

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

\*\*\*\*\*

CENTRE DE RECHERCHE ET DE  
FORMATION DOCTORALE EN SCIENCES  
DE LA VIE, SANTE ET ENVIRONNEMENT

\*\*\*\*\*

FACULTE DES SCIENCES

\*\*\*\*\*

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE



THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

\*\*\*\*\*

POST GRADUATE SCHOOL FOR LIFE,  
HEALTH AND ENVIRONMENT SCIENCE

\*\*\*\*\*

FACULTY OF SCIENCE

\*\*\*\*\*

DEPARTMENT OF MICROBIOLOGY

LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE

LABORATORY OF MICROBIOLOGY

**PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES ET  
CARACTERISATION PHENOTYPIQUES DES BACTERIES  
PRODUCTRICES DE BETA-LACTAMASES ISOLEES DES  
PLAIES DIABETIQUES A L'HOPITAL CENTRAL DE  
YAOUNDE**

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master en Microbiologie.

Option : Microbiologie Médicale

Rédigé par :

**MAHLEU NDE NIKELLE CECILE**

Matricule : **18B2496**

Licenciés-ès Sciences

Sous la codirection de :

**Dr. MEYIN A EBONG Solange**

*Chargé de Cours*

Université de Yaoundé I

**Pr. BOYOMO ONANA**

*Maitre de Conférences*

Université de Yaoundé I



Année académique  
2023-2024

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

\*\*\*\*\*

CENTRE DE RECHERCHE ET DE  
FORMATION DOCTORALE EN SCIENCES  
DE LA VIE, SANTE ET ENVIRONNEMENT

\*\*\*\*\*

FACULTE DES SCIENCES

\*\*\*\*\*

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE



THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

\*\*\*\*\*

POST GRADUATE SCHOOL FOR LIFE,  
HEALTH AND ENVIRONMENT SCIENCE

\*\*\*\*\*

FACULTY OF SCIENCE

\*\*\*\*\*

DEPARTMENT OF MICROBIOLOGY

LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE

LABORATORY OF MICROBIOLOGY

**PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES ET  
CARACTERISATION PHENOTYPIQUES DES BACTERIES  
PRODUCTRICES DE BETA-LACTAMASES ISOLEES DES  
PLAIES DIABETIQUES A L'HOPITAL CENTRAL DE  
YAOUNDE**

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master en Microbiologie.

Option : Microbiologie Médicale

Rédigé par :

**MAHLEU NDE NIKELLE CECILE**

Matricule : **18B2496**

Licenciés-ès Sciences

Sous la codirection de :

**Dr. MEYIN A EBONG Solange**

*Chargé de Cours*

Université de Yaoundé I

**Pr. BOYOMO ONANA**

*Maitre de Conférences*

Université de Yaoundé I

Année académique  
2023-2024

**DEDICACE**

**Je dédie ce travail à ma chère mère :**

**Jeannette Elise MAGOUM**

## REMERCIEMENTS

Je remercie tout d'abord le Dieu Tout puissant, maitre de mes œuvres pour sa protection divine tout au long de mes études.

J'adresse ma profonde gratitude :

- ✓ Au Pr **BOYOMO ONANA**, co-directeur de ces travaux qui, malgré ses lourdes charges a conduit avec passion ce travail.
- ✓ Au Dr **MEYIN A EBONG Solange**, qui a été a été pour moi comme une mère. En dépit de ses nombreuses charges, elle a sacrifié de son temps pour diriger ce travail et guider mes premiers pas dans la recherche scientifique. Pour tous vos conseils et votre encadrement, je vous suis très reconnaissante. Veuillez trouver dans ce modeste travail l'expression de ma haute considération et de mon profond respect à votre égard.
- ✓ Au Pr **ETOA François Xavier**, une icône de la microbiologie au Cameroun. Merci de promouvoir la microbiologie au Cameroun
- ✓ Au Pr **ESSIA NGANG Jean Justin** Chef de département de Microbiologie qui donne le meilleur de lui pour le bon fonctionnement du dit département.
- ✓ Au Pr **NYEGUE Maximilienne Ascension** pour ses conseils en tant qu'enseignante et en tant que Vice-Doyenne Chargée de la Scolarité et du Suivi des Etudiants à la Faculté des Sciences de l'UYI.
- ✓ Aux enseignants du Département de Microbiologie pour nous avoir assuré une bonne formation académique, pour le savoir et les valeurs qu'ils nous ont transmis.
- ✓ Aux **membres du jury** pour leur disponibilité et l'intérêt porté à mon travail en acceptant de l'examiner et de l'enrichir scientifiquement.
- ✓ Au **Directeur de l'Hôpital Central de Yaoundé**, qui a permis la collecte des échantillons.
- ✓ Au **PDG des laboratoires SION, Dr NGOUANA KAMMALAC Thierry** pour m'avoir donné l'opportunité de conduire l'essentiel de mes travaux dans son laboratoire d'analyses médicale (site de Yaoundé-Melen), mais également pour sa contribution scientifique
- ✓ A tout le **personnel du laboratoire SION** (Melen) pour toute l'aide qu'ils ont apporté, les conseils et le matériel mis à notre disposition lors de la réalisation de ce travail.

## PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE

---

- ✓ A monsieur **Romeo TSAYEM** pour son assistance technique sur la paillasse ainsi que sa contribution scientifique.
- ✓ A mes camarades de promotion pour leurs encouragements, leur assistance et pour tous ces moments inoubliables passés ensemble.
- ✓ A mon frère **Samory Chris** et ma sœur **Manuella** pour le soutien moral et matériel
- ✓ Enfin, nous adressons nos sincères remerciements à toutes les personnes qui de près ou de loin par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils, leurs gestes et leurs critiques ont contribué d'une manière ou d'une autre à l'élaboration de ce mémoire, Que le Très Haut vous comble de sa riche bénédiction.

**TABLE DES MATIERES**

<b>DEDICACE</b> .....	<b>i</b>
<b>REMERCIEMENTS</b> .....	<b>ii</b>
<b>SIGLES ET ABREVIATIONS</b> .....	<b>vi</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX</b> .....	<b>vii</b>
<b>LISTES DES FIGURES</b> .....	<b>viii</b>
<b>LISTE DES ANNEXES</b> .....	<b>ix</b>
<b>RESUME</b> .....	<b>x</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>xi</b>
INTRODUCTION .....	1
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE .....	5
I.1-GENERALITES SUR LE DIABETE.....	5
I.1.1-Définition .....	6
I.1.2-Types de diabète.....	6
I.1.3-Physiopathologie des diabètes de types 1 et 2 .....	7
I.1.4- Complications liées au diabète.....	8
I.1.5-Epidemiologie .....	10
I.2-L'INFECTION DU PIED DIABETIQUE .....	11
I.2.1-Signes et symptômes de l'infection du pied diabétique.....	11
I.2.2-Facteurs favorisant l'infection du pied diabétique.....	12
I.2.3-Aspects de l'infection du pied diabétique.....	12
I.2.4-Classification des infections du pied diabétique .....	12
I.2.5-Ecologie bactérienne du pied diabétique .....	13
I.2.6- Description de quelques bactéries en cause de l'infection du pied diabétique ....	14
I.3-L'ANTIBIORESISTANCE.....	17
I.3.1-Définition .....	18
I.3.2-Mécanismes génétiques de la résistance .....	19
I.3.3-Mécanismes biochimiques de la résistance.....	20
I.4- LES BETA-LACTAMASES.....	23
I.4.1- Généralités .....	23
I.4.2- Classification.....	23
I.4.3- Caractérisation des phénotypes de $\beta$ -lactamases.....	25
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODE .....	26

**PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES  
PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE**

---

II.1-CADRE DE L'ETUDE.....	26
II.1.1-Type d'étude .....	27
II.1.2- Lieu d'étude .....	27
II.1.3-Periode d'étude .....	27
II.1.4- Population d'étude.....	27
II.1.5-Taille de l'échantillon.....	27
II.2-MATERIEL.....	28
II.2.1-Materiel de collecte de données .....	28
II.2.2-Matériel de prélèvement et de transport .....	28
II.2.3-Materiel d'analyse bactériologique .....	28
II.2.4-Matériel de gestion de déchets.....	29
II.3-METHODES .....	29
II.3.1- Phase pré-analytique.....	29
II.3.2- Phase analytique.....	30
II.3.4 Considérations légales et éthiques.....	33
II.3.5 Analyses statistiques.....	33
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION.....	34
III.1-RESULTATS .....	34
III.1.1- Caractères sociodémographiques et cliniques des participants .....	35
III.1.2 Fréquence globale de l'infection du pied diabétique .....	36
III.1.3-Distribution des micro-organismes isolés selon les espèces .....	36
III.1.4 Corrélations entre les caractéristiques socio-démographiques/cliniques de la population d'étude et la survenue de l'infection .....	37
III.1.5- Corrélations entre les caractéristiques cliniques de la population d'étude et la présence des bactéries productrices de bêta-lactamases .....	38
III.1.6 Profil de résistance des souches bactériennes identifiées.....	39
III.1.7- Caractérisation des phénotypes de $\beta$ -lactamases des isolats bactériens.....	42
III.2-DISCUSSION .....	44
CONCLUSION.....	47
RECOMMANDATIONS .....	49
PERSPECTIVES.....	51
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	53
ANNEXES .....	59

**SIGLES ET ABREVIATIONS**

AMC	: Amoxicilline/Acide-clavulanique (Amoxiclav)
ATB	: Antibiotique
ATM	: Aztreonam
BGNMF	: Bactérie Gram Négatif Non Fermentaires
BLSE	: Bêta-lactamases à Spectre Elargi
CLSI	: Clinical Laboratory Standard Institute
CNO	: Centre National de l'Obésité
CPM	: Cefepime
CRERSH/C	: Comité Régional d'Ethique et de Recherche en Santé Humaine du Cameroun
CTR	: Ceftriaxone
HCY	: Hôpital Central de Yaoundé
IDF	: International Diabete Federation
IPD	: Infection du Pied Diabétique
MBL	: Métallo bêta-lactamases
MSU	: Médecine Sorbonne Université
NA	: Acide Nalidixique
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé
OPS	: Organisation Panaméricaine de la Santé
SARM	: Staphylococcus aureus Résistant à la Méthicilline
VA	: Vancomycine

:

:

:

**LISTE DES TABLEAUX**

Tableau 1 : Comparaison entre le diabète de type 1 et le diabète de type 2 .....	8
Tableau 2 : Stades de gravité des lésions du pied diabétique.....	13
Tableau 3. Corrélation clinico-bactériologique entre les types de plaies et les germes impliqués et identifiés .....	14
Tableau 4 : Caractères sociodémographiques et cliniques de la population d'étude .....	35
Tableau 6 : Corrélations entre les caractéristiques socio-démographiques et cliniques de la population d'étude et la survenue de l'infection.....	38
Tableau 8 : Répartition des phénotypes de bêta-lactamases par espèce .....	43

**LISTES DES FIGURES**

Figure 1 : Physiopathologie du diabète de type 1 .....	7
Figure 2 : Physiopathologie du diabète de type 2 .....	8
Figure 3 : Complications liées au diabète.....	10
Figure 4. Les deux types de résistance bactérienne aux antibiotiques .....	20
Figure 5 : Mécanismes de la résistance aux antibiotiques.....	23
Figure 6 : Fréquence globale de l'infection du pied diabétique.....	36
Figure 7 : Fréquence de résistance des isolats d'entérobactéries.....	39
Figure 8 : Fréquence de résistance des isolats de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	40
Figure 9 : Fréquence de résistance des isolats d' <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	41
Figure10 : Fréquence de résistance des isolats de <i>Staphylococcus spp</i> .....	41
Figure 11 : Fréquence de résistance du <i>Streptococcus sp</i> .....	42
Figure 12 : Répartition des phénotypes de bêta-lactamases .....	42

**LISTE DES ANNEXES**

Annexe 1 : Notice d'information .....	59
Annexe 2 : Formulaire de consentement éclairé .....	62
Annexe 3: Fiche de collecte de données.....	63
Annexe 4: Aspects des colonies sur différents milieux de culture.....	65
Annexe 5 : Mode opératoire de la galerie API 20 E.....	66
Annexe 6 : Figures des test biochimiques .....	67
Annexe 7 : Résultats des différents tests phénotypiques .....	68
Annexe 8 : Mode opératoire du MALDI-TOF.....	69

**RESUME**

Le diabète est un problème majeur de santé publique à l'échelle mondiale. C'est une maladie qui laisse cours à de nombreuses complications dont l'une des plus courantes est la plaie du pied diabétique, dont le traitement (antibiothérapie) reste très difficile et peut aboutir à des amputations. L'objectif de cette étude était d'étudier le profil de résistance et les caractéristiques phénotypiques des bactéries productrices de bêta-lactamases isolées des plaies du pied diabétique à l'HCY. Elle a porté sur 106 participants dont 64 hommes et 44 femmes recrutés au Centre National de d'Obésité (CNO) de l'HCY, des informations relatives aux participants ont été relevées sur une fiche de collecte préalablement établie. La période d'étude allait de Juillet à Décembre 2023. Les analyses bactériologiques ont été effectuées au laboratoire Sion de Yaoundé. L'identification des isolats s'est faite grâce aux techniques usuelles et aux galeries biochimiques (Api 20<sup>E</sup>), le profil de résistance a été réalisé par la méthode de diffusion des disques sur milieu gélosé selon le protocole décrit par le CLSI et les phénotypes de bêta-lactamases (BLSE, AmpC et MBL) ont été obtenus suite à des test spécifiques. 106 échantillons ont été collectés par écouvillonnage après débridement de la plaie et nettoyage au sérum physiologique stérile. Sur les 106 échantillons, 88 étaient positifs ce qui nous a permis d'obtenir une prévalence de 83,02%. La plupart de nos patients avaient un diabète de type 2 (95,5%). Plusieurs micro-organismes ont été isolés. L'espèce fréquemment isolée était *Staphylococcus aureus* (27,70%), suivit de *Klebsiella sp* (24,32%). L'analyse statistique a montré une corrélation entre le diabète de type 2 et la survenue de l'IPD. L'analyse du profil de résistance a montré que les isolats bactériens présentaient des taux de résistance élevés aux antibiotiques de la famille des bêta-lactamines (Augmentin, Ceftazidime, Cefuroxime...), des cyclines et des macrolides. La recherche des différents phénotypes de résistance a permis de situer la prévalence des bactéries productrices de bêta-lactamases à 44%. Le phénotype majoritaire était le phénotype AmpC (22%), rencontré chez *Staphylococcus aureus*, suivit de phénotype MBL (17%). Ces résultats reflètent la difficulté du traitement des infections des plaies du pied diabétique et suggèrent la nécessité d'une mise en œuvre de procédures rigoureuses de traitement des infections des plaies diabétiques assurant un respect de bonnes pratiques et limitant ainsi le phénomène d'antibiorésistance.

**Mots Clés :** Résistance, bêta-lactamases, IPD, antibiotiques

**ABSTRACT**

Diabetes is a major public health problem worldwide. One of the most common complications is diabetic foot, the treatment of which (antibiotic therapy) remains very difficult and can lead to amputations. The aim of this study was to investigate the resistance profile and phenotypic characteristics of bêta-lactamase-producing bacteria isolated from diabetic wounds at HCY. A total of 106 participants, including 64 men and 44 women, were recruited from the National Obesity Center (CNO) at the HCY, and information on the participants was recorded on a pre-established collection form. The study period was from July to December 2023. Bacteriological analyses were carried out at the Sion laboratory in Yaoundé. Isolates were identified using standard techniques and biochemical galleries (Api 20E), resistance was profiled using the agar disk diffusion method in accordance with the CLSI protocol, and bêta-lactamase phenotypes (ESBL, AmpC and MBL) were obtained using specific tests. 106 samples were collected by swabbing after wound debridement and cleaning with sterile saline. Of the 106 samples, 88 were positive, giving a prevalence of 83.02%. Most of our patients had type 2 diabetes (95.5%). Several micro-organisms were isolated, the majority of which were BGN, the most frequently isolated species being *Staphylococcus aureus* (27.70%), followed by *Klebsiella* sp (24.32%) ; we obtained 7 yeasts of the *Candida* genus, representing a frequency of 4.73%. Statistical analysis showed a correlation between type 2 diabetes and the occurrence of PDI. Analysis of the resistance profile showed that bacterial isolates had high rates of resistance to bêta-lactam antibiotics (Augmentin, Ceftazidime, Cefuroxime...), cyclins and macrolides. The prevalence of bêta-lactamase-producing bacteria was found to be 44%. The predominant phenotype was AmpC (22%), found in *Staphylococcus aureus*, followed by MBL (17%). These results reflect the difficulty of treating PDI, and suggest the need to implementation of rigorous procedures for the treatment of diabetic wound infections, ensuring compliance with best practices and thus limiting the phenomenon of antibiotic resistance.

Key words: Resistance, beta-lactamases, IPD, antibiotics

# INTRODUCTION

## PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE

---

Le diabète est une maladie chronique grave qui se déclare lorsque le pancréas ne produit pas suffisamment l'insuline ou lorsque l'organisme n'est pas capable d'utiliser correctement l'insuline qu'il produit (OMS, 2022). C'est un problème de santé publique à l'échelle mondiale (Jaacks et al., 2016), et représente l'une des maladies non transmissibles prioritaires ciblées pour une intervention par les dirigeants du monde (OMS, 2016). Sa prévalence ainsi que son incidence n'ont cessé d'augmenter durant les 20 dernières années, faisant de cette maladie chronique, une véritable épidémie du 21ème siècle (Jaacks et al., 2016). De nos jours, près de 537 millions de personnes dans le monde sont affectées par le diabète, soit une augmentation de 16% par rapport aux données de 2019 (IDF, 2021). Les statistiques disponibles sur le diabète en Afrique témoignent de l'ampleur du défi à relever ici car environ 24 millions d'adultes vivent actuellement avec le diabète et l'on estime que ce nombre devrait atteindre environ 55 millions d'ici 2045 (OMS, 2022). Selon les données de l'IDF (*International Diabetes Federation*), la prévalence du diabète au Cameroun est de 5,5% avec un total de 620800 personnes atteintes et 12614 décès attribuables (IDF, 2021).

