence Factors and Antibiotic Resistance." Veterinary World 14(9):2410–18. doi: 10.14202/vetworld.2021.2410-2418.

Wang, Minggui, Daniel F. Sahm, George A. Jacoby, and David C. Hooper. 2006. "Emerging Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Associated with the qnrA Gene in Enterobacter Cloacae Clinical Isolates in China." Journal of Hospital Infection 63(3):349–50. doi: 10.1016/j.jhin.2006.02.013.

Wingfield E. Rehmus, MD, MPH, University of British Columbia. 2023

Zidani, Z, and Benammar S. *Examen cytobactériologique des pus*. Travaux dirigés de Microbiologie, 4e année Pharmacie, Université d'Alger, année universitaire 2019-2020.

Annexe :

1. Fiche de renseignement :

FICHE DE RENSEIGNEMENTS

A. INFORMATION DU PATIENT :

Nom : Prénom : Services : Sexe :

Traitement antibiotique : Oui : ☐ non : ☐

- Préciser : .....

B. LES SYMPTOMES :

Fièvre ☐ Sensation de chaleur ☐

Douleurs locale ☐ Hémorragie ☐

Sensibilité ☐ Tuméfaction ☐

C. LES FACTEURES DE RISQUES :

-Antécédent médico-chirurgicale : ☐

- Diabète : ☐ - Cathéter : ☐

- Infection post-op : ☐ - chambre implantable : ☐

- Sonde : ☐ -Autres :.....

-EXAMEN CYTOBACTERIOLOGIQUE DES PRELEVEMENT CUTANES SUPERFICIELS :

*Localisation :.....

*Diagnostique évoque :.....

Fistule : ☐ escarre : ☐ plaie infecté post op : ☐ abcès : ☐

*Mode de prélèvement : écouvillon : ☐ seringue : ☐ pot stérile : ☐

*prélèvement associé : hémoculture : ☐

Autres : .....

2. Les tables de lecture d'antibiogramme :

(Standardisation des tests aux antibiotiques à l'échelle nationale. 2020. 8ème Edition. Ministre de la santé de la population et de la réforme hospitalière. Livre)

Streptococcus pneumoniae

Standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale en médecine humaine — 8ème édition 2020

Table de lecture 11* : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Streptococcus pneumoniae*.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			Valeurs critiques CMI (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Pénicilline parenéerale (non méningite)	CMI	----	----	----	≥ 8	4	≤ 2	Les résultats d'interprétation pour la pénicilline orale peuvent être rapportés pour les souches non isolées de LCR.
Pénicilline parentérale (méningite)	CMI	----	----	----	≥ 0,12	---	≤ 0,06	
Pénicilline orale	CMI	----	----	----	≥ 2	0.12-1	≤ 0,06	
Oxacilline	1 µg		----	≥ 20	----	----	----	La détection des souches de pneumocoques PSDP se fait en testant un disque d'oxacilline (à 1µg ou 5µg). En cas de réponse « R » ou « I », déterminer les CMI de pénicilline, amoxicilline, céfotaxime, imipénème et méropénème.
Amoxicilline	CMI	----	----	----	≥ 8	4	≤ 2	Les valeurs critiques de l'amoxicilline ne s'appliquent pas au LCR car il n'y a pas de valeurs critiques de CMI de l'amoxicilline pour ce site.
Céfotaxime (non méningite)	CMI	----	----	----	≥ 4	2	≤ 1	L'interprétation est valable pour la ceftriaxone.
Céfotaxime (méningite)	CMI	----	----	----	≥ 2	1	≤ 0,5	
Imipénème	CMI	----	----	----	≥ 1	0,25 – 0,5	≤ 0,12	
Vancomycine	30 µg	---	---	≥ 17.	---	----	≤ 1	
Erythromycine	15 µg	≤15	16 – 20	≥ 21	≥ 1	0,5	≤ 0.25	
Clindamycine	2µg	≤15	16 – 18	≥ 19	≥ 1	0,5	≤ 0,25	
Lévofloxacine	5µg	≤13	14 – 16	≥ 17	≥ 8	4	≤ 2	
Gémifloxacine	5µg	≤19	20 – 22	≥ 23	≥ 0,5	0,25	≤ 0,12	
Doxycycline	30µg	≤24	25 – 27	≥28	≥ 1	0.5	≤ 0.25	
Chloramphénicol	30 µg	≤20	---	≥ 21	≥ 8	---	≤ 4	
Rifampicine	5µg	≤16	17 – 18	≥ 19	≥ 4	2	≤ 1	
Triméthoprime+sulfaméthoxazole	1,25/23,75µg	≤ 15	16 – 18	≥ 19	≥ 4/76	1/19-2/38	≤ 0,5/9,5	
Quinupristine-dalfopristine	15µg	≤ 15	16 – 18	≥19	≥4	2	≤1	Interprétation valable pour la pristinamycine.