C'est une maladie d'évolution silencieuse et insidieuse dont la méconnaissance et le retard du diagnostic aboutissent à des complications chroniques dramatiques telles que les maladies cardiovasculaires, rénales, les problèmes oculaires et les problèmes de neuropathies périphériques à l'origine du pied diabétique, qui fait partie des principales causes d'hospitalisation des patients diabétique. (Yefou et al., 2010) ; (Amoussou et al., 2006). Le pied diabétique regroupe l'ensemble des manifestations pathologiques qui atteignent le membre inférieur chez le patient diabétique. Il constitue un carrefour des complications neurologiques, vasculaires et infectieuses. C'est donc une complication redoutable de la maladie et entraîne un important taux de morbidité et d'incapacité. 12 à 25% des patients diabétiques présenteront au cours de leur vie un ulcère du pied pouvant aboutir à une amputation (Richard & Schuldiner, 2008).

L'infection du pied diabétique est définie par une invasion avec multiplication de micro-organismes dans la majorité des cas constitués par des bactéries entraînant des dégâts tissulaires. Le diagnostic est clinique et l'infection peut revêtir plusieurs formes cliniques allant de l'infection superficielle d'une plaie jusqu'à la fasciite nécrosante (pouvant conduire à une amputation) et une septicémie pouvant entraîner un décès. (Mendes & Neves, 2012). Les plaies de pied diabétiques peuvent être infectées par un ou plusieurs microbes à la fois : on parle d'infection mono ou polymicrobienne. Très souvent on a à faire aux infections polymicrobiennes. Les bactéries responsables sont généralement les cocci à Gram positif

## PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE

---

(staphylocoques dorés, staphylocoques à coagulase négatif, streptocoques, entérocoques) et les bacilles à Gram négatif (*Proteus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*) (**Zemmouri et al., 2015**)

Considéré comme un problème de santé publique, l'estimation de la prévalence du pied diabétique dans le monde est de 463 millions de personnes. Le pied diabétique représente ainsi une part importante des dépenses consacrées au diabète.

L'Afrique supporte malheureusement le plus lourd fardeau avec 19 millions de personnes. Face à cette situation, plusieurs études en Afrique ont été initiées afin d'élucider le problème du pied diabétique mais la difficulté est toujours présente.

Au Cameroun, très peu d'études ont été menées sur le pied diabétique et la résistance antimicrobienne, la plus récente remonte à une dizaine d'années à l'HCY, cette dernière a montré d'important taux de résistance soit plus de 50% (**Yefou et al., 2014**). Par ailleurs, l'étude de Tchakonté réalisée en 2004 a situé la prévalence du pied diabétique au Cameroun à 13% (**Tchakonte, 2004**).

Le traitement des infections des plaies diabétiques peut s'avérer long et difficile du fait de plusieurs facteurs tels que la formation des biofilms par les bactéries (ce qui retardent la pénétration des antibiotiques), et la présence des bactéries résistantes (**Appapalam et al., 2019**). En effet, l'antibiorésistance est un challenge important dans le traitement des infections du pied diabétique. L'un de principaux facteurs qui favorise la survenue de ces résistances est l'utilisation abusive des antibiotiques de la famille des  $\beta$ -lactamines pour l'antibiothérapie probabiliste qui parfois est non spécifique aux bactéries en cause, ou même non justifiée (colonisation bactérienne). Ceci favorise l'émergence des bactéries multi-résistantes productrices de bêta-lactamases qui compliquent le traitement et constituent une menace importante à la vie des patients (**Hammami et al., 2015 ; Shi et al., 2023**).

Notre étude a pour but d'étudier le profil de résistance ainsi que les caractéristiques phénotypiques des bactéries productrices de bêta-lactamases isolées des plaies diabétiques à l'HCY.

## **PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE**

---

**Problématique :** Les travaux antérieurs sur le problème du pied diabétique montrent que ces plaies présentent des difficultés de traitement mais également, il se pose le problème de résistance antimicrobienne. En effet l'utilisation des antibiotiques de manière non contrôlée et l'antibiothérapie probabiliste aggravent le problème de résistance. L'antibiothérapie probabiliste est très souvent marquée par l'utilisation des bêta-lactamines pourrait favoriser des résistances vis-à-vis de ces antibiotiques entre autres par la production de bêta-lactamases ; la production de ces enzymes pourrait être l'un des problèmes rencontrés dans le traitement des infections du pied diabétique. Au Cameroun, il n'existe pas de données propres au phénotypage des bêta-lactamases en rapport avec les bactéries des plaies diabétiques, mais aussi, l'une des études les plus récentes menée à l'hôpital central de Yaoundé (HCY), a montré un taux de résistance élevé des bactéries, soit de 50% C'est pourquoi il apparaît important et pertinent de caractériser les bactéries isolées des plaies du pied diabétique afin d'élucider et de comprendre l'échec thérapeutique parfois rencontré chez ces patients. Notre étude avait ainsi pour but d'étudier le profil de résistance ainsi que les caractéristiques phénotypiques des bactéries productrices de bêta-lactamases isolées des plaies diabétiques à l'HCY

**Question de recherche :** Quelle est la prévalence des bactéries productrices de bêta-lactamases isolées des plaies diabétiques et leur profil de résistance aux antibiotiques ?

**Hypothèse :** Les bactéries isolées des plaies diabétiques auraient un taux de résistance élevé aux bêta-lactamines et seraient productrices de bêta-lactamase.

**Objectif général :** Etudier le profil de résistance et les caractéristiques phénotypiques des bactéries productrices de bêta-lactamases isolées des plaies diabétiques à l'HCY

**Objectifs spécifiques :**

- Identifier les bactéries responsables des infections des plaies diabétiques
- Etablir le profil de résistance aux antibiotiques des bactéries isolées des plaies diabétiques
- Caractériser les différents phénotypes de bêta-lactamases

# **CHAPITRE I**

## **REVUE DE LA LITTÉRATURE**

## **I.1-GENERALITES SUR LE DIABETE**

### **I.1.1-Définition**

Le diabète est une maladie chronique grave qui se déclare lorsque le pancréas ne produit pas suffisamment d'insuline (hormone qui régule la concentration de sucre dans le sang, ou glycémie), ou lorsque l'organisme n'est pas capable d'utiliser correctement l'insuline qu'il produit (OMS 2016).

### **I.1.2-Types de diabète**

On distingue 4 principaux types de diabète regroupés comme suit :

#### **I.1.2.1-Diabètes primitifs**

Dans cette catégorie, nous retrouvons les trois types de diabète ci-dessous :

➤ **Le diabète de type 1** : appelé diabète insulino-dépendant ou diabète juvénile il se caractérise par une production insuffisante d'insuline dans l'organisme. Une administration quotidienne d'insuline aux personnes présentant ce type est nécessaire afin de réguler leur glycémie. Il n'est actuellement pas possible de le prévenir. Les symptômes sont notamment les suivants : émission d'urine et soif excessive, faim constante, perte de poids, altération de la vision et fatigue (OMS 2016).

➤ **Le diabète de type 2** : appelé diabète non insulino-dépendant ou diabète de l'adulte il résulte de l'utilisation inefficace de l'insuline par l'organisme. Le diabète de type 2 touche l'immense majorité des personnes vivant avec le diabète dans le monde. Les symptômes peuvent être similaires à ceux du diabète de type 1, mais ils sont souvent moins marqués ou absents. Aussi la maladie peut rester non diagnostiquée pendant plusieurs années, jusqu'à ce que des complications soient constatées. Pendant de nombreuses années, le diabète de type 2 n'était observé que chez l'adulte mais touche de plus en plus les enfants (OMS 2016).

➤ **Le diabète gestationnel** : c'est une affection provisoire qui survient pendant la grossesse et il est associé à un risque à long terme de diabète de type 2 (OMS 2016). L'affection est présente lorsque la glycémie est supérieure à la normale mais néanmoins inférieure aux seuils fixés pour le diagnostic du diabète. Les femmes présentant un diabète gestationnel sont plus exposées au risque de complications pendant la grossesse ainsi que leur bébé. Le dépistage du diabète gestationnel s'effectue lors des examens prénataux, et non par la déclaration de symptômes (OMS 2016).

## PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE

### I.1.2.2-Diabètes secondaires

Ce sont des diabètes peu fréquents, comprenant: les affections génétiques, les infections, les affections du pancréas exocrine, endocrinopathies (**Grimaldi, 2001**). Ces types de diabète peuvent avoir pour origine une destruction des îlots pancréatiques et donc une insulinopénie, une insulinorésistance ou d'une association des deux (**Klein 2009**).

### I.1.3-Physiopathologie des diabètes de types 1 et 2

#### I.1.3.1-Physiopathologie du diabète de type 1

La physiopathologie du diabète de type 1 résulte d'une destruction auto-immune des cellules bêta productrices d'insuline situées dans le pancréas. Cette destruction entraîne une carence en insuline qui conduit à une hyperglycémie (**Antidopage, 2015**). Les symptômes sont les suivants : une excrétion excessive d'urine (polyurie), une sensation de soif (polydipsie), une faim constante, une perte de poids, une altération de la vision et fatigue. Ces symptômes peuvent apparaître brutalement (figure 1).

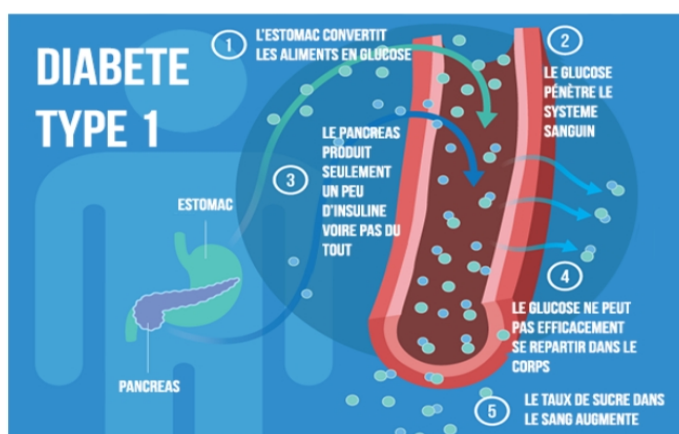
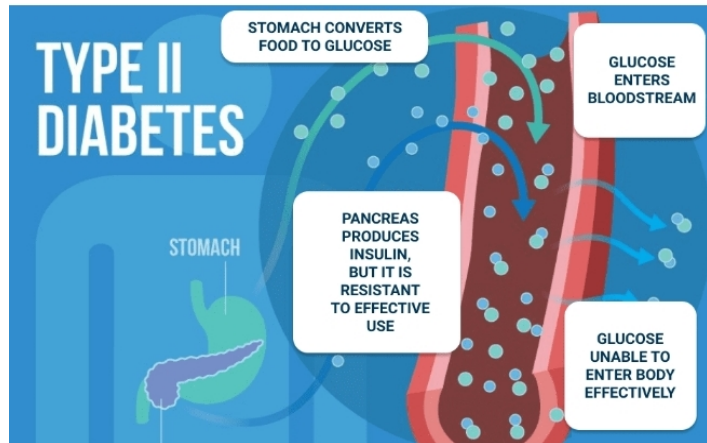


Figure 1 : Physiopathologie du diabète de type 1 (**Tenenbaum et al., 2018**)

#### I.1.3.2-Physiopathologie du diabète de type 2

Il apparaît lorsque coexistent deux anomalies : une réduction des effets de l'insuline sur les tissus cibles et une diminution quantitative et qualitative de la sécrétion d'insuline (**Weekers & Krzesinski, 2005**). Le diabète de type 2 se définit par une sécrétion anormale d'insuline causée par une résistance périphérique. Il est en grande partie le résultat d'une surcharge pondérale et de la sédentarité. Récemment encore, ce type de diabète n'était observé que chez l'adulte, mais on le trouve de plus en plus chez l'enfant (figure 2). Le tableau 1 ci-dessous présente la différence entre le diabète de types 1 et 2

**PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE**



**Figure 2 : Physiopathologie du diabète de type 2 (Tenenbaum et al., 2018)**

**Tableau 1 : Comparaison entre le diabète de type 1 et le diabète de type 2 (Gariani et al., 2009)**

	Type 1	Type 2
<b>Age du diagnostic</b>	Enfance et adolescence	Adulte
<b>Population diabétique concernée</b>	< 10%	> 90%
<b>Mode d'apparition</b>	Rapide (semaines)	Variable, souvent insidieux (mois voir années).
<b>Auto-immunité</b>	Présente	Absente
<b>Obésité</b>	Absente	Fréquente
<b>Génétique</b>	2 à 4% de parents avec un diabète.	80% de parents avec un diabète.
<b>Sensibilité à l'insuline</b>	Normale	Diminuée
<b>Sécrétion de l'insuline</b>	Absente	Variable
<b>Injection d'insuline</b>	Indispensable	Dans 20% des cas.
<b>Complications sur le long terme</b>	Pas avant 5 ans et surtout les petits vaisseaux sanguins (rétine, reins, etc.)	Dans 30% des cas, elles sont déjà présentes au moment du diagnostic.  Les complications concernent surtout les grands vaisseaux sanguins (cœur, cerveau, etc.).

**I.1.4- Complications liées au diabète**

La méconnaissance et le retard du diagnostic du diabète peuvent aboutir à des complications chroniques et dramatiques suivantes :

**I.1.4.1- Néphropathie**

Elle est l'une des complications les plus fréquentes du diabète sucré qui fait craindre l'évolution vers une insuffisance rénale chronique. Elle concerne le diabète de type 1 et de type 2, mais l'évolution de la maladie est sensiblement différente dans les deux cas : le diabète de type 1 fait redouter l'insuffisance rénale en premier lieu, alors que la néphropathie

## **PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE**

---

diabétique de type 2 a surtout un mauvais pronostic cardiovasculaire (**Weekers & Krzesinski, 2005**).

### **I.1.4.2- Rétinopathie**

Elle est une grave complication du diabète qui touche 50 % des diabétiques de type 2. Elle est caractérisée par l'augmentation de la perméabilité des capillaires rétinien à l'origine de l'extravasation du contenu vasculaire, par rupture de la barrière hémato rétinienne ; par conséquent, l'apparition des hémorragies et des œdèmes (**Gabriel & Nelly, 2002**) Elle se développe silencieusement jusqu'à provoquer une baisse de l'acuité visuelle, ce qui témoigne un état très avancé de la maladie (**Fougere, 2020**). Elle ne devient symptomatique qu'au stade des complications ; seul un examen régulier et systématique permet de la diagnostiquer précocement et de la traiter.

### **I.1.4.3- Neuropathie**

Lorsque le taux de sucre dans le sang demeure trop élevé sur une longue période, cela peut endommager les nerfs, surtout ceux des membres inférieurs (**Attali, 2005**). Les dommages causés aux nerfs dans ces régions sont appelés neuropathie périphérique et peuvent provoquer des douleurs, des fourmillements ou une perte de sensations. Etant donné que le malade n'a plus de sensations, les blessures passent inaperçues et peuvent donner lieu à des infections graves et à une ulcération «un pied diabétique», voir même une amputation (**IDF, 2013**).

### **I.1.4.4- Artériopathie des membres inférieurs**

Elle se définit par des lésions sténosantes ou occlusives dues à un athérome et touchant les artères des membres inférieurs. L'incidence de l'artériopathie périphérique chez le diabétique est 4 fois plus élevée que celle du sujet non diabétique, ceci augmente progressivement avec l'âge et la durée d'évolution du diabète (**Fisher et al., 2010**).

### **I.1.4.5- Coronaropathie**

Elle est l'une des causes majeures de décès chez les diabétiques par la survenue d'ischémie myocardique. Elle est particulièrement grave chez ces derniers car l'atteinte est le plus souvent poly-tronculaire et peut être indolore à cause de la neuropathie sensitive qui y est associée (**ADAD, 2016**).

## PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE

### I.1.4.6-Le pied diabétique

Le pied peut être le siège de nombreuses complications chez le patient diabétique pour différentes raisons, notamment son rôle mécanique de sustentation du reste du corps. Le pied subit des pressions élevées pouvant être majorées par un surpoids du patient, ce qui favorise les ruptures tissulaires (**Lecaque, 2011**). Le pied diabétique est un «pied à risque» car il présente des plaies fréquentes et chroniques, multi-traités et hospitalisés et donc à risque de contamination, de colonisation et d'infections (**Lachgard, 2016**). Le pied diabétique se manifeste à la suite d'une hyperglycémie chronique qui peut affecter non seulement le système nerveux périphérique, mais également les systèmes vasculaires et locomoteurs. Le retard dans la cicatrisation des plaies expose le pied diabétique à l'infection, augmentant ainsi les risques d'amputation. La figure 3 ci-dessous présente les complications liées au diabète

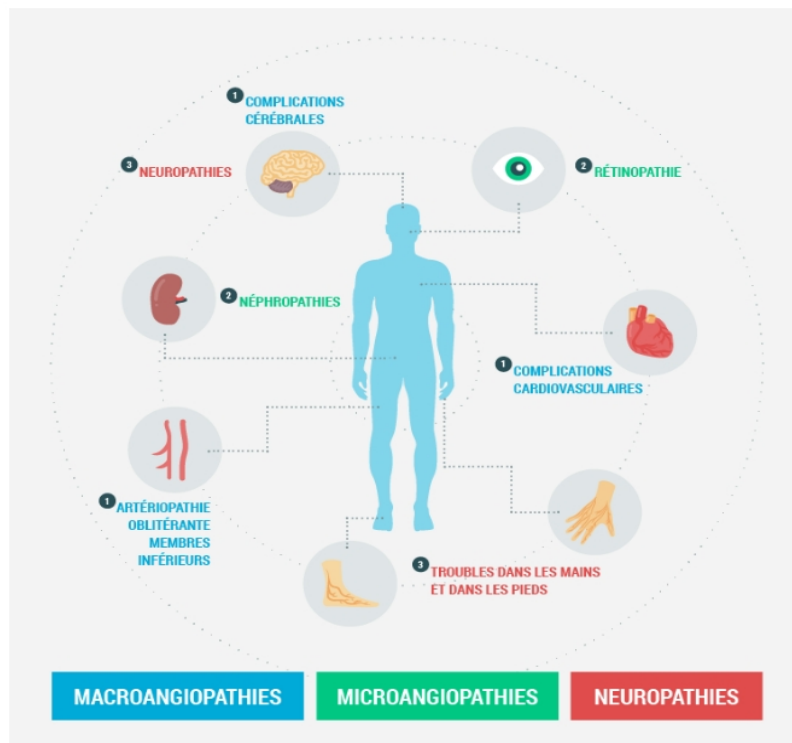


Figure 3 : Complications liées au diabète (CEED, 2021)

### I.1.5-Epidémiologie

En raison de l'ampleur du diabète dans le monde, la prévalence des complications y afférant est appelée à croître. Le pied diabétique qui est une de ces complications est responsable d'une morbidité élevée et d'incapacités à l'origine d'un lourd fardeau sur la société (**Richard & Schuldiner, 2008**).

## PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE

---

➤ A l'échelle mondiale, le nombre de patients diabétiques est en perpétuelle augmentation passant de 108 millions d'adultes vivant avec le diabète en 1980 contre 422 millions d'adultes en 2014 (**OMS 2016**). Selon les données de l'IDF, en 2021, 537 millions d'adultes vivaient avec le diabète ; nombre qui devrait atteindre 643 millions d'ici 2030 et 783 millions d'ici 2045 (**IDF, 2021**).

➤ **En Europe** : 1 adulte sur 11 vit avec le diabète. Le nombre de diabétiques devrait atteindre 67 millions d'ici 2030 et 69 millions d'ici 2045 avec 1,1 million de décès dus au diabète en 2021. En France la population diabétique passait de 2,1 millions à 2,8 millions en 2016 ce qui n'était qu'une hypothèse intermédiaire. L'IDF situe la prévalence du diabète à 5,3% en 2021 et prévoit une augmentation de 0,7% pour 2030 (**IDF, 2021**).

➤ **En Afrique** : Selon les données de l'IDF 1 adulte sur 22 est atteint de diabète et le nombre total de diabétique devrait augmenter de 129% pour atteindre 155 millions en 2045 avec un total de 416000 décès en 2021 (**IDF, 2021**). Par ailleurs, l'étude menée par Diop et collaborateurs situait les prévalences et les nombres de cas respectivement à 4,8% et 19,1 millions qui passeront à 5,7% et 41,4 millions, soit une progression de 109% (**Diop & Diédhiou, 2015**).

➤ **Au Cameroun** : Selon les données de l'IDF, la prévalence du diabète au Cameroun est de 5,5% avec un total de 620.800 personnes atteintes et 12.614 décès attribuables ; on note un nombre insuffisant de contrôle (53,3%) et un faible taux d'accès au traitement en milieu communautaire. Cette prévalence augmenterait avec l'âge, l'indice de masse corporelle, l'obésité abdominale et l'hypertension artérielle (**IDF, 2021 ; Mbouemboue et al., 2018**).

### I.2-L'INFECTION DU PIED DIABETIQUE

L'infection est considérée comme l'invasion des tissus par des micro-organismes et leur multiplication s'accompagnant d'une destruction tissulaire ou d'une réponse inflammatoire de l'hôte. Chez le diabétique, elle est souvent superficielle, mais dans certains cas, elle peut s'étendre en profondeur dans les tendons, les muscles, les os et les articulations (**Labani, 2016**). Les infections du pied sont une complication majeure du diabète et conduisent finalement au développement de la gangrène et de l'amputation dudit membre.

#### I.2.1-Signes et symptômes de l'infection du pied diabétique

Les signes et symptômes peuvent différer d'un patient à un autre, dépendamment du terrain sous-jacent, mais ils peuvent être majorés chez le patient diabétique. De manière générale, les signes de l'infection sont les suivants (**Di Benedetto et al., 2013**) :

## PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE

---

- Rougeur
- Suintement de la plaie (pus/liquide verdâtre)
- Chaleur autour de la zone affectée
- Stries rouges autour de la zone infectée
- Signes de douleur ou de sensibilité
- Enflure

Si ces signes cliniques ne sont pas pris en charge, ceux-ci pourraient engendrer l'apparition des ganglions lymphatiques enflés au cou, sous les aisselles ou à l'aîne, accompagnés d'une fièvre.

### I.2.2-Facteurs favorisant l'infection du pied diabétique

L'artériopathie et la neuropathie périphérique sont les facteurs de risques majeurs pour l'apparition des plaies chez les diabétiques. Les facteurs sociaux divers jouent également un rôle important dans l'évolution des plaies du pied diabétique (**Amarir, 2014**) :

- **Facteurs intrinsèques** : morphologie du pied, hyperkératose plantaire, déformations sévères du pied (pied de Charcot).
- **Facteurs extrinsèques** : chaussage inadapté (trop étroit, coutures proéminentes), Corps étranger (caillou, clou).
- **Facteurs comportementaux** : marche pieds nus, non-surveillance quotidienne des pieds, impossibilité d'autosoins, manque d'hygiène (hyperkératose non-traitée)
- **Facteurs iatrogènes** : soins inadaptés des ongles, amputations mal réalisées.

### I.2.3-Aspects de l'infection du pied diabétique

✓ **Infections superficielles des tissus** : Il s'agit des atteintes cutanées uniquement sans toucher des tissus sous-cutanés avec des signes tels que : la chaleur et douleur locales, l'érythème < 2 cm de large autour de la plaie, la tuméfaction, l'écoulement purulent.

✓ **Infections profondes des tissus**: Ce sont des infections qui peuvent toucher les structures sous-cutanées ; elles se manifestent par: des collections purulentes, des abcédassions et peuvent toucher jusqu'à l'os (ostéite) (**Joel, 2012**).

### I.2.4-Classification des infections du pied diabétique

La classification de Wagner permet de définir 6 niveaux de gravité de la lésion du pied diabétique allant de 0 à 5 basée sur la profondeur de l'ulcère, la présence ou non d'infection ou d'une gangrène (Tableau 2).

## PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE

**Tableau 2** : Stades de gravité des lésions du pied diabétique (Wagner, 1987)

<b>Grade 0</b>	Pas de lésion ouverte, mais présence possible d'une déformation osseuse ou d'hyperkératose
<b>Grade 1</b>	Ulcère superficiel sans pénétration dans les tissus profonds
<b>Grade 2</b>	Ulcère profond vers les tendons ou l'os, les articulations sans abcès ni ostéite
<b>Grade 3</b>	Ulcère profond avec abcès, ostéite ou arthrite septique
<b>Grade 4</b>	Gangrène d'un orteil ou de l'avant-pied le plus souvent associée à une infection plantaire
<b>Grade 5</b>	Gangrène massive du pied associée à des lésions nécrotiques et à une infection des tissus mous

### I.2.5-Ecologie bactérienne du pied diabétique

L'infection du pied diabétique peut être mono, bi ou poly microbienne associant les Cocci Gram positifs tel que *Staphylococcus aureus* ou les streptocoques, les bactéries Gram négatifs et les anaérobies (Guira et al., 2015). On peut noter que le Staphylocoque, les Streptocoques A et B, *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Klebsiella* sont les genres les plus fréquemment isolés. Ils peuvent entraîner une vaste et rapide destruction tissulaire. Une prédominance à Gram+ entraîne des complications de type nécrose ou ostéite; les bactériémies bien que rares sont le plus souvent le fait d'infections du pied sévère avec un haut risque d'amputation (Tableau 3).

**PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES  
PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE**

**Tableau 3.** Corrélation clinico-bactériologique entre les types de plaies et les germes impliqués et identifiés (Stahl, 2007)

<b>Types de plaie</b>	<b>Germes pathogènes</b>
<b>Plaie superficielle récente sans antibiothérapie récente.</b>	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus</i> bêta hémolytique.
<b>Plaie chronique (&gt;1 mois) ou déjà traitée par antibiotiques</b>	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus</i> bêta hémolytique, <i>entérobactéries</i>
<b>Plaie traitée par céphalosporines d'évolution défavorable.</b>	<i>Entérocoques</i>
<b>Plaie avec macération</b>	<i>Pseudomonas spp.</i> (Avec d'autres microorganismes).
<b>Plaie &gt; 6 mois traitement antérieur par antibiothérapie à large spectre.</b>	Poly microbienne : Cocci à Gram positif aérobie <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus</i> bêta hémolytique, <i>Staphylococcus</i> à coagulase, <i>Corynebactéries</i> , <i>entérobactéries</i> , <i>Pseudomonas spp.</i> Bacilles à Gram négatifs non fermentatifs #agents fongiques.
Odeur nauséabonde, nécrose, gangrène	Cocci à Gram positif aérobie, <i>Pseudomonas spp.</i> Bacilles à Gram négatifs non fermentatifs, anaérobie stricts.

**I.2.6- Description de quelques bactéries en cause de l'infection du pied diabétique**

Le diagnostic microbiologique des lésions du pied chez le diabétique est caractérisé par la présence de plusieurs agents pathogènes. Plusieurs études montrent que le profil bactériologique des patients est le plus souvent poly-microbien et que les cocci à Gram positifs sont plus présents que les bacilles à Gram négatifs (Akwah et al., 2015).

### **I.2.6.1-Bactéries à Gram positif**

#### **✓ Les staphylocoques**

Les staphylocoques font partie des bactéries les plus importantes dans la pratique clinique. Ce sont des cocci à Gram positif généralement disposés en amas. L'espèce *Staphylococcus aureus* se distingue généralement des autres staphylocoques appelés staphylocoques à coagulase négative (SCN) par la présence d'une coagulase (**Verdier, 2015**). *S. aureus*, comme toute bactérie pyogène, est à l'origine d'infections suppuratives surtout chez les personnes atteintes du diabète. Ces infections peuvent impliquer une prolifération bactérienne, une invasion, une destruction des tissus de l'hôte et une réponse inflammatoire locale ou systémique (**Denis, 2011**). *S. aureus* est à l'origine des infections cutanées, sous-cutanées muqueuses (superficielles ou profondes), viscérales à partir de bactériémies avec des localisations osseuses, pulmonaires, urogénitales, neuroméningée, cardiaques ou une septicémie.

#### **✓ Les streptocoques**

Ce sont des cocci à Gram positif dépourvus de catalase et de cytochrome oxydase. Ils produisent de l'acide lactique par fermentation de glucose et sont anaérobies-aérotolérants (**Denis, 2011**). Les Streptocoques sont avec les staphylocoques, les bactéries pyogènes. Le plus pathogène d'entre eux est le Streptocoque bêta-hémolytique (*Streptococcus pyogenes*) qui est responsable de la majorité des affections. Les réactions immunologiques de l'hôte infecté par *S. pyogenes* sont beaucoup plus complexes que celles observées lors d'une infection par *S. aureus* (**MSU, 2003**).

#### **✓ Les entérocoques**

Les entérocoques sont des bactéries à Gram positif qui se présentent sous forme de diplocoques ou de coques en chainettes. Ils sont anaérobies facultatifs, immobiles et dépourvus de capsule. Les deux principales espèces importantes en clinique sont *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* ; le premier étant plus fréquemment rencontré que le second (**Stucki, 2014**). Ils font partie des pathogènes nosocomiaux les plus communs, et sont responsables d'infections urinaires ou intra-abdominales, d'abcès viscéraux, de pneumonies, de septicémies, d'endocardites et de méningites (**Hébert, 2008**).

### **I.6.2.2- Bactéries à Gram négatif**

#### **✓ Les entérobactéries**

Les entérobactéries sont des bacilles Gram négatif droits, mobiles par flagelles péritriches, ou immobiles, non sporulés, aérobies facultatifs, produisant de l'acide à partir du

## PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE

---

glucose, catalase positive, oxydase négative, réduisent habituellement les nitrates en nitrite (Madigan, 2007). Les entérobactéries sont une famille très hétérogène pour ce qui est de leur pathogénie et leur écologie. Les espèces qui composent cette famille sont en effet soit pathogènes (*Shigella spp.*, *Yersinia pestis*), soit commensales (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella spp.*), ou alors saprophytes (*Serratia spp.*, *Enterobacter spp.*) (Sougakoff & Trystram, 2003). On distingue :

- ***Escherichia coli***

*Escherichia coli* est un hôte commensal du tube digestif de l'homme et des animaux. La contamination par cette espèce peut se faire par la matière fécale et constitue une source de contamination indirecte. Les infections à *E. coli* peuvent être graves chez les sujets présentant des maladies chroniques comme le diabète et les personnes à immunité.

- **Groupe KES (Klebsiella - Enterobacter - Serratia)**

C'est un groupe assez hétérogène, présent dans l'environnement et chez l'homme (peau, muqueuses, tube digestif...) et surtout à l'hôpital. Il est responsable de diverses affections chez des sujets diabétiques, des patients fragilisés ou traités par des antibiotiques (Denis, 2011).

Le réservoir de *Klebsiella pneumoniae* est l'homme et l'animal. Ce germe est principalement isolé en milieu hospitalier, chez les patients hospitalisés pendant de longues périodes ou bénéficiant de traitements antibiotiques au long cours. Il est également présent en dehors des hôpitaux, notamment chez des patients diabétiques, fortement débilisés, ou souffrant de maladies respiratoires chroniques.

Enterobacter est une bactérie dont l'habitat privilégié est l'intestin humain et animal. On le retrouve également dans les matières fécales, les eaux usées et les produits laitiers. Il est pathogène, opportuniste et responsable d'infections urinaires en milieu hospitalier. Il existe plusieurs bactéries du genre Enterobacter, les plus fréquentes sont *Enterobacter cloacae* et *Enterobacter aerogenes* (Denis, 2011). *Enterobacter cloacae* colonise souvent les patients hospitalisés, plus particulièrement ceux traités par les antibiotiques, et peut être à l'origine d'infections urinaires et de pneumonies, ainsi que d'infections cutanées du pied chez les patients diabétiques.

Le genre *Serratia* est un germe saprophyte présent dans l'eau et les cavités naturelles de l'homme (Denis, 2011). Chez les patients ayant une immunité affaiblie ou des maladies chroniques comme le diabète, cette bactérie peut être responsable de bactériémies, des infections des voies respiratoires inférieures, des infections urinaires et cutanées surtout celles

## PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE

---

du pied diabétique. Des infections dues à ce germe proviennent des patients eux-mêmes ou de leur environnement (**Lavigne & Sotto, 2005**).

- ***Pseudomonas aeruginosa***

C'est une bactérie à Gram négatif aérobie stricte, ubiquitaire, saprophyte et naturellement résistante aux antibiotiques, qui peut devenir un pathogène opportuniste, responsable dans des conditions favorables, d'infections communautaires et surtout nosocomiales graves. Les infections à *P. aeruginosa* surviennent surtout chez les sujets diabétiques, âgés et immunodéprimés et présentant des affections intercurrentes. Ces infections pourront avoir une origine endogène ou exogène. On isole cette espèce de suppurations profondes ou superficielles des urines et plus rarement des hémocultures (**Denis, 2011**).

- **Acinetobacter**

Les Acinetobacter sont des microorganismes ubiquistes de l'environnement naturel et hospitalier. Des espèces d'Acinetobacter font partie de la flore cutanée de l'homme et des animaux, en particulier *A. baumannii*, agent fréquent de colonisation cutanée et muqueuse chez les sujets diabétiques, immunodéprimés ou les patients hospitalisés en unité de soins intensifs. Les pathologies sont des bactériémies, des endocardites, des abcès, des surinfections des plaies, des pneumopathies et des infections urinaires.

### **I.2.6.3-Les levures**

Le genre le plus souvent impliqué est *Candida*. Ce sont des micro-organismes commensaux de l'homme mais, la colonisation diffère de l'infection. Elles sont souvent en cause des infections des voies urinaires touchant la vessie et les reins ; les infections à *Candida* surviennent souvent simultanément avec les infections bactériennes (**Lavigne & Sotto, 2005**).

## **I.3-L'ANTIBIORESISTANCE**

La résistance aux antimicrobiens constitue une menace croissante pour la santé publique. Elle peut toucher toute personne et à n'importe quel âge. Elle est un phénomène naturel mais l'utilisation abusive et excessive des antimicrobiens est le principal facteur ayant conduit à l'apparition de pathogènes résistants aux antimicrobiens (**OMS, 2021**). Des taux de résistance aux antibiotiques ont été observés pour des infections courantes telles que les infections des voies urinaires, des IST et certaines formes de diarrhées ce qui rend difficile le

## PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE

---

traitement (OMS, 2021). Plusieurs mécanismes de résistance ont été mis en évidence chez les bactéries.

### I.3.1-Définition

L'antibiorésistance ou résistance aux antibiotiques est la capacité pour une souche bactérienne de résister aux effets des antibiotiques. Les bactéries résistent aux antibiotiques soit de manière naturelle soit par un mécanisme acquis (figure 4) (Delaere, 2001).

#### I.3.1.1-Résistance intrinsèque ou naturelle

La résistance naturelle ou intrinsèque est un caractère d'espèce qui touche toutes les souches de l'espèce considérée. Elle est stable, transmise à la descendance (elle a pour support génétique le chromosome bactérien) (Lozniewski & Rabaud, 2012). Cette résistance peut être due à l'inaccessibilité de la cible par l'antibiotique, à une faible affinité de la cible avec l'antibiotique ou encore à l'absence de la cible. C'est le cas de Staphylocoque et de Pseudomonas qui résistent aux quinolones car ont une faible affinité pour les gyrases de ces espèces.

#### I.3.1.2-Résistance extrinsèque ou acquise

La résistance acquise est un caractère qui ne concerne que quelques (ou parfois de nombreuses) souches d'une espèce donnée. C'est un phénomène qui apparaît au niveau des souches d'une espèce donnée, normalement sensible à cet antibiotique ; elle est moins stable, mais se propage souvent de façon importante. Elle résulte d'une modification du capital génétique de la bactérie, lui permettant de tolérer une concentration d'antibiotique plus élevée que celle qui inhibe les souches sensibles de la même espèce ; elle a été observée dès le début de l'antibiothérapie (Lozniewski & Rabaud, 2012). Ce type de résistance est le résultat d'une modification génétique pouvant avoir pour origine deux processus évolutifs différents (Muylaert & Mainil 2013) :

- ✓ La transmission verticale (mutation spontanée)
- ✓ La transmission horizontale (transfert de matériel génétique entre différentes souches ou espèces).

C'est le cas du *S. aureus* chez qui l'acquisition du gène *MecA* induit la synthèse de PLP ce qui entraîne une résistance à l'ensemble des  $\beta$ -lactamines.

### **I.3.2-Mécanismes génétiques de la résistance**

#### **I.3.2.1-Résistance chromosomique**

C'est le résultat d'une mutation, elle est rare, dû au hasard et indépendante. Elle n'est pas provoquée par la présence d'antibiotique mais l'antibiotique révèle la mutation de résistance en sélectionnant les bactéries mutantes résistantes ou simplement en détruisant les bactéries sensibles à l'antibiotique (**Lozniewski & Rabaud, 2012**). Elle est transmissible et a un caractère héréditaire.

#### **I.3.2.2-Résistance extra-chromosomique**

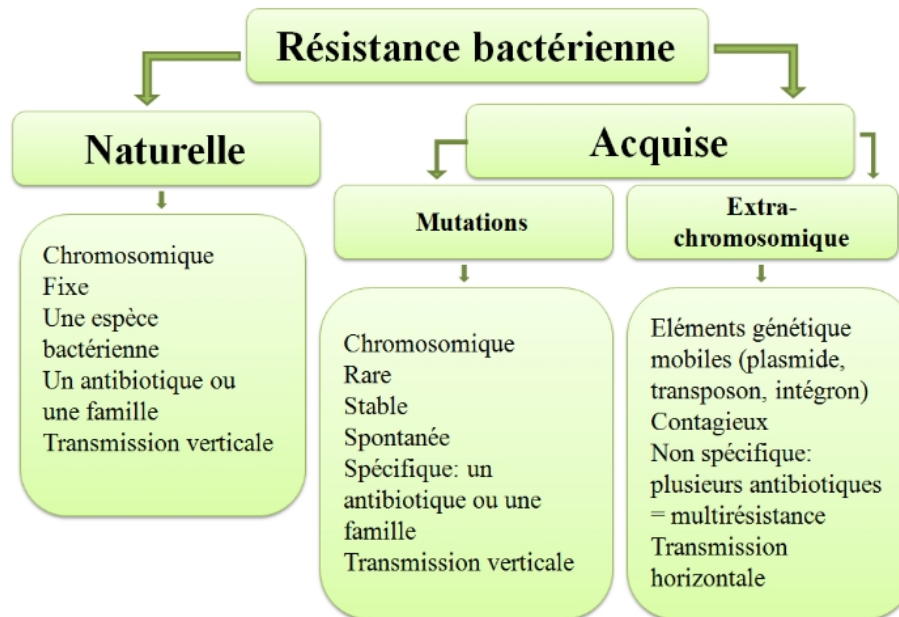
Elle correspond à l'acquisition de gènes de résistances transférables d'une bactérie donneuse à une autre bactérie dite receveuse (transmission horizontale).

##### **I.3.2.2.1-Les plasmides**

Ce sont des éléments d'ADN bicaténaire, circulaires, extra chromosomiques capables de se répliquer de façon autonome. L'information génétique est portée par des plasmides, transférables à d'autres bactéries par conjugaison, transduction ou transformation. La résistance plasmidique est liée à la synthèse de protéines additionnelles et non à une modification des constituants normaux de la bactérie. Les bactéries porteuses de plasmides sont normales alors que les bactéries résistantes par mutation sont souvent fragilisées. Aussi, les bactéries porteuses de plasmides ne sont pas ou peu contre sélectionnées en l'absence d'antibiotique. Il est important de noter que la résistance extra-chromosomique est souvent une multi-résistance, l'utilisation d'un seul antibiotique va sélectionner des bactéries multi-résistantes qui ne sont pas contre l'antibiotique (**Hnich., 2017**). Comme pour la résistance chromosomique, les gènes de la résistance extra-chromosomique ne sont pas induits par l'utilisation des antibiotiques qui se contentent de sélectionner les bactéries résistantes (**Lozniewski & Rabaud, 2012**).

##### **I.3.2.2.2-Transposons**

Transposons ou éléments génétiques transposables sont des séquences d'ADN double brin linéaires, qui n'apparaissent jamais à l'état libre, n'ayant pas d'existence autonome stable, ils peuvent se déplacer, s'insérer à différents endroits dans un génome ou plasmide pour être dupliqués et exprimés. Ces éléments "sauteurs" comprennent généralement des gènes de résistance ou facteurs impliqués dans la pathogénicité (**Boudjehem, 2018**).



**Figure4.** Les deux types de résistance bactérienne aux antibiotiques (Azmoun, 2016)

### I.3.2.3-Résistance croisée

Elle est observée lorsqu'une résistance à un antibiotique engendre une résistance à un autre par un seul et même mécanisme biochimique. De plus, le phénomène de résistance croisée peut survenir parmi tous les membres d'une classe d'antibiotiques, comme c'est le cas pour les sulfamides ; ou peut être limité à quelques membres d'un groupe, comme pour les aminoglycosides, ou bien peut impliquer des antibiotiques appartenant à des classes différentes (Muylaert & Mainil, 2013). Parmi les cas de résistance croisée, on peut citer les mutations dans les topoisomérases de type II, gyrase et topoisomérases IV, conférant la résistance aux Fluoroquinolones.

### I.3.2.4-Co-résistance

La co-résistance se définit comme l'existence au sein d'une bactérie de plusieurs mécanismes conférant chacun une résistance à diverses familles d'antibiotiques. Les gènes correspondants sont souvent adjacents et exprimés d'une façon coordonnée comme dans les intégrons. (Muylaert & Mainil, 2013).

### I.3.3-Mécanismes biochimiques de la résistance

Il existe plusieurs mécanismes permettant aux bactéries de résister à l'action des antibiotiques. Les mécanismes de résistance connus actuellement résultant de la pression de

## PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE

---

sélection exercée par les ATBs (Antibiotiques) sont les suivants (**Bevilacqua, 2011**) (figure 5)

:

- L'inactivation enzymatique par la sécrétion d'une enzyme.
- L'efflux actif.
- La modification de la cible.
- La diminution de la perméabilité (porines) à l'antibiotique

### I.3.3.1-Mécanismes d'inactivations enzymatiques de l'antibiotique

L'inactivation enzymatique de l'antibiotique représente le principal mécanisme de résistance des bactéries vis-à-vis des bêta-lactames, des aminoglycosides et des phénicolés. On décrit également ce type de résistance pour le groupe MLS (macrolides, lincosamides, streptogramines), pour les tétracyclines, pour la fosfomycine et plus récemment pour les fluoroquinolones, bien que cette inactivation ne représente pas le mécanisme de résistance qui prévaut pour ces molécules (**Muylaert & Mainil 2013**). L'enzyme en modifiant le noyau actif de l'antibiotique par clivage ou par addition d'un groupement chimique, empêche la fixation de l'antimicrobien sur sa cible et provoque une perte d'activité. Parmi les réactions biochimiques catalysées par ces enzymes bactériennes, on peut citer des hydrolyses, des acétylations, des phosphorylations, des nucléotidylations, des estérifications, des réductions et des réactions d'addition d'un glutathion. Ces enzymes sont généralement associées à des éléments génétiques mobiles (**Guardabassi & Courvalin, 2005**) ; (**Alekshun & Levy, 2007**).

### I.3.3.2-Modification de la cible de l'antibiotique

La cible de l'antibiotique peut être structurellement modifiée ou remplacée, de telle sorte que le composé antibactérien ne puisse plus se lier et exercer son activité au niveau de la bactérie. La modification de la cible, mécanisme de résistance décrit pour presque tous les antibiotiques, est particulièrement importante pour les résistances aux pénicillines, aux glycopeptides et aux molécules du groupe MLS chez les bactéries Gram positives, et pour les résistances aux quinolones chez les bactéries Gram positives et Gram négatives (**Muylaert and Mainil 2013**). Ce type de résistance peut être la conséquence de l'acquisition de matériel génétique mobile codant pour une enzyme modifiant la cible de l'antibiotique, ou peut résulter d'une mutation au niveau de la séquence nucléotidique de la cible. Le remplacement de la cible de l'antibiotique est, quant à lui, un mécanisme décrit pour les sulfamides, les diaminopyrimidines (triméthoprimine) et les bêta-lactames dont *S. aureus* résistants à la méthicilline (SARM) ainsi que toutes les bêtalactames d'usage vétérinaire qui sont un

## PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE

---

exemple remarquable par la synthèse d'une nouvelle PBP (*Penicillin Binding Protein*) possédant une affinité moindre pour la méthicilline (Guardabassi & Courvalin, 2005) (Alekhun & Levy, 2007).

### I.3.3.3- Mécanisme d'efflux actif

L'efflux actif, médié par des protéines transmembranaires connues sous le terme de pompes à efflux ou transporteurs actifs, est un mécanisme nécessitant de l'énergie et utilisé par les bactéries, par les cellules eucaryotes dont notamment les protozoaires, pour expulser à l'extérieur des métabolites et des composés toxiques étrangers tels que des antibiotiques et d'autres médicaments. Ces pompes à efflux ont généralement une spécificité de substrats assez large, et seulement certaines d'entre elles confèrent une résistance aux antibiotiques. La résistance provient de la réduction de concentration en antimicrobien dans le cytoplasme de la bactérie, ce qui prévient et limite l'accès de l'antibiotique à sa cible. On classe ces pompes à efflux sur la base notamment de leur spécificité de substrats et de la source d'énergie employée. Certains de ces transporteurs sont très spécifiques et on les appelle pompes SDR (pour *Specific Drug Resistance*), alors que d'autres agissent sur une multitude de molécules et on les nomme pompes MDR (pour *Multiple Drug Resistance*) (Muylaert and Mainil 2013). Les pompes SDR, généralement responsables de hauts niveaux de résistance et dont les gènes sont portés par des éléments génétiques mobiles, représentent un important mécanisme de résistance aux tétracyclines essentiellement parmi les bactéries Gram négatives, aux composés du groupe MLS et aux phénicolés. Les pompes MDR sont généralement responsables de bas niveaux de résistance et dont les gènes sont fréquemment chromosomiques, sont classées en deux groupes sur la base de la source d'énergie utilisée :

- Les transporteurs ABC (pour ATP-binding cassette) utilisant l'hydrolyse de l'ATP et plutôt spécifiques de certains composés comme le groupe MLS
- Les transporteurs secondaires exploitant le gradient électrochimique transmembranaire de protons et d'ions sodium pour expulser la molécule à l'extérieur de la cellule et responsables de résistances multiples aux antibiotiques (Guardabassi & Courvalin, 2005) (Alekhun & Levy, 2007).

### I.3.3.4-Réduction de la perméabilité membranaire

La réduction de la perméabilité membranaire se produit par diminution de l'entrée de l'antibiotique sur son site, provoquée par une modification de la perméabilité de la membrane interne ou externe de la bactérie. Cette forme de résistance peut s'exercer d'une part, au même

## PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE

endroit sur plusieurs classes d'antibiotiques. Etant donné que de nombreux médicaments peuvent emprunter la même porine ; et d'autre part, elle peut être spécifique, lorsqu'un seul agent emprunte cette porine. Par exemple, la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* à l'imipénème illustre la résistance spécifique causée par la perte d'une porine propre aux Carbapénèmes (Fosseprez, 2013). Ce mécanisme n'est cependant pas très performant, car il suffit d'augmenter les doses d'antibiotiques pour faire face à cette baisse de la perméabilité membranaire.

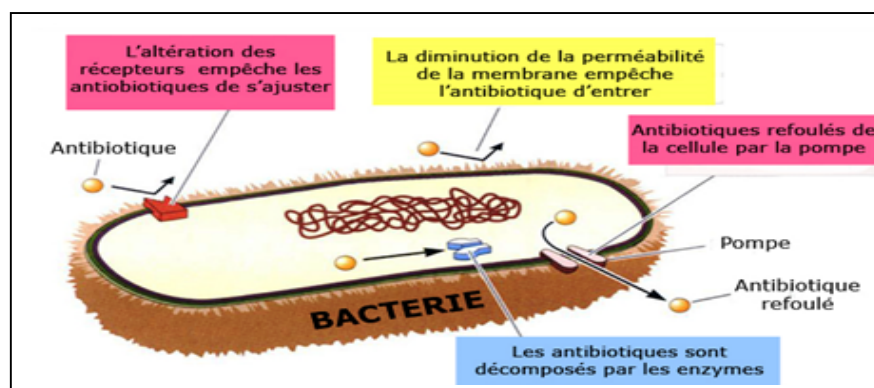


Figure 5 : Mécanismes de la résistance aux antibiotiques (Mrich, 2018)

### I.4- LES BETA-LACTAMASES

#### I.4.1- Généralités

##### I.4.1.1- Définition

Les bêta-lactamases sont une classe diverse d'enzymes produites par des bactéries qui dégradent l'anneau des bêta-lactamines inactivant l'antibiotique bêta-lactame. Elles ont été découvertes en France dans les années 80 puis en Allemagne et sont induites soit par des plasmides, soit par la mutation du génome naturel. Les deux mécanismes confèrent aux bactéries touchées la capacité d'hydrolyser une grande variété de pénicillines et de céphalosporines (Samir & Raymond, 2009). Les bêta-lactamases sont retrouvées principalement dans la famille des entérobactéries dont *E. coli* et *Klebsiella*, plus rarement chez *Serratia*, *Citrobacter*, *Morganella*, *Proteus* ou des BGNNF.

#### I.4.2- Classification

Douze ans après les travaux de Fleming, Abraham et Chain ont découvert en 1940 une enzyme bactérienne qui pouvait inactiver la pénicilline, qu'ils ont nommée pénicillinase. Depuis, plusieurs milliers de  $\beta$ -lactamases ont été identifiées et classées (Bonnet, 2021). Les  $\beta$ -lactamases sont généralement classées selon deux schémas : La classification moléculaire

**PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES  
PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE**

---

d'Ambler et la classification fonctionnelle de Bush-Jacoby- Medeiros. La classification moléculaire se base sur la structure primaire des différentes  $\beta$ -lactamases et les répartit en quatre classes (A à D). La classification fonctionnelle se base sur la fonctionnalité des  $\beta$ -lactamases (substrat, profil d'inhibition). Néanmoins la classification la plus utilisée est celle d'Ambler (**Bonnet, 2021**). On distingue :

<b>Types de béta-lactamases</b>	<b>Fonctions</b>
<b>Classe A</b>	Les enzymes de cette classe constituent le groupe le plus important. Elles hydrolysent surtout les pénicillines et sont sensibles aux inhibiteurs de $\beta$ -lactamases utilisables en clinique (acide clavulanique, tazobactam et sulbactam). Dans cette classe, on différencie selon leur spectre d'hydrolyse, trois grandes sous familles : les pénicillinases, les $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSEs) qui sont des pénicillinases qui ont acquis une activité contre certaines céphalosporines à large spectre (ou céphalosporines de 3ème génération [C3G]) et les carbapénèmases de classe A qui hydrolysent les pénicillines, les céphalosporines et les carbapénèmes.
<b>Classe B</b>	Elles ont un large spectre d'action qui inclut les pénicillines, les céphalosporines et les carbapénèmes. Par contre, elles ne peuvent pas hydrolyser les monobactames (aztréonam). Leur activité dépend de la présence d'ions $Zn^{2+}$ au niveau du site actif et n'est pas influencée par les inhibiteurs classiques de $\beta$ -lactamases. Mais des agents chélateurs d'ion divalents, tel que l'EDTA (Acide éthylène diamine tetra-acétique), inhibent efficacement ces métallo- $\beta$ -lactamases.
<b>Classe C</b>	Leur spectre d'hydrolyse inclut les pénicillines (pénicillines G, A et V) et les céphalosporines de première génération (et pour certaines de deuxième génération). Elles peuvent aussi hydrolyser les carboxypénicillines (ticarcillines), les uréidopénicillines (pipéracilline), l'aztréonam et les C3G si elles sont hyperproduites : on parle alors des « céphalosporinases de haut niveau ». Les céphalosporines de quatrième génération (céfépime, cefpirome) et les carbapénèmes sont peu ou pas hydrolysées. Ces céphalosporinases ne sont pas sensibles aux inhibiteurs classiques de $\beta$ -lactamases. Par contre, elles sont inhibées par la cloxacilline et l'oxacilline.

## PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE

<b>Classe D</b>	Cette classe de $\beta$ -lactamases est la plus hétérogène. Ces enzymes ont été nommées initialement oxacillinases car elles hydrolysaient plus vite l'oxacilline que la pénicilline G. Ici, on différencie des oxacillinases à spectre étroit (hydrolyse des pénicillines et des céphalosporines de première génération), des oxacillinases à spectre élargi aux céphalosporines (2ème, 3ème et 4ème génération) et des oxacillinases ayant une activité carbapénèmase. L'activité de ces enzymes n'est généralement pas affectée par les inhibiteurs classiques de $\beta$ -lactamases. Pour certaines oxacillinases, une activité inhibitrice du chlorure de sodium a été mise en évidence in vitro.
-----------------	---

### I.4.3- Caractérisation des phénotypes de $\beta$ -lactamases

Les phénotypes de  $\beta$ -lactamases les plus rencontrés sont les suivants : Les  $\beta$ -lactamases AmpC, les BLSE ( $\beta$ -lactamases à spectre élargi) et les MBL (Métallo- $\beta$ -lactamases). Ces 3 phénotypes sont déterminés par des méthodes standards appropriés qui reposent toutes sur la diffusion des disques d'antibiotiques sur milieu Muller Hinton Agar et l'interprétation par la mesure des diamètres d'inhibition au tour des disques. Ces méthodes permettront non seulement de mettre en évidence la production des  $\beta$ -lactamases mais aussi de déterminer le type de  $\beta$ -lactamases produit.

**CHAPITRE II :**  
**MATERIEL ET METHODE**

# PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE

---

## II.1-CADRE DE L'ETUDE

### II.1.1-Type d'étude

Il s'agissait d'une étude prospective, transversale et à visée descriptive.