Tableau extrait du Document M100 . 30th ed . 2020. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing.
Abréviations : CMI : Concentration Minimale Inhibitrice. LCR : Liquide céphalorachidien.

Les Entérobactéries

Standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale en médecine humaine — 8ème édition 2020

Table de lecture 1* : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Entérobactéries*.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ampicilline AMP	10µg	≤ 13	14 – 16	≥ 17	≥ 32	16	≤ 8	La réponse à l'ampicilline est valable pour l'amoxicilline.
Amoxicilline +Ac.clavulanique AMC	20/10µg	≤ 13	14 – 17	≥ 18	≥ 32/16	16/8	≤ 8/4	Les breakpoints des céphalosporines et de l'aztréonam ont été révisés en fonction des propriétés PK-PD et des données cliniques. Ainsi, l'application de ces breakpoints dépend du respect de posologies précises : céfazoline (2g toutes les 8h), céfoxitine (2g toutes les 6h), céfotaxime (1g toutes les 8h).
Céfazoline CZ	30µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23	≥ 8	4	≤ 2	
Cefoxitine Fox	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	Suite à la révision des breakpoints des céphalosporines, la lecture interprétative anciennement basée sur la détection ou non d'une BLSE, n'est plus nécessaire. La réponse R, I ou S se fait en se référant aux seuls diamètres mesurés. A souligner cependant que la détection phénotypique de la BLSE garde tout son intérêt dans les études épidémiologiques et en hygiène hospitalière.
Céfotaxime CTx	30µg	≤ 22	23 – 25	≥ 26	≥ 4	2	≤ 1	
Céfazoline (Infections non compliquées du tractus urinaire)	30µg	≤ 14	-----	≥ 15	≥ 32	-----	≤ 16	Les résultats de la céfazoline permettent de prédire les résultats pour les céphalosporines orales : céfaclor, céfdinir, céfpodoxime, céfprozil, céfuroxime axétil, céfalexine et loracarbef quand elles sont utilisées pour le traitement des infections non compliquées du tractus urinaire dues à *E. coli*; *K. pneumoniae* et *P. mirabilis*. Céfpodoxime, cèfdinir et céfuroxime axétil peuvent être testés individuellement car certaines souches peuvent être sensibles à ces antibiotiques alors qu'elles sont résistantes à la céfazoline. L'application de ces breakpoints dépend du respect des posologies suivantes ; 1g toute les 12h.
Aztréonam	30µg	≤ 17	18 – 20	≥ 21	≥ 16	8	≤ 4	Les critères d'interprétation sont basés sur la posologie de 1g toutes les 8h.
Imipénème	10µg	≤ 19	20 - 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1	Les breakpoints des carbapénèmes ont été révisés en fonction des propriétés PK-PD et des données cliniques. L'application de ces breakpoints dépend du respect des posologies suivantes : Imipénème : 500 mg toutes les 6h ou 1 g toutes les 8h, Ertapéneme : 1g toutes les 24h. La détection phénotypique d'une carbapénémase par le test MHT est réservée aux études épidémiologiques
Méropenème	10µg	≤ 19	20 - 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1	
Ertarènème ETP	10µg	≤ 18	19 - 21	≥ 22	≥ 2	1	≤ 0,5	
Amikacine AK	30µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16	
Gentamicine GN/GM	10µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	
Acide nalidixique	30µg	≤ 13	14 – 18	≥ 19	≥ 32	---	≤ 16	La sensibilité diminuée aux fluoroquinolones est détectée chez les salmonelles isolées d'infections extra-intestinales en testant l'acide nalidixique à l'antibiogramme. Valable pour les entérobactéries autres que *Salmonella* Typhi et *Salmonella* spp.
Ciprofloxacine CIP	5µg	≤21	22 – 25	≥ 26	≥1	0,5	≤0,25	
Ciprofloxacine *Salmonella* spp.	5µg	≤ 20	21 – 30	≥ 31	≥ 0,06	0,12 - 0,5	≤ 1	
Chloramphénicol CHL	30µg	≤ 12	13 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	Ne pas reporter en routine pour les souches isolées d'ITU sauf pour les salmonelles. Valable pour S.Typhi et *Salmonella* spp. extra-intestinales.
Colistine CL	CMI	-------	--------	-------	>2**	-----	≤2**	**La détermination de la CMI par microdilution en milieu liquide, CBDE (technique d'élution des disques) et CAT (dilution en milieu gélosé) sont acceptables (voir tests complémentaires). Le disque et le E-test ne doivent pas être utilisés*. Pour l'usage thérapeutique des polymixines se referer à l'international consensus guidelines*****
Furanes FT	300µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 128	64	≤ 32	
Fosfomycine FF	200µg	≤ 12	13 – 15	≥ 16	≥ 256	128	≤ 64	Indiqué uniquement pour les souches d'*E.coli* isolées d'infections urinaires. Le disque de 200µg contient 50µg de glucose-6-phosphate. La CMI est déterminée par la technique de dilution en gélose supplémentée de 25µg/ml de glucose 6-phosphate.
Triméthoprime+ SXT Sulfaméthoxazole	1.25/ 23.75µg	≤ 10	11 – 15	≥ 16	≥ 4/76	-----	≤ 2/38	

Pseudomonas aeruginosa

Standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale en médecine humaine — 8ème édition 2020

Table de lecture 2* : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Pseudomonas aeruginosa*.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ticarcilline**	75 µg	≤ 15	16 - 23	≥ 24	≥ 128	32 - 64	≤ 16	Les valeurs critiques pour la pipéracilline (avec ou sans tazobactam) et la ticarcilline (avec ou sans ac clavulanique), sont basées sur une posologie d'au moins 3g toutes les 6 h. Détecter une BLSE en plaçant le disque de TCC entre le disque de CAZ et le disque d'ATM. L'application des breakpoints pour les céphalosporines dépend du respect de posologies précises. céftazidime et aztréonam : 1 g toutes les 6h ou 2g toutes les 8h.
Ticarcilline + ac. clavulanique	75/10µg	≤ 15	16 - 23	≥ 24	≥ 128/2	32/2 – 64/2	≤ 16/2	
Pipéracilline	100 µg	≤ 14	15 - 20	≥ 21	≥ 128	32 - 64	≤ 16	
Pipéracilline+ tazobactam	100 µg/10 µg	≤ 14	15 - 20	≥ 21	≥ 128/4	32/4– 64/4	≤ 16/4	
Céftazidime	30 µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	
Aztréonam	30 µg	≤ 15	16 – 21	≥ 22	≥ 32	16	≤ 8	
Imipénème	10 µg	≤ 15	16 – 18	≥ 19	≥ 8	4	≤ 2	En cas de diamètre R ou I, faire une détection de carbapénèmases. Valeurs critiques basées sur une posologie de 1g toutes les 8 h ou 500mg toutes les 6 h.
Méropénème	**10 µg**	**≤ 15**	**16 – 18**	**≥ 19**	**≥ 8**	**4**	**≤ 2**	
Amikacine	30 µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16	
Gentamicine	10 µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	
Nétilmicine	30 µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 32	16	≤ 8	
Tobramycine	10 µg	≤ 12	13 - 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	
Ciprofloxacine	5µg	≤18	19 - 24	≥25	≥ 2	1	≤0,5	
Lévofloxacine	5µg	≤ 14	15 - 21	≥ 22	≥ 4	2	≤1	
Fosfomycine***	---	---	------	---	---	-----	---	Des observations cliniques suggèrent que les infections dues à des souches pour lesquelles la CMI de la fosfomycine est ≤ 128 mg/L (ECOFF) pourraient être traitées avec de la fosfomycine.
Colistine	CMI	---	-----	---	≥4****	-----	≤ 2****	La détermination de la CMI par microdilution en milieu liquide, CBDE (technique d'élution des disques) et CAT (Dilution en milieu gélosé) sont acceptables (voir tests complémentaires.) Le disque et le E-test ne doivent pas être utilisés*. Pour l'usage thérapeutique des polymixines se referer à l'international consensus guidelines*****

Acinetobacter spp

Standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale en médecine humaine — 8ème édition 2020