### II.1.2- Lieu d'étude

Les participants ont été recrutés à l'Hôpital Central de Yaoundé (HCY) au service d'Endocrinologie, Diabétologie et maladies métaboliques. Les échantillons recueillis ont été analysés au laboratoire Sion de Yaoundé : un laboratoire d'analyses médicales.

### II.1.3-Periode d'étude

Notre étude s'est étendue sur une durée de (06) mois allant du mois de juillet au mois de décembre 2023

### II.1.4- Population d'étude

L'étude a porté sur des patients diabétiques venus en consultation ou initialement hospitalisés pour une plaie diabétique à l'Hôpital Central de Yaoundé et répondants aux critères d'inclusion suivants.

- **Critère d'inclusion**

Etaient inclus dans notre étude :

Les patients diabétiques venus en consultation pour une plaie diabétique ou initialement hospitalisés à l'HCY au CNO (Centre National de l'Obésité) et ayant accepté de participer à l'étude

- **Critères de non inclusion**

N'étaient pas inclus dans notre étude :

- Les patients diabétiques venus en consultation n'ayant aucune plaie ;
- Les patients diabétiques venus en consultation pour une plaie n'ayant pas accepté de participer à l'étude,

### II.1.5-Taille de l'échantillon

La prévalence du pied diabétique au Cameroun est de 13% (**Tchakonte, 2004**). Cette prévalence nous a permis de calculer la taille minimum de l'échantillon selon la formule de

$$\text{Lorenz. : } N = \frac{t^2 \times p(1-p)}{m^2}$$

$$N = \frac{1.96^2 \times 0.055 \times (1-0.055)}{0.05^2}$$

## **PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES PLAIS DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE**

---

= 172 = taille de l'échantillon avec t : niveau de confiance à 95 % = 1,96

m : marge d'erreur à 5 % = 0,05

p = prévalence ou proportion de la variable étudiée dans la population

### **II.2-MATERIEL**

Pour mener à bien cette étude le matériel suivant a été utilisé :

#### **II.2.1-Matériau de collecte de données**

Le matériel de collecte de données a été constitué de :

Des fiches de questionnaires anonymes, qui ont permis de recueillir les données et paramètres biologiques, des formulaires de consentements éclairés, pour le respect des questions éthiques, des fiches d'information, afin d'informer les participants des contours de l'étude, du matériel de bureau.

#### **II.2.2-Matériau de prélèvement et de transport**

Le matériel de prélèvement était constitué : de gants stériles, d'écouvillons, un sérum physiologique stérile, des compresses, des lames de bistouri, une solution de décontamination et une glacière de transport des échantillons triples emballages.

#### **II.2.3-Matériau d'analyse bactériologique**

Pour l'analyse bactériologique des échantillons, nous avons eu besoin de :

- ❖ Analyse microscopique : des lames porte-objet, des lamelles, d'un microscope optique, des réactifs pour coloration de Gram,
- ❖ Pour l'isolement : des milieux de culture notamment le milieu EMB (pour l'isolement des bactéries Gram négatif), milieu Chapman (pour isolement des cocci à Gram positif notamment le Staphylocoque), gélose Columbia (pour l'isolement des Streptocoques) et le milieu Sabouraud + Gentamicine (pour l'isolement des levures), d'une étuve, des boîtes de pétri, des anses de platine, d'un bec bunsen,
- ❖ Pour l'identification : des galeries API 20<sup>E</sup>,
- ❖ Pour l'antibiogramme : de l'eau physiologique stérile, des disques d'antibiotiques, milieu Mueller-Hinton, anses de platine

#### **II.2.4-Matériel de gestion de déchets**

Le matériel de gestion de déchets était constitué de solution de décontamination, des bacs à ordures pour objets non infectieux et bac à ordures pour objets infectieux.

### **II.3-METHODES**

#### **II.3.1- Phase pré-analytique**

##### **II.3.1.1- Méthode de collecte des données**

Elle a consisté à se rapprocher du patient chez qui on avait diagnostiqué une infection de plaie diabétique. L'importance de l'étude a été au préalable expliqué à chaque patient présentant une plaie au pied et confirmés diabétique par les médecins. Après avoir compris et consenti à participer, les patients ont signé une fiche de consentement et par la suite un questionnaire leur a été présenté pour recueillir des données cliniques. Le questionnaire incluait les paramètres suivants : (annexe 3)

- Le sexe
- L'âge
- Les antécédents médicaux
- Prise d'antibiotiques : si oui lesquels ?
- Maladies autres que le diabète (facteurs de risque)
- Le grade de la plaie
- Les complications
- Le type de diabète

##### **II.3.1.2-Prélèvement**

Le prélèvement s'est fait à l'aide d'un écouvillon stérile dans les conditions strictes d'asepsie afin d'éviter toute éventuelle contamination des échantillons. Les étapes du prélèvement étaient les suivantes :

- Se munir de gants stériles
- Procéder à la préparation de la plaie (débridement, nettoyage au sérum physiologique stérile)
- Prélever la plaie à l'aide d'un écouvillon sec stérile
- Etiqueter l'échantillon
- Acheminer l'échantillon au laboratoire pour analyse

### **II.3.1.3-Préparation des milieux de culture et contrôle qualité du matériel**

La préparation des milieux s'est faite suivant les recommandations des fabricants. Un contrôle qualité a été effectué sur les différents milieux (Il s'agissait des tests de fertilité, stérilité et spécificité).

### **II.3.2- Phase analytique**

Une fois au laboratoire, les échantillons ont été enregistrés, codifiés et transférés sur la paillasse de bactériologie afin de commencer l'analyse. En raison de l'omniprésence des micro-organismes, l'analyse s'est faite en respectant les conditions d'asepsie et en travaillant autour de la flamme d'un bec bunsen.

#### **II.3.2.1 Examen macroscopique**

Il renvoie à la description des caractéristiques visibles à l'œil nu de l'échantillon. La couleur, l'odeur et de l'aspect ont été notés.

#### **II.3.2.2 Examen microscopique**

##### **❖ Etat frais (examen direct)**

L'observation d'une goutte de l'échantillon monté entre lame et lamelle nous a permis d'observer la présence cellulaire (présence des leucocytes et des hématies), et apprécier la mobilité des germes.

##### **❖ Etat coloré (coloration de Gram)**

Il s'agissait de faire une coloration de Gram, mise au point par Hans Gram en 1884 afin de différencier les bactéries Gram négatif des bactéries Gram positif.

#### **II.3.2.3-Isolement et identification des bactéries**

Chaque échantillon étaitensemencé par la technique des stries dans les 4 milieux de culture gélosés suivants : EMB, Chapman, chocolat (gélose au sang cuit) et Sabouraud + gentamicine. Les boites de pétri étaient ensuite incubées pendant 24h à 37 ° C. En cas de culture positive, les germes étaient identifiés à partir de leurs caractères cultureux et biochimiques. Les espèces de bactéries de types bacille à Gram négatif étaient identifiées à l'aide de la Galerie API 20 E et les Coccis à Gram positifs grâce aux tests de catalase et de coagulase.

##### **- Principe d'identification par la galerie API 20E**

La galerie API 20E est une version miniaturisée et standardisée des techniques biochimiques conventionnelles pour l'identification des entérobactéries et bactéries à Gram

## PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE

---

négatif. La galerie API 20E comporte 20 micro-tubes contenant des substrats sous forme déshydratée, ces micro-tubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition des réactifs (Biomérieux, 2019).

### -Technique du MALDI-TOF :

Les isolats qui n'ont pas pu être identifiés par les techniques spécifiques ont été identifiés par la technique du MALDI-TOF.

#### ❖ Procédure du MALDI-TOF: (Biomérieux, 2023) (annexe 12)

✓ **Principe du maldi-tof** : La spectrométrie de masse MALDI-TOF (une désorption-ionisation laser assistée par matrice) ou (*Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight*) repose sur une technique d'ionisation et de désorption conduisant à l'identification de biomarqueurs de poids moléculaires élevés et à les comparer à une base de données protéomique. Un algorithme peut donc prédire les masses des protéines à partir d'un génome séquencé et rechercher des correspondances avec les masses obtenues expérimentalement.

### II.3.2.4-Antibiogramme

Nous avons utilisé la méthode de diffusion sur milieu gélosé de Mueller-Hinton. Pour chaque test une suspension bactérienne correspondante à la turbidité 0,5 McFarland ( $1,5 \times 10^8$  cellules/mL) a été préparée à partir des cultures pures des bactéries isolées de nos échantillons et ensemencée par inondation sur gélose Mueller-Hinton. Après ensemencement et séchage, les disques d'antibiotiques ont été déposés à la surface de la gélose en respectant les conditions d'asepsie à l'aide d'une pince. La lecture et l'interprétation ont été faites en mesurant les diamètres d'inhibition à l'aide d'une règle après 24h d'incubation à 37°C à l'incubateur. Le choix des antibiotiques ainsi que l'interprétation des diamètres d'inhibition ont été effectués selon le référentiel M100-S30 du CLSI (CLSI, 2022). Cette interprétation faisait ressortir 3 types de résultats possibles. Vis-à-vis des antibiotiques testés, les bactéries pouvaient être :

- Résistantes (R )
- Intermédiaire (I)
- Sensibles (S)

### II.3.2.5-Caractérisation des phénotypes de béta-lactamases (phénotype de résistance)

#### ✓ Mise en évidence des béta-lactamases de type AmpC : (annexe 6)

La souche bactérienne à tester doit préalablement être résistante à la Cefoxitine. Le

## **PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE**

---

principe de ce test repose sur la propriété inhibitrice de la cloxacilline sur les bêta-lactamases de type AmpC et leur résistance naturelle à la cefoxitine. Ainsi lorsque le diamètre de la zone d'inhibition de la cefoxitine + cloxacilline est supérieure (différence  $\geq 4$ mm) comparée à celle de la cefoxitine seule, cela traduit la présence d'une bêta-lactamases de type AmpC.

### **Mode opératoire**

- Disposer deux disques d'antibiotiques, un chargé de 30 $\mu$ g de cefoxitine et un second chargé de 200ug de cloxacilline + 30ug de cefoxitine
- Inoculer la souche sur une gélose Muller-Hinton, déposer les deux disques séparément sur la gélose
- Incuber pendant 16 à 18h à 37°C

Le test est considéré positif si l'augmentation du diamètre d'inhibition autour du disque cefoxitine-cloxacilline est  $\geq 4$ mm par rapport à celui du disque céfoxitine seul.

### **✓ Mise en évidence des métallo bêta-lactamases (carbapénémases) : Test au disque Imipénème -EDTA (Upadhyay et al., 2010) (annexe 7)**

La souche bactérienne à tester doit préalablement être résistante aux carbapénèmes. Le principe de ce test repose sur la propriété inhibitrice de l'EDTA sur les métallo-bêta-lactamases et leur résistance aux carbapénèmes. Ainsi lorsque le diamètre de la zone d'inhibition d'un carbapénème (Imipénème) + EDTA est supérieure (différence  $\geq 7$ mm) comparée à celle de l'imipénème seule, cela traduit la présence d'une métallo-bêta-lactamases.

### **Mode opératoire**

- Disposer deux disques d'antibiotiques, chargés de 10 $\mu$ g d'Imipénème
- Inoculer la souche sur une gélose Muller-Hinton, déposer les deux disques séparément sur la gélose
- Ajouter sur l'un des disques 10 $\mu$ l d'EDTA 0,5M
- Incuber pendant 16 à 18h à 37°C

Le test est considéré positif si l'augmentation du diamètre d'inhibition autour du disque Imipénème+EDTA est  $\geq 7$ mm par rapport à celui autour du disque Imipénème seul

### **✓ Mise en évidence du phénotype BLSE (Béta Lactamases à Spectre Elargi) : Test de synergie des disques (Drieux et al., 2008) (annexe 8)**

Le test de double synergie a été utilisé pour déterminer les souches bactériennes productrices des BLSE. Le principe de ce test repose sur la synergie d'action entre l'acide clavulanique (inhibiteur de bêta-lactamase) et les céphalosporines de 3<sup>e</sup> génération. Cette synergie qui se matérialise par une image des zones d'inhibition

## **PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE**

---

autour des disques d'antibiotiques en forme de « bouchon de champagne », traduit la présence d'une BLSE.

### **Mode opératoire**

- Disposer cinq disques d'antibiotiques, Augmentin, Ceftazidime, Aztreonam, Ceftriaxone, Cefotaxime
- Inoculer la souche sur une gélose Muller-Hinton, déposer de disque Augmentin au centre de la gélose puis les quatre autres autour du disque d'Augmentin avec une distance de 30mm entre l'Augmentin et les autres disques.
- Incuber pendant 16 à 18h à 37°c

Le test est considéré positif s'il y a synergie entre le disque Augmentin et l'un des disques placés autour. La synergie se traduit par la formation d'un bouchon de champagne entre les deux disques

### **II.3.4 Considérations légales et éthiques**

La présente étude impliquait directement les êtres humains. Pour ce fait nous avons obtenu une clairance éthique du comité d'Ethique de microbiologie de l'université de Yaoundé I, une clairance régionale du CRERSH/C (Comité Régional d'Ethique et de Recherche en Santé Humaine du Cameroun) et une autorisation de recherche signée par le Directeur Général de l'HCY. Tous les participants de notre recherche ont été informés sur la nature, la procédure, les risques, et les bénéfices de notre étude. Ils avaient signé un formulaire de consentement éclairé avant toute intervention et leur anonymat a été respecté.

### **II.3.5 Analyses statistiques**

L'analyse et le traitement des données recueillies ont été assurés par les logiciels biostatistiques Stastitical package for social sciences (SPSS) Version 25.0 et Microsoft office Excel version 2016.

**CHAPITRE III**  
**RESULTATS ET DISCUSSION**

**PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES  
PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE**

**III.1-RESULTATS**

**III.1.1- Caractères sociodémographiques et cliniques des participants**

Un total de 106 patients diabétiques a été recruté dans notre étude. Parmi lesquels 62/106 (58,5%) étaient des hommes et 44/106 (41,5%) étaient des femmes. La plage d'âge de nos patients était de 17 à 92 ans avec une moyenne de 58±13 ans et un sex-ratio de 1.40 en faveur des hommes. Le diabète de type II était le plus représenté avec 98/106 patients (92,5%) par rapport au diabète de type I avec 8/106 patients (6,6%). Le grade le plus rencontré était le grade 3 (47,2%), suivi du grade 4 (30,2%) et du grade 2 (18,9%). Les caractères socio-démographiques et cliniques des participants sont présentés dans le tableau (Tableau 4).

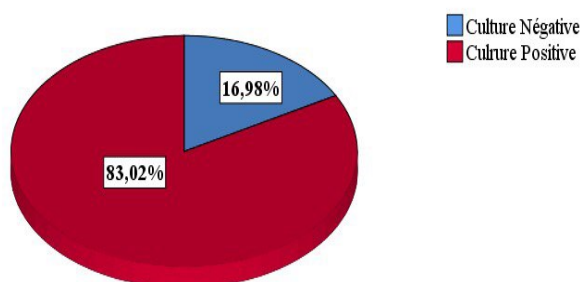
**Tableau 4 :** Caractères sociodémographiques et cliniques de la population d'étude

<b>Caractéristiques Cliniques et socio-démographiques</b>	<b>Modalités</b>	<b>Effectif</b>	<b>Pourcentage (%)</b>
Age	<= 28	6	5,7
	29 - 38	1	0,9
	39 - 48	15	14,2
	49 - 58	25	23,6
	59 - 68	37	34,9
	69 - 78	17	16,0
	79 - 88	3	2,8
	89+	2	1,9
Sexe	Femme	44	41,5
	Homme	62	58,5
Sexe ratio		1.40	
Type de diabète	1	7	6,6
	2	98	92,5
Hypertension Artérielle (HTA)	Non	61	57,5
	Oui	45	42,5
Obésité	Non	89	84,0
	Oui	17	16,0
GRADE	1	3	2,8
	2	20	18,9
	3	50	47,2
	4	32	30,2
	5	1	0,9
Durée du diabète	<1	7	6,6
	[1-6]	45	42,5
	[7-12]	31	29,2
	[13-18]	9	8,5
	[19-24]	10	9,5
	[25-30]	3	2,8
	>30	1	0,9
Complications	Non	67	63,2
	Oui	39	36,8

## PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE

### III.1.2 Fréquence globale de l'infection du pied diabétique

La figure 6 représente la fréquence générale de l'infection du pied diabétique dans la population étudiée. Il en résulte que sur les 106 échantillons collectés durant notre étude 88 ont été déclarés positifs et 18 négatifs ce qui représente respectivement un taux de 83,02% et 16,98%. Parmi les 88 échantillons positifs 50 étaient polymicrobiens et 38 monomicrobiens



**Figure 6 :** Fréquence globale de l'infection du pied diabétique

### III.1.3-Distribution des micro-organismes isolés selon les espèces

Au total, 148 micro-organismes ont été isolés. Parmi ceux-ci 95 (64%) étaient des bactéries à Gram négatifs, 46 (31%) des bactéries à Gram positif et 7 (5%) des espèces fongiques. *Staphylococcus aureus* était la bactérie prédominante (27,7%), suivie de *Klebsiella pneumoniae* (24,3%), *Pseudomonas aeruginosa* (14,9%) et *Escherichia coli* (10,1%). *Candida albicans* était la seule espèce fongique isolée. Le tableau 5 représente la distribution des différentes espèces de micro-organismes isolés de nos échantillons.

**PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES  
PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE**

**Tableau 5** : Distribution des micro-organismes isolés selon les espèces

Gram	Genre	Espèce	Effectif	Fréquence (%)
<b>Bacilles Gram négatifs</b>	<i>Klebsiella</i>	<i>pneumoniae</i>	36	<b>24,32</b>
	<i>Proteus</i>	<i>mirabilis</i>	5	<b>3,38</b>
	<i>Pseudomonas</i>	<i>aeruginosa</i>	22	<b>14,86</b>
	<i>Escherichia</i>	<i>Coli</i>	15	<b>10,14</b>
	<i>Morganella</i>	<i>morganii</i>	6	<b>4,05</b>
	<i>Acinetobacter</i>	<i>baumanii</i>	4	<b>2,70</b>
	<i>Citrobacter</i>	<i>Spp</i>	5	<b>3,38</b>
	<i>Serratia</i>	<i>marcescens</i>	2	<b>1,35</b>
	<i>Enterobacter</i>	<i>cloacae</i>	1	<b>0,68</b>
<b>Coccis Gram positifs</b>	<i>Staphylococcus</i>	<i>aureus</i>	41	<b>27,70</b>
	<i>Streptococcus</i>	<i>Spp</i>	1	<b>0,68</b>
	<i>Staphylococcus</i>	<i>Spp</i>	3	<b>2,03</b>
<b>Fongiques (Levures)</b>	<i>Candida</i>	<i>albicans</i>	7	<b>4,73</b>
<b>Total</b>			148	<b>100</b>

### III.1.4 Corrélations entre les caractéristiques socio-démographiques/cliniques de la population d'étude et la survenue de l'infection

Le tableau 6 ci-dessous représente la corrélation entre les caractéristiques (paramètres socio-démographiques et cliniques) de la population étudiée et la survenue de l'infection du pied diabétique. Le test de khi 2 a été effectué grâce au logiciel SPSS 25.0 et le résultat était considéré comme significatif avec une valeur  $p < 0.05$ . D'après les valeurs p du tableau, seul le type de diabète (notamment le diabète de type 2) représente un facteur favorisant la survenue d'une infection du pied diabétique.

**PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES  
PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE**

**Tableau 6 :** Corrélations entre les caractéristiques socio-démographiques et cliniques de la population d'étude et la survenue de l'infection

Paramètres	Modalités	N	Cas positifs	% cas positifs	Kh2
<b>HTA</b>	Non	61	45	42,5	<b>0,39</b>
	Oui	45			
<b>BMI</b>	Non	89	17	16,0	<b>0,93</b>
	Oui	17			
<b>Complication</b>	Non	67	39	36,8	<b>0,84</b>
	Oui	39			
<b>Durée du diabète</b>	< 1	7	85	6,6	<b>0,95</b>
	[1-6]	45		42,5	
	[13-18]	9		8,5	
	[19-24]	10		9,4	
	[25-30]	3		2,8	
	[7-12]	31		29,2	
	> 30	1		0,9	
<b>Type de diabète</b>	1	7	88	83.0	<b>0,004</b>
	2	99			
<b>Age</b>	<28	6	3	2.8	<b>0,096</b>
	29 – 38	1	0	0	
	39 – 48	15	13	12,2	
	49 – 58	25	20	18.8	
	59 – 68	37	33	31.1	
	69 – 78	17	15	14.1	
	79 – 88	3	2	1,9	
	89+	2	2	1,9	
<b>Sexe</b>	Hommes	62	35	33.0	<b>0.42</b>
	Femmes	44	35	33.0	

**III.1.5- Corrélations entre les caractéristiques cliniques de la population d'étude et la présence des bactéries productrices de bêta-lactamases**

Le tableau ci-dessous représente les différentes corrélations entre les différents paramètres cliniques de la population étudiée et la présence des bactéries productrice bêta-lactamases. Le test de khi 2 a été effectué grâce au logiciel SPSS. Le résultat était considéré comme significatif lorsque la valeur  $p < 0.05$ . D'après les valeurs p du tableau, il n'y a pas de corrélation significative entre les caractéristiques des patients et la présence des bactéries productrice de bêta-lactamase (Tableau 7)

**PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE**

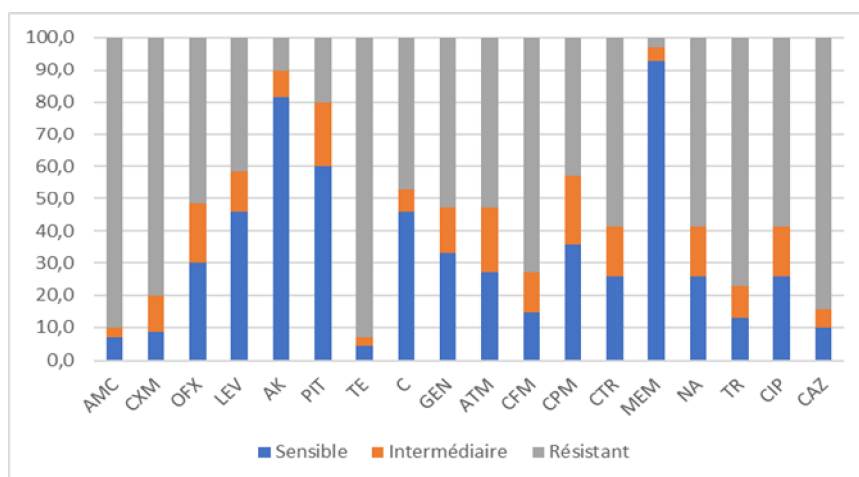
**Tableau 7 :** Corrélations cliniques de la population d'étude et la production de bêta-lactamases

Paramètres	Modalités	N	Cas positifs	%	Kh2
<b>HTA</b>	Non	61	38	35,8	<b>0,98</b>
	Oui	45			
<b>BMI</b>	Non	81	30	28,3	<b>0,24</b>
	Oui	25			
<b>Complication</b>	Non	67	38	35,8	<b>0,42</b>
	Oui	39			
<b>Durée du diabète</b>	< 1	7	3	2,8	<b>0,25</b>
	[1-6]	45	13	12,2	
	[13-18]	9	4	3,7	
	[19-24]	10	5	4,7	
	[25-30]	3	1	0,9	
	[7-12]	31	10	9,4	
	> 30	1	0	0	
<b>Type de diabète</b>	1	7	0	0	<b>0,99</b>
	2	99	38	35,8	

### III.1.6 Profil de résistance des souches bactériennes identifiées

#### III.1.6.1 Cas des isolats d'Entérobactéries

La fréquence de résistance de souches d'entérobactéries représentée par la figure 8 révèle un taux élevé de résistance vis-à-vis de certaines bêta-lactamines (Augmentin, Cefuroxime, Ceftazidime Cefixime), soit 42 à 90% de taux de résistance. Par contre on observe un faible taux de résistance pour le meropenème et l'amikacine (4% et 10%) (Figure 8).



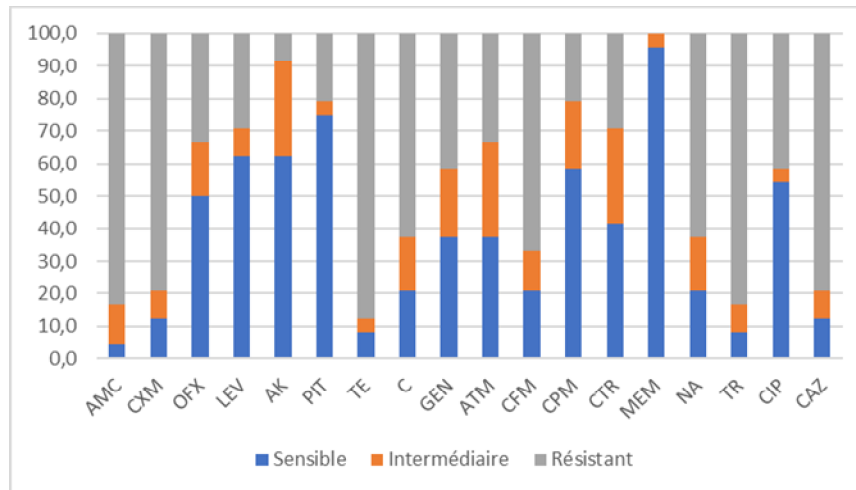
**Figure 7 : Fréquence de résistance des isolats d'entérobactéries**

AMC : Amoxicilline/acide clavulanique, CXM : Cefuroxime, OFX : Ofloxacine, LEV : Levofloxacine, AK : Amikacine, PIT : Piperacilline-tazobactam, TE : Tétracycline, C : Chloramphénicol, GEN : Gentamicine, ATM : Aztreonam, CFM : Cefixime, CPM : Cefepime, CTR : Ceftriaxone, MEM : Meropenème, NA : Acide nalidixique, TR : Triméthoprime-sulfaméthoxazole, CIP : Ciprofloxacine, CAZ : Ceftazidime

## PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE

### III.1.6.2 Cas des isolats de *Pseudomonas aeruginosa*

La fréquence de résistance aux antibiotiques des isolats de *Pseudomonas* représenté par la figure 9 révèle un important taux de résistance (69 à 82%) vis-à-vis des beta-lactamines suivantes : augmentin, cefuroxime, ceftazidime, cefixime. Par contre un faible taux de résistance a été observé avec le méropénème et l'Amikacine avec des taux de résistance de 5% et 10% respectivement.



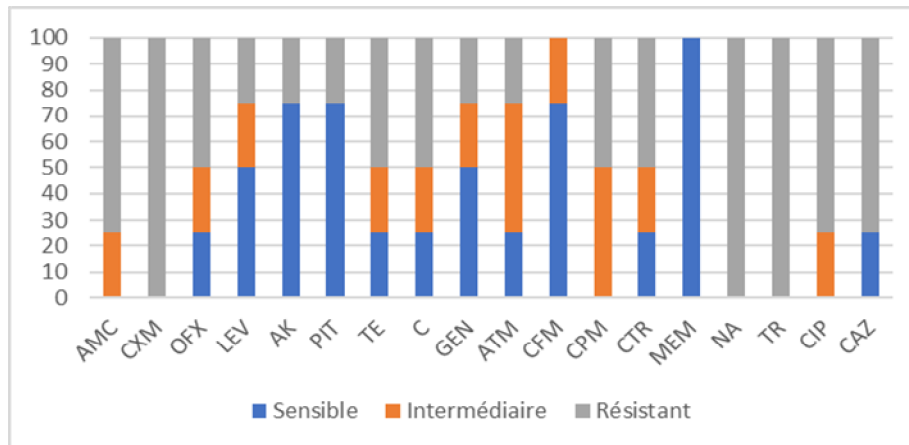
**Figure 8 :** Fréquence de résistance des isolats de *Pseudomonas aeruginosa*

**AMC :** Amoxicilline/acide clavulanique, **CXM :** Cefuroxime, **OFX :** Ofloxacine, **LEV :** Levofloxacine, **AK :** Amikacine, **PIT :** Piperacilline-tazobactam, **TE :** Tetracycline, **C :** Chloramphénicol, **GEN :** Gentamicine, **ATM :** Aztreonam, **CFM :** Cefixime, **CPM :** Cefepime, **CTR :** Ceftriaxone, **MEM :** Méropénème, **NA :** Acide nalidixique, **TR :** Triméthoprime-sulfaméthoxazole.

### III.1.6.3 Cas des isolats d'*Acinetobacter baumannii*

La figure 10 ci-dessous présente la fréquence de résistance aux antibiotiques des isolats d'*Acinetobacter baumannii*. Parmi les antibiotiques testés, le méropénème est le seul pour lequel aucune résistance n'a été observé (soit un taux de 0%). Cependant on a noté des taux importants de résistance (50 à 100%) pour certaines bêta-lactamines comme augmentin, cefuroxime, ceftazidime et cefepime

**PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE**

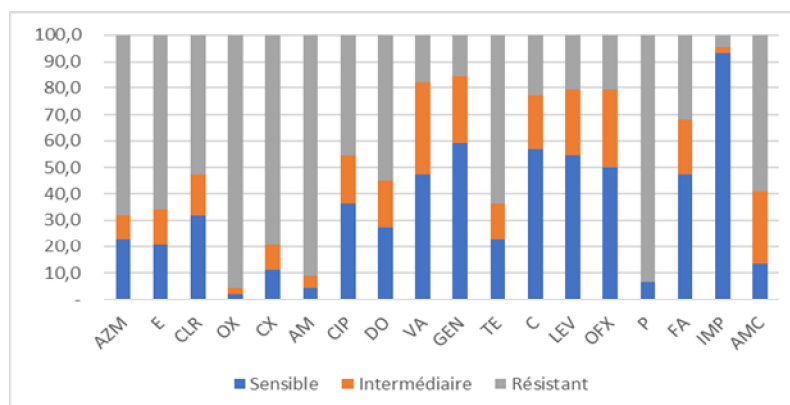


**Figure 9 :** Fréquence de résistance des isolats d'*Acinetobacter baumannii*

AMC : Amoxicilline/acide clavulanique, CXM : Cefuroxime, OFX : Ofloxacin, LEV : Levofloxacin, AK : Amikacine, PIT : Piperacilline-tazobactam, TE : Tétracycline, C : Chloramphénicol, GEN : Gentamicine, ATM : Aztreonam, CFM : Cefixime, CPM : Cefépime, CTR : Ceftriaxone, MEM : Méropénème, NA : Acide nalidixique, TR : Triméthoprime-sulfaméthoxazole, CIP : Ciprofloxacine, CAZ : Ceftazidime

**III.1.6.4 Cas des isolats de *Staphylococcus spp***

Sur la figure 11 ci-dessous on observe que les isolats de staphylocoques ont été résistants vis-à-vis des bêta-lactamines (pénicilline, cloxacilline, oxacilline, ampicilline) avec des taux de 80 à 94%, et résistants vis-à-vis des macrolides (érythromycine, azithromycine) avec des taux de 69 à 65%. Cependant on a noté un très faible taux de résistance de l'ensemble des isolats vis-à-vis de l'imipénème (5%)



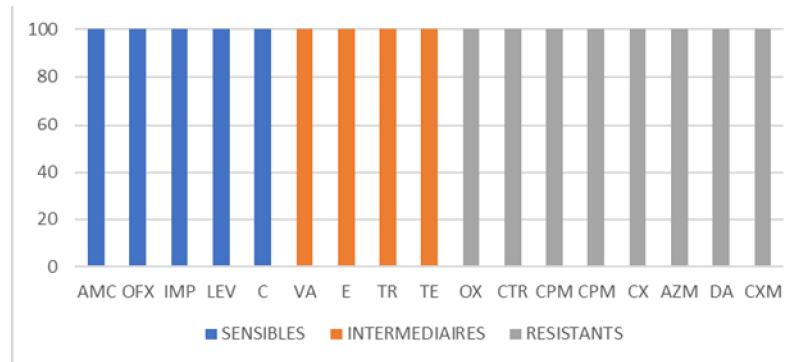
**Figure10 :** Fréquence de résistance des isolats de *Staphylococcus spp*

AZM : Azithromycine ; E : Erythromycine, CLR : Clarithromicine, OX : Oxacilline, CX : Cloxacilline, AM : Ampicilline, CIP : Ciprofloxacine, DO : Doxycycline, VA : Vancomycine, GEN : Gentamicine, TE : Tétracycline, C : Chloramphénicol, LEV : Levofloxacin, OFX : Ofloxacin, P : Pénicilline, FA : Acide fusidique, IMP : Imipénème, AMC : Augmentin

## PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE

### III.1.6.4 Cas des isolats de *Streptococcus spp*

Sur la figure 12 ci-dessous on observe que l'isolat de streptocoque a été résistant vis-à-vis des bêta-lactamines (cefepime, cloxacilline, ceftriaxone, oxacilline, cefuroxime) et résistant vis-à-vis des macrolides (azithromycine). Cependant on n'a pas noté de résistance avec l'imipénème et l'augmentin.

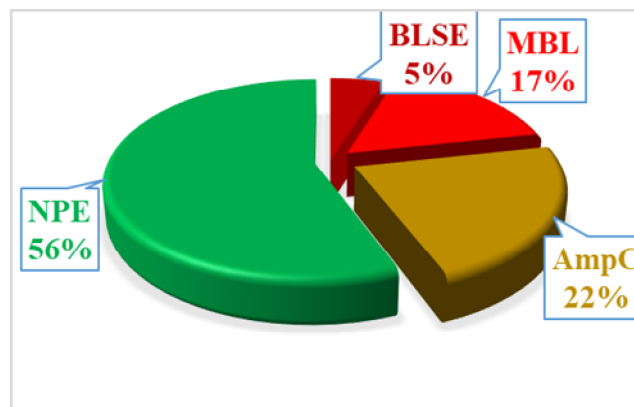


**Figure11** : Fréquence de résistance du *Streptococcus sp*

**AZM** : Azithromycine ; **E** : Erythromycine, **CPM** : Cefepime, **OX** : Oxacilline, **CX** : Cloxacilline, **CXM** : Cefuroxime, **CTR** : Ceftriaxone, **VA** : Vancomycine, **TE** : Tétracycline, **C** : Chloramphénicol, **LEV** : Levofloxacin, **OFX** : Ofloxacin, **CFM** : Cefixime, **DA** : Clindamycine, **IMP** : Imipénème, **AMC** : Augmentin. **TR** : Triméthoprime-sulfaméthoxazole

### III.1.7- Caractérisation des phénotypes de $\beta$ -lactamases des isolats bactériens

Parmi les bactéries testées aux différents phénotypes de bêta-lactamases, 52 étaient positives. Le phénotype majoritaire était le phénotypes AmpC soit 22%, suivit du phénotype MBL avec un taux de 17%, et enfin de phénotype BLSE avec un taux de 5%. 56% des isolats bactériens étaient non producteurs de bêta-lactamases. La prévalence des bactéries productrices de bêta-lactamases est donc de 44%. La figure 12 ci-contre montre la répartition des différents phénotypes de bêta-lactamases obtenu de nos isolats.



**Figure 12** : Répartition des phénotypes de bêta-lactamases

**PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES  
PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE**

---

❖ **Répartition des phénotypes de bêta-lactamases en fonction de l'espèce**

Parmi les bactéries testées, *Staphylococcus aureus* a présenté un taux de positivité élevé avec le phénotype AmpC. Le phénotype AmpC était donc le plus représenté suivit du phénotype MBL. (Tableau 8).