Table de lecture 3* : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Acinetobacter* spp.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ticarcilline**	75 µg	≤ 14	15 - 19	≥ 20	≥ 128	32-64	≤ 16	Le disque de TCC doit être placé à côté du disque de CAZ. Une synergie entre les 2 disques indique la présence d'une BLSE. Les critères d'interprétation pour l'imipénème sont basés sur la posologie de 500mg toutes les 6h.
Ticarcilline + ac.clavulanique	75/10µg	≤ 14	15 - 19	≥ 20	≥ 128/2	32/2-64/2	≤ 16/2	
Pipéracilline	100 µg	≤ 17	18 – 20	≥ 21	≥ 128	32-64	≤ 16	
Pipéracilline+ tazobactam	100 µg/10 µg	≤ 17	18 – 20	≥ 21	≥ 128/4	32/4-64/4	≤ 16/4	
Ceftazidime	30 µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	
Imipénème	10 µg	≤ 18	19 - 21	≥ 22	≥ 8	4	≤ 2	
Méropénème	**10 µg**	**≤ 14**	**15 - 17**	**≥ 18**	**≥ 8**	**4**	**≤ 2**	
Amikacine	30 µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16	
Gentamicine	10 µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	
Tobramycine	10 µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	
Nétilmicine	CMI	----	-----	-----	≥ 32	16	≤ 8	
Ciprofloxacine	5µg	≤ 15	16 – 20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1	
Lévofloxacine	5µg	≤ 13	14 – 16	≥ 17	≥ 8	4	≤ 2	
Doxycycline	30µg	≤ 9	10 – 12	≥ 13	≥ 16	8	≤ 4	Si résistance à doxycycline, réponse valable pour tétracycline.
Triméthoprime+ sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	≤ 10	11 – 15	≥ 16	≥ 4/76	------	≤ 2/38	
Colistine	CMI	------	------	-------	≥ 4***	------	≤ 2***	La détermination de la CMI par microdilution en milieu liquide est la seule méthode approuvée. Le CBDE (technique d'élution des disques), le CAT (Dilution en milieu gélosé), le disque et le E-test ne doivent pas être utilisés*. Pour l'usage thérapeutique des polymixines se referer à l'international consensus guidelines****

3. Fiche de renseignement (exemplaire)

FICHE DE RENSEIGNEMENTS

A. INFORMATION DU PATIENT :

Nom : [redacted] Prénom : [redacted] Services : TR H Sexe : H

Traitement antibiotique : Oui : X non :

- Préciser : ..... Ceftriaxone 1g

B. LES SYMPTOMES :

Fièvre X

Douleurs locale

Sensibilité

Sensation de chaleur

Hémorragie

Tuméfaction

U88

C. LES FACTEURES DE RISQUES :

-Antécédent médico-chirurgicale :

- Diabète :

- Infection post-op : X

- Sonde :

- Cathéter :

- chambre implantable :

-Autres : Plaie infectée

-EXAMEN CYTOBACTERIOLOGIQUE DES PRELEVEMENT CUTANES SUPERFICIELS :

*Localisation : Cheville

*Diagnostique évoque : Fracture + Lumbo Clapu

Fistule : escarre : plaie infecté post op : X abcès :

*Mode de prélèvement : écouvillon : X seringue : pot stérile :

*prélèvement associé : hémoculture :

Autres : .....

Dr. YOUS. F

Docteur en Médecin

4. Matériel non biologique :

- Écouvillons stériles
- Aiguilles et seringues stériles (pour aspiration du pus)
- Gants à usage unique
- Lames et lamelles de microscope + cellule de comptage
- Colorants (pour coloration)
- Les tubes à essais + Portoirs à tubes
- Pipettes Pasteur
- Becs Bunsen
- Anse de platine
- Boîtes de Pétri en plastique stérile
- Milieux de culture solides ou liquides (gélose au sang, GN…etc.)
- Incubateurs
- Jars
- Microscope optique
- Galerie API20E
- Eau physiologique stérile
- Les disques d'antibiotiques
- Les milieux utilisés dans l'extraction d'ADN (tampon TE, EDTA, Tris)
- Becher
- Erlenmeyer
- Spatule
- Creusé
- Plaque chauffante + barreau magnétique
- Termo-agitateur
- Centrifugeuse
- Hôte biologique
- Kit de PCR standard commercialisé
- Eppendorf
- Micro-pipette +embout
- Autoclave
- Les milieux utilisés pour la conservation (BHIB, Glycérol et milieu de conservation solide)

- Les milieux utilisés pour la préparation de gel d'agarose (agarose et TBE)
- Electrophorèse
- Thermocycleur
- Transilluminateur
- Syber safe et bleu de charge
- Micro-onde
- Les flacons