**Tableau 8** : Répartition des phénotypes de bêta-lactamases par espèce

Espèces productrices de bêta-lactamases	Phénotypes (nombre)			Total
	AmpC	BLSE	MBL	
<i>Staphylococcus aureus</i>	18	2	8	
<i>Escherichia coli</i>	0	0	1	
<i>Klebsielle pneumoniae</i>	3	3	4	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	0	4	
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0	1	0	
<i>Citrobacter sp</i>	2	0	1	
<i>Proteus mirabilis</i>	1	0	0	
<i>Morganella morganii</i>	0	0	1	
Total				52

### **III.2-DISCUSSION**

L'étude a porté sur un total de 106 participants venus en consultation ou hospitalisés au CNO de l'HCY. Parmi les 106 échantillons collectés, 88 étaient positifs et 18 négatifs, soit une fréquence globale de 83,02%, ce qui témoigne du taux élevé des infections du pied diabétique. Ces résultats sont largement supérieurs à ceux trouvés par Tchakonte sur la prévalence du pied diabétique au Cameroun qui avait obtenu une fréquence de 13% (**Tchakonte, 2004**). Cette différence pourrait s'expliquer par, la méthodologie adaptée entre les études, l'évolution des techniques d'analyses bactériennes, le nombre de prélèvements effectués ou par le fait que les IPD deviennent de plus en plus croissantes.

La classe d'âge la plus représentée était celle de 59-68 (34,9%). L'âge moyen était de 58 ans ; les hommes étaient les plus nombreux (58,5%) et un sex-ratio de 1,4. La prédominance masculine pourrait être expliquée par la minutie des femmes et leur assiduité dans les soins, mais également par l'exposition des hommes à certains métiers qui peuvent les obliger au port des chaussures plus longtemps, les contraignant ainsi à ne pas respecter les mesures établies pour éviter les pieds diabétiques. La plupart de nos participants étaient diabétiques de type 2 (92,5%). Ceci pourrait s'expliquer par le fait que les patients diabétiques de type 2 sont plus à risque de développer des ulcérations du pied.

L'analyse statistique nous a montré qu'il existe une corrélation entre le diabète de type 2 et la survenue de l'infection. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que les patients qui ont un diabète de type 2 font face à des complications liées au diabète dont la neuropathie, qui est à l'origine d'une perte de la sensibilité, celle-ci laisse par conséquent des plaies qui passent inaperçues et qui au fil du temps finissent par s'infecter.

La littérature médicale rapporte que les infections du pied diabétique sont en majorité dominées par les bactéries à Gram positif (BGP) (**Citron et al., 2007 ; Lavigne et al., 2011**). Celle-ci demeure non universelle puisque des études récentes, menées dans des pays d'Afrique et d'Asie, ont montré une prédominance des bactéries à Gram négatif (BGN) dans les IPD (**Durgad et al., 2014; Turhan et al., 2013; Dehayem et al., 2014**). Dans notre étude, les cultures étaient mono-microbiennes dans 35,8% des cas, polymicrobiennes dans 47,2% des cas et stériles dans 17%. Des résultats similaires ont été rapportés par Djahmi et collaborateurs avec, 50% de cultures polymicrobiennes, 35% monobactériennes et 15% de cultures stériles (**Djahmi et al., 2013**). Notre étude a montré une prédominance des bacilles à gram négatif avec un taux de 51% contre 30% pour les Gram positif et 19% pour les bacilles Gram négatifs non fermentaires. L'espèce la plus fréquemment isolée était *Staphylococcus*

## PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE

---

*aureus* avec 27,70% d'isolats. En effet, de nombreuses études réalisées sur ce sujet montrent que *S. aureus* est le pathogène fréquemment isolé dans les IPD (Wang et al., 2010; Lavigne et al., 2011). Une étude réalisée en Kuwait par Al Benwan et collaborateurs en 2012 a montré des résultats à peu près semblables à ceux de notre étude ; dans cette étude les bacilles Gram négatif étaient prédominants avec un taux de 51,2%, les BGP suivaient avec un taux de 32% et *Staphylococcus aureus* était l'espèce la plus fréquemment isolée (Benwan et al., 2012). Nos résultats sont néanmoins contraires à ceux notés par Thurán et collaborateurs en 2013 qui a montré un taux de 61% pour les BGN et *Pseudomonas aeruginosa* était l'espèce fréquemment isolée. Cette disparité géographique n'a pas encore d'explication claire, elle pourrait être liée à des facteurs environnementaux, climatiques, à la prise préalable d'antibiotiques ; des facteurs techniques de prélèvements ou de culture pourraient également être à l'origine de cette différence.

L'analyse du profil de résistance de nos isolats montre que les souches de Staphylocoques ont exprimé un taux de résistance élevé à la plupart des bêta-lactamines (Pénicilline G, Oxacilline, Cloxacilline, Augmentin et Ampicilline) soit 90 à 95%. Cette résistance est suivie par celle des cyclines (60% pour la Tétracycline), des Macrolides (67,5% pour l'Erythromycine et l'Azithromycine) et des Fluoroquinolones (52,5% pour la Ciprofloxacine et l'ofloxacine). Par ailleurs, La Vancomycine, l'Acide fusidique, et l'Imipénème ont montré de faibles taux de résistance. Nos résultats se rapprochent de ceux trouvés par Turhan et associés qui avaient noté des taux de résistance élevés avec la pénicilline, la ciprofloxacine et l'érythromycine. Nos résultats s'éloignent de ceux de Guira et collaborateurs qui avaient noté de faibles taux de résistance avec l'augmentin et l'oxacilline (Guira et al., 2015).

Les entérobactéries ont montré une résistance à la majorité des bêta-lactamines (augmentin, céfixime, céfépime) soit plus de 90% et à la tétracycline (93%). Par contre le méropénème et l'amikacine ont montré de faibles taux de résistances sur ces souches avec respectivement 3% et 10%. Nos résultats se rapprochent de ceux de Labani et de ceux de Dehayem et collaborateurs où les entérobactéries avaient des fréquences de résistance élevées avec les bêta-lactamines et une efficacité avec l'imipénème et l'amikacine (Labani, 2016 ; Dehayem et al., 2014).

Les isolats de *Pseudomonas aeruginosa* ont montré des taux de résistance élevés vis-à-vis de l'augmentin, la ceftazidime, la tétracycline et le triméthoprime-sulfaméthoxazole. Seuls le méropénème et l'amikacine étaient les plus actifs sur ces isolats avec de faibles taux de

## PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE

---

résistance. Nos résultats se rapprochent de ceux trouvés par Guira et collaborateurs qui avaient noté une efficacité avec les carbapénèmes (Guira et al., 2015). Par contre, ils ne sont pas similaires à ceux trouvés par Soudous et associée qui avaient notés de faible taux de résistance avec la ceftazidime et la gentamicine (Soudous & Oudina, 2020).

Nous avons obtenu une prévalence de 44% pour les bactéries productrices de bêta-lactamases. Les trois phénotypes étaient présents et le phénotype majoritaire était le phénotype AmpC (22%) identifié en majorité chez *S. aureus*, suivit du phénotype MBL. Le taux élevé de bactéries productrices de bêta-lactamases ainsi que les taux élevés de résistance aux antibiotiques de la famille des bêta-lactamines pourrait s'expliquer par le fait que les bêta-lactamines soient les antibiotiques les plus consommés, mais aussi les plus accessibles sur le marché, ceci peut également être expliqué par une utilisation non rationnelle de ces antibiotiques. En outre, la présence en majorité des phénotypes AmpC et MBL pourrait être dû à une surutilisation des céphalosporines et des carbapénèmes ; étant donné que les carbapénèmes sont des molécules de dernier recours, si l'utilisation de ces antibiotiques demeure excessive, il est probable que d'ici peu nous puissions nous retrouver en impasse thérapeutique. Nos résultats sont contraires à ceux trouvés par Guira et collaborateurs qui n'avaient trouvés aucunes bactéries productrices de bêta-lactamases (Guira et al., 2015).

**CONCLUSION**

## PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE

---

Au terme de notre travail qui consistait à déterminer la prévalence des bactéries productrices de bêta lactamases et d'établir leur profil de résistance aux antibiotiques, nous avons constaté que la prévalence des IPD était de 83%. Plusieurs micro-organismes ont été isolés et identifiés avec une majorité de bacilles à Gram négatif (*Klebsiella spp*, *Escherichia coli* etc...) et l'espèce fréquemment isolée était *Staphylococcus aureus* (27,70%). L'âge et le sexe n'ont pas été identifiés comme facteurs favorisant l'infection du pied diabétique. Cependant il existe une association entre le type de diabète et la survenue de l'infection.

En ce qui concerne l'antibiorésistance, l'ensemble des souches identifiées ont présenté des taux de résistance accrus à certaines familles d'antibiotiques notamment les bêta-lactamines (Céphalosporines, Pénicillines), les cyclines, et les macrolides. Par contre, de faibles taux de résistances ont été notés avec les carbapénèmes (Méropénème) et les aminosides (Amikacine).

Concernant la caractérisation des phénotypes de bêta-lactamases, nous avons noté que la prévalence des bactéries productrices de bêta-lactamases était de 44% ; Le phénotype majoritaire était le phénotype AmpC (22%), caractérisé en majorité chez *Staphylococcus aureus* suivi du phénotype MBL (17%).

## RECOMMENDATIONS

## **PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE**

---

Au regard de ces résultats inquiétants, un plan de lutte efficace s'impose ainsi, nous formulons les recommandations suivantes :

### **✦ Au Ministère de la santé du Cameroun**

- Réaliser des enquêtes épidémiologiques sur la surveillance de la résistance antibactérienne
- De fournir un matériel adéquat aux hôpitaux pour la prise en charge des plaies diabétiques
- Accentuer les campagnes de sensibilisation relatives à l'émergence de la résistance bactérienne.

### **✦ Aux médecins et infirmiers soignants**

- De traiter efficacement les infections par réalisation préalable d'un antibiogramme chez tous les patients souffrants d'infections bactériennes

### **✦ Aux patients et à la population**

- Eviter l'usage des antibiotiques sans avis médical
- Respecter les posologies recommandées par les médecins

## **PERSPECTIVES**

## **PERSPECTIVES**

Nous envisageons :

- ✦ Etendre l'étude sur une population plus grande, à l'échelle nationale
- ✦ L'utilisation des techniques moléculaires pour la détection des caractères de la résistance
- ✦ Proposer des alternatives thérapeutiques

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Akwah L, Ntungwen F, Nukenine E, Kagning Tsinda E, Nwabo Kamdje A.H.** (2015). Bacteriology of Diabetic Foot Ulcers with Reference to Multidrug Resistance Strains at the Yaounde Central Hospital (Cameroon). *Journal of Diseases and Medicinal Plants*. Vol. 1, No. 4 .53-58.
- Alekshun, M. N., & Levy, S. B.** (2007). Molecular Mechanisms of Antibacterial Multidrug Resistance. *Cell*, 128(6), 1037-1050. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.03.004>
- Amarir M.** (2014). Gestion du pied diabétique en milieu traumatologique orthopédique, analyse et autocritique [en ligne]. Thèse de doctorat : médecine. RABAT : Université Mohammed V-Souissi- RABAT, 198.
- Amoussou-Guenon KD, Zannon DMX, Djrolo F, Avimadje M, Bigot A, Koffi-Tessio A, Hougbe F.** (2006). Morbidité du pied diabétique en Médecine interne du CNHU HKM de Cotonou. Mali Medical.
- Appapalam, S. T., Muniyan, A., Mohan, K. V., & Panchamoorthy, R.** (2019). A Study on Isolation, Characterization, and Exploration of Multiantibiotic-Resistant Bacteria in the Wound Site of Diabetic Foot Ulcer Patients. *The International Journal of Lower Extremity Wounds*. <https://doi.org/10.1177/1534734619884430>
- Azmoun S.** (2016). Epidémiologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques au chu de Marrakech [En ligne]. Thèse de doctorat : Médecine et pharmacie. Marrakech : université de Cadi ayyad Marrakech, 114
- Benwan, K. A., Mulla, A. A., & Rotimi, V. O.** (2012). A study of the microbiology of diabetic foot infections in a teaching hospital in Kuwait. *Journal of Infection and Public Health*, 5(1), 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2011.07.004>
- Bonnet, R.** (2021). Caractérisation moléculaire et biochimique des carbapénèmes les plus répandues chez les Entérobactéries associées à des infections sévères en vue de développer de nouveaux inhibiteurs Saoussen Oueslati
- Boudina, H., & Haddam, A. E. M.** (2017). Profil bactériologique dans les infections du pied diabétique. *Annales d'Endocrinologie*, 78(4), 416-417. <https://doi.org/10.1016/j.ando.2017.07.651>
- Boudjehem Radhia Ghoul Ahlem, K. R.** (2018). Étude moléculaire de l'antibiorésistance des bactéries isolées des hôpitaux. <https://dspace.univ-guelma.dz/jspui/handle/123456789/1046>
- CEED (Centre Europeen d'Etude du Diabète)** (2021). "LES CHIFFRES DU DIABETE."
- Citron, D. M., Goldstein, E. J. C., Merriam, C. V., Lipsky, B. A., & Abramson, M. A.** (2007). Bacteriology of Moderate-to-Severe Diabetic Foot Infections and In Vitro Activity of Antimicrobial Agents. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(9), 2819-2828. <https://doi.org/10.1128/jcm.00551-07>
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)** (2022). Performances standards for antimicrobial susceptibility testing thirteenth informational supplement. CLSI; 2022. M100–S30.

**PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES  
PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE**

---

- DELAERE, B.** (2001). La résistance aux antibiotiques en médecine générale. *La résistance aux antibiotiques en médecine générale*, 120(2), S16-S22.
- Dehayem Yefou, M., Ngassam, E., Mendane, F., Mballa, V., Sobngwi, E., & Mbanya, J.** (2014). P322 Bactériologie des infections du pied diabétique et sensibilité aux antibiotiques des germes responsables au Cameroun. *Diabetes & Metabolism*, 40, A104. [https://doi.org/10.1016/S1262-3636\(14\)72613-8](https://doi.org/10.1016/S1262-3636(14)72613-8)
- Di Benedetto, C., Bruno, A., & Bernasconi, E.** (2013). Infection du site chirurgical : Facteurs de risque, prévention, diagnostic et traitement. *Revue Médicale Suisse*, 9(401), 1832-1839. <https://doi.org/10.53738/REVMED.2013.9.401.1832>
- Diop, S. N., & Diédhiou, D.** (2015). Le diabète sucré en Afrique sub-saharienne : Aspects épidémiologiques et socioéconomiques. *Médecine des Maladies Métaboliques*, 9(2), 123-129. [https://doi.org/10.1016/S1957-2557\(15\)30030-4](https://doi.org/10.1016/S1957-2557(15)30030-4)
- Djahmi, N., Messad, N., Nedjai, S., Moussaoui, A., Mazouz, D., Richard, J.-L., Sotto, A., & Lavigne, J.-P.** (2013). Molecular epidemiology of *Staphylococcus aureus* strains isolated from inpatients with infected diabetic foot ulcers in an Algerian University Hospital. *Clinical Microbiology and Infection*, 19(9), E398-E404. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12199>
- Drieux, L., Brossier, F., Sougakoff, W., & Jarlier, V.** (2008). Phenotypic detection of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase production in *Enterobacteriaceae* : Review and bench guide. *Clinical Microbiology and Infection*, 14, 90-103
- Durgad S., Koticha A., Nataraj G., Deshpande A., & Mehta P.** (2014). Diabetic foot ulcers—Where do we stand microbiologically ? *International Journal of Diabetes in Developing Countries*, 34(3), 169-173. <https://doi.org/10.1007/s13410-013-0180-9>
- Fougere E.** (2020). La rétinopathie diabétique, Actualités Pharmaceutiques, Elsevier Masson, Volume 59, Issue 592, 2020, 57-58, [DOI : 10.1016/j.actpha.2019.12.006].
- Gabriel P, Nelly H.** (2002). Endocrinologie Diabétologie Nutrition. 4ème édition. MED-. LINE. 196-197.
- Gariani, K., Hagon-Traub, I., & Philippe, J.** (2009). Diabète de type ou autre ? *Rev Med Suisse*, 5, 1248-1253.
- Govindaswamy A, Bajpai V, Khurana S, Aravinda A, Batra P, Malhotra R, Mathur P.** (2019). Prevalence and characterization of beta-lactamase-producing *Escherichia coli* isolates from a tertiary care hospital in India. *J Lab Physicians* ;11:123-7
- Grimaldi A.** (2001). Guide pratique du diabète. 2é éditions. Paris : MIMI : 15-24.
- Guardabassi L., & Courvalin P.** (2005). Modes of Antimicrobial Action and Mechanisms of Bacterial Resistance. In *Antimicrobial Resistance in Bacteria of Animal Origin*. 1-18. John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1128/9781555817534.ch1>
- Guira O., Tiéno, H., Traoré S., Diallo I., Ouangré E., Sagna Y., Zabsonré J., Yanogo D., Traoré S. S., & Drabo Y. J.** (2015). Écologie bactérienne et facteurs déterminant le profil bactériologique du pied diabétique infecté à Ouagadougou (Burkina Faso). *Bulletin*

## PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE

---

de la Société de pathologie exotique, 108(5), 307-311. <https://doi.org/10.1007/s13149-015-0442-5>

- Hatipoglu M., Mutluoglu M., Turhan V., Uzun G., Lipsky B. A., Sevim E., Demiraslan H., Eryilmaz E., Ozuguz C., Memis A., Ay H., Arda B., Uysal S., Motor V. K., Kader C., Erturk, A., Coskun O., Duygu F., Guler S., Sengoz G.** (2016). Causative pathogens and antibiotic resistance in diabetic foot infections: A prospective multi-center study. *Journal of Diabetes and its Complications*, 30(5), 910-916. <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2016.02.013>
- Hatipoglu, M., Mutluoglu, M., Uzun, G., Karabacak, E., Turhan, V., & Lipsky, B. A.** (2014). The microbiologic profile of diabetic foot infections in Turkey: A 20-year systematic review. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 33(6), 871-878. <https://doi.org/10.1007/s10096-014-2047-5>
- IDF (International Diabetes Federation).** (2021). "Diabetes around the world in 2021." IDF Diabetes Atlas Thenth Edition 10.
- Jaacks, L. M., Siegel, K. R., Gujral, U. P., & Narayan, K. M. V.** (2016). Type 2 diabetes: A 21st century epidemic. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 30(3), 331-343. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2016.05.003>
- Klein M.** (2009). Relations entre le diabète sucré de type 2 et l'amyloidose chez le chat [en ligne]. Thèse d'exercice : Vétérinaire. France:Ecole National Vétérinaire de Toulouse, 116.
- Labani Y.** (2016). Profil bactériologique et fréquence de résistance aux antibiotiques de l'infection du pied diabétique [en ligne]. Thèse de doctorat : médecine.Marrakech : Université cadi ayyad marrakache, 78p
- Lavigne, J.-P., & Sotto, A.** (2005). Les candiduries. *Prog Urol*, 15, 213-216.
- Lokrou, A., Angnès Memel, T., & Koffi Dago, P.** (2013). Bactériologie du pied diabétique en Côte-d'Ivoire. *Médecine des Maladies Métaboliques*, 7(5), 477-481. [https://doi.org/10.1016/S1957-2557\(13\)70547-9](https://doi.org/10.1016/S1957-2557(13)70547-9)
- Lozniewski, A., & Rabaud, C.** (2012). Résistance bactérienne aux antibiotiques. Fiches conseils pour la prévention du risque infectieux –Infections associées aux soins, 4p. Disponible sur : <https://nanopdf.com/download/cclin-sud-est-resistance-aux-antibiotiques-2010-4>
- M. Dehayem Yefou, E. Ngassam, F. Mendane, V. Mballa, E. Sobngwi, J. Mbanya** (2014). Bactériologie des infections du pied diabétique et sensibilité aux antibiotiques des germes au Cameroun. *Diabetes & Metabolism* 40, A104, 2014
- Madigan M, Martinko J.** (2007). Biologie des microorganismes. 11ème Edition, PEARSON Education, France. P.354-355.
- Mbouemboue, O. P., Tsougmo, J. O. N., Sakinatou, I., Ndolok, A. C. V., & Tamanji, M. T.** (2018). Prevalence, treatment, and control of diabetes in a community setting in Ngaoundéré, Cameroon. *Médecine et Santé Tropicales*, 28(4), 379-384. <https://doi.org/10.1684/mst.2018.0851>

## PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE

---

- Mendes J, Neves J.** (2012). Diabetic foot infections : Current Diagnostic and treatment. *The Journal of Diabetic foot complication*, Volume 4 N°1, 29.
- MSU (Médecine Sorbonne université).** (2003). Faculté de médecine, bactériologie, 2003, Chapitre 4 Les streptocoques, entérocoques et pneumocoques [en ligne]. Disponible sur:<http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/POLY.Chp.4.html>
- Muylaert A, Mainil J.G.** (2012). Résistance bactérienne aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité ». *Ann MédVét.* 2012, 156 109- 123.
- OMS** (2016). "RAPPORT MONDIAL SUR LEDIABETE." 88.
- OMS** (2022). "Journée mondiale du diabète 2022."
- Oudina D., Soudous D.** (2020) Bactériologie du pied diabétique au CHU de Constantine [en ligne]. Mémoire : Université des Frères Mentouri Constantine 1. 145
- Richard, J.-L., & Schuldiner, S.** (2008). Épidémiologie du pied diabétique. *La Revue de Médecine Interne*, 29, S222-S230. [https://doi.org/10.1016/S0248-8663\(08\)73949-3](https://doi.org/10.1016/S0248-8663(08)73949-3)
- Samir V., Raymond A.** (2009). Que signifie bêtalactamases à spectre élargi en pratique ? *Rev Med Suisse.* 12 (125) : 34-38. <https://doi.org/10.53738/REVMED.2009.5.220.1991>
- Stahl JP, Louis B.** (2007). Médecine et maladies infectieuses. Recommandations pour la pratique clinique Prise en charge du pied diabétique infecté, <http://france.elsevier.com/direct/MEDMAL.ELSEVIER MASSON, 3>
- Stucki K, Nendaz M, Harbarth S.** (2014). Infection à entérocoques : du plus simple au plus complexe. *Rev Med suisse.* 10 (446) : 1918-1923.
- Sougakoff, W., & Trystram, D.** (2003). Résistances aux  $\beta$ -lactamines. *Service de Bacteriologie-Hygiène du CHU Pitié-Salpêtrière*, 9-12.
- Tenenbaum, M., Bonnefond, A., Froguel, P., & Abderrahmani, A.** (2018). Physiopathologie du diabète. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2018(502), 26-32. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(18\)30145-X](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(18)30145-X)
- Turhan, V., Mutluoglu, M., Acar, A., Hatipoglu, M., Onem, Y., Uzun, G., Ay, H., Oncul, O., & Gorenek, L.** (2013). Increasing incidence of Gram-negative organisms in bacterial agents isolated from diabetic foot ulcers. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 7(10), Article 10. <https://doi.org/10.3855/jidc.2967>
- Upadhyay, S., Sen, M. R. et Bhattacharjee, A.** (2010). Présence de différentes classes de bêta-lactamases parmi les isolats cliniques de *Pseudomonas aeruginosa* exprimant l'enzyme bêta-lactamase AmpC. *Le Journal de l'infection dans les pays en développement*, 4(04), 239-242. <https://doi.org/10.3855/jidc.497>
- Verdier I, Gérard L, Yves G, François.** (2015). Cour les Cocci à Gram positif *Staphylococcus aureus*
- Wagner, F. W.** (1987). The Diabetic Foot. *Orthopedics*, 10(1), 163-172. <https://doi.org/10.3928/0147-7447-19870101-28>

**PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES  
PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE**

---

- Wang, S.-H., Sun, Z.-L., Guo, Y.-J., Yang, B.-Q., Yuan, Y., Wei, Q., & Ye, K.-P.** (2010). Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from foot ulcers in diabetic patients in a Chinese care hospital : Risk factors for infection and prevalence. *Journal of Medical Microbiology*, 59(10), 1219-1224. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.020537-0>
- Weekers, L., & Krzesinski, J.-M.** (2005). La néphropathie diabétique. *Revue médicale de Liege*, 60(5-6, May-Jun). <https://orbi.uliege.be/handle/2268/6106>
- Yefou, M. D., Sobngwi, E., Nwatsok, J. F., Mani, J. M., Jupkwo, B., & Mbanya, J. C.** (2010). P86 Prise en charge du diabète sucré au Cameroun : Résultats de l'étude Diabcare. *Diabetes & Metabolism*, 36, A59-A60.
- Zemmouri, A., Tarchouli, M., Benbouha, A., Lamkinsi, T., Bensghir, M., Elouennass, M., & Haimeur, C.** (2015). Profil bactériologique du pied diabétique et son impact sur le choix des antibiotiques. *Pan African Medical Journal*, 20(1), Article 1. <https://doi.org/10.11604/pamj.2015.20.148.5853>

## ANNEXES

# **PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE**

---

## **Annexe 1 : Notice d'information**

### **FICHE D'INFORMATION AUX PARTICIPANTS**

Chers participants,

Nous vous prions de lire attentivement les informations ci-dessous avant de donner votre consentement de participation à l'étude.

Titre de recherche : « Profil de résistance aux antibiotiques et caractérisation phénotypique des bactéries productrices de bêta-lactamases isolées des plaies diabétiques à l'Hôpital Central de Yaoundé ».

Enquêteur : MAHLEU NDE NIKELLE CECILE étudiante en master 2 de Microbiologie médicale à l'Université Yaoundé I, faculté des sciences, département de microbiologie.

Nous invitons toute personne volontaire et respectant nos critères d'inclusion à participer à notre étude.

#### **But de l'étude**

Le but de l'étude sera de déterminer le profil de résistance aux antibiotiques des bactéries responsables de la surinfection de la plaie diabétique et de caractériser le phénotype de bêta-lactamase chez chacune de ces bactéries chez les patients venus en consultation à l'Hôpital Central de Yaoundé. Les résultats de cette étude nous permettront d'avoir une approche sur les différents germes responsables de cette surinfection et leur résistance aux antibiotiques afin d'améliorer la prise en charge des patients et de comprendre l'échec thérapeutique lié à ses surinfections.

#### **Procédure de participation**

La participation sera volontaire, et le patient aura la liberté de désister à tout moment. Un consentement écrit sera obtenu avant tout recrutement. Nous réaliserons notre étude sur un échantillon prélevé au niveau de votre plaie.

#### **Risque et bénéfice**

Le risque psychologique de la peur sera géré en préparant le patient par un counseling. Le participant bénéficiera d'un examen en plus d'une probable prescription médicale.

**PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES  
PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE**

---

**Résultats de la recherche**

Les résultats de cette recherche pourront être publiés dans tout journal en respectant la confidentialité. Le participant n'attendra aucune rétribution due à cet effet.

Adresse de l'investigateur : MAHLEU NDE NIKELLE CECILE tel :(+237) 690468925/  
652487088 nmaleu90@gmail.com. Si vous avez des questions et ou problèmes concernant le  
projet de recherche, vous pouvez communiquer avec nous.

**Adresse des Co-investigateurs :**

Pr. BOYOMO ONANA  
Maitre de Conférences  
Département de Microbiologie  
Faculté des Sciences  
Université de Yaoundé I

Dr. MEYIN A EBONG Solange  
Chargé de Cours  
Département de Microbiologie  
Faculté des Sciences  
Université de Yaoundé I  
Tel : (+237) 677926583/656243314  
Email: ebongsolange@yahoo.fr

**PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES  
PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE**

---

**Annexe 2 : Formulaire de consentement éclairé**

**FORMULAIRE DE CONSENTEMENT ECLAIRE**

Je soussigné, Mr/Mme/Mlle.....avoir été invité à participer au travail de recherche intitulé : « « Profil de résistance aux antibiotiques et caractérisation phénotypique des bactéries productrices de bêta-lactamases isolées des plaies diabétiques à l'Hôpital Central de Yaoundé », dont l'investigateur principal s'appelle MAHLEU NDE NIKELLE CECILE, tel : (+237) 690468925, E-mail : nmaleu90gmail.com

J'atteste avoir pris connaissance que la participation est volontaire, et que j'aurai la liberté de désister à tout moment.

J'accepte en toute liberté de participer à cette étude en répondant aux questions et en accordant toute prise d'échantillons pour ladite recherche.

J'atteste avoir été informé(e) que les résultats de cette étude peuvent être publiés dans tout journal.

J'atteste avoir été informé(e) de la confidentialité des résultats.

En participant à cette étude, j'apporte ma modeste contribution à l'avancement de la science.

Je n'attends aucune rétribution due à la participation à cette recherche.

Je pourrai volontairement rentrer en possession de mes résultats.

J'accepte librement de participer à cette étude dans les conditions précisées dans la notice de l'information :

- De répondre aux questions d'enquête
- De communiquer les informations médicales

Fait à Yaoundé, le.....

Investigateur principal :

MAHLEU NDE NIKELLE CECILE

nmaleu90@gmail.com

Tel :( +237)690468925

**L'investigateur**

Participant (Nom et Adresse)

**Le participant**

**PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES  
PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE**

---

**Annexe 3: Fiche de collecte de données**

**DONNEES CLINIQUES A L'INCLUSION**

Date de l'examen : /\_\_\_/\_\_\_/jour /\_\_\_/\_\_\_/mois /\_\_\_/\_\_\_/\_\_\_/\_\_\_/année

Code d'identification patient : /\_\_\_/./\_\_\_/./\_\_\_/\_\_\_/\_\_\_/\_\_\_/

Sexe : Homme  Femme  Date de naissance : /\_\_\_/\_\_\_/./\_\_\_/\_\_\_/./\_\_\_/\_\_\_/\_\_\_/\_\_\_/

**Coordonnées d'origine**

**Hôpital :**

Hospitalisation  Hosp. complète  Hosp. du jour  Consultation

Nom du médecin :

<b>Facteurs de risques cardio-vasculaires :</b>	
HTA :	Oui <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>
Obésité (BMI)	Oui <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>
Alcoolisme chronique	Oui <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>
Tabac	Oui <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>
Sédentarité	Oui <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>

Initiale Oui  Non

Suivi Oui  Non

Types de plaies : Classification de Wagner /\_\_\_/\_\_\_/

Diabète sucré : Type 1  Type 2

Durée du diabète : /\_\_\_/\_\_\_/ans

Antécédent d'antibiothérapie dans le mois précédent : Oui  Non

**La plaie**

Antécédent de lésion Oui  Non

Si oui merci de préciser la/les quelle(s)

Nombre de plaies 1  2  3  sup à 3

**Localisation**

**PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES  
PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE**

---

**Pied**

Face lombaire  Face dorsale

Orteil  Méta  Medio-pied  Talon  Cheville

**Jambe**

Sus-malédaire  Sous-malédaire

Face externe  Face interne  Face antérieure  Face postérieure

Circonférentielle

**Autres**

**Complication du diabète sucré**

**Cardiopathie :**

Absence                      Oui  Non   
Coronaropathie (OM)    Oui  Non   
Artériopathie des MI    Oui  Non   
Sténose carotidienne    Oui  Non   
AVC                            Oui  Non

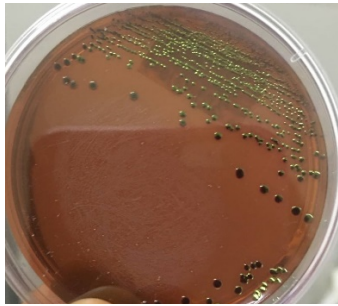
**Néphropathie :**

Absence                      Oui  Non   
Microalbuminurie        Oui  Non   
Protéinurie                Oui  Non   
Insuffisance rénale      Oui  Non   
Neuropathie                Oui  Non

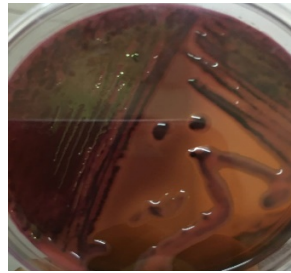
**PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES  
PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE**

---

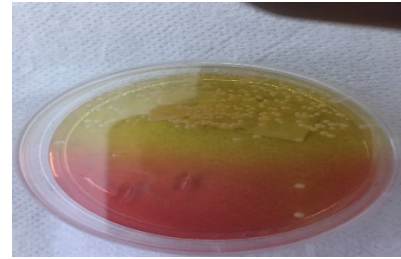
**Annexe 4: Aspects des colonies sur différents milieux de culture (Photos MAHLEU)**



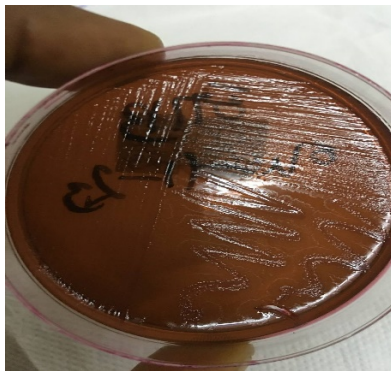
**Figure 13** : *Escherichia coli*  
sur EMB



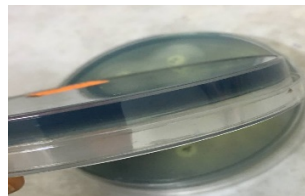
**Figure 14** : *Klebsiella sp*  
sur EMB



**Figure 15** : *Staphylococcus aureus*  
sur Chapman



**Figure 16** : *Pseudomonas sp*  
sur EMB



**Figure 17** : *Pseudomonas sp*  
sur Mueller-Hinton

## **PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE**

---

### **Annexe 5 : Mode opératoire de la galerie API 20 E**

#### ➤ Préparation de la galerie :

L'eau distillée stérile a été ajoutée au fond de la boîte (partie alvéolée) ; la galerie a été recouverte avec son couvercle et les références de la souche ont été inscrites sur la languette latérale de la boîte.

#### ➤ Préparation de l'inoculum

À l'aide d'une anse de platine, une colonie pure et bien isolée a été introduite dans 5ml d'eau distillée stérile contenu dans un tube à vis. Après homogénéisation la turbidité a été ajustée à l'étalon Mc Farland.

#### ➤ Ensemencement de la Galerie

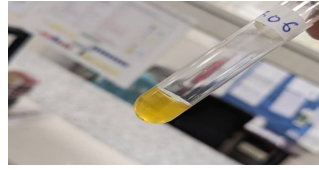
La suspension bactérienne a été introduite dans chaque tube à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, pointe appuyée à l'intérieur et sur le côté pour éviter la formation de bulles ; les cupules de test CIT, VP et GEL ont été remplies avec la suspension ; l'huile de paraffine a été ajoutée dans les cupules ADH, LDC, ODC, H<sub>2</sub>S et URE.

#### ➤ **Lecture de la galerie**

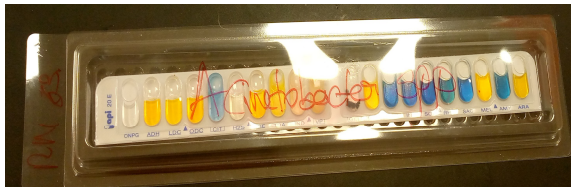
La lecture est macroscopique et basée sur le virement de couleur, l'identification de souche a été obtenue à l'aide du tableau d'identification du catalogue analytique qui contient sept chiffres qui réfère à une souche dans le livre de galerie API 20<sup>E</sup>.

# PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE

## Annexe 6 : Figures des test biochimiques



**Figure 18 :** Test de coagulase



**Figure 19 :** Test de catalase

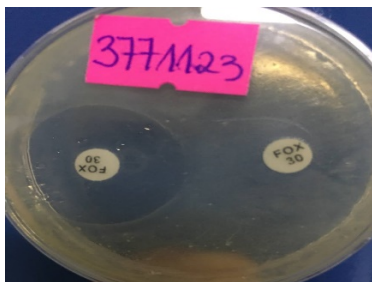


**Figure 20 :** Galeries Api

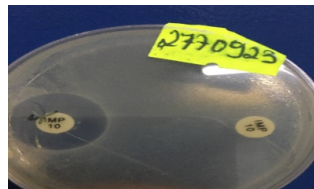
## PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE

---

### Annexe 7 : Résultats des différents tests phénotypiques



**Figure 21** : Test AmpC positif



**Figure 22** : Test MBL positif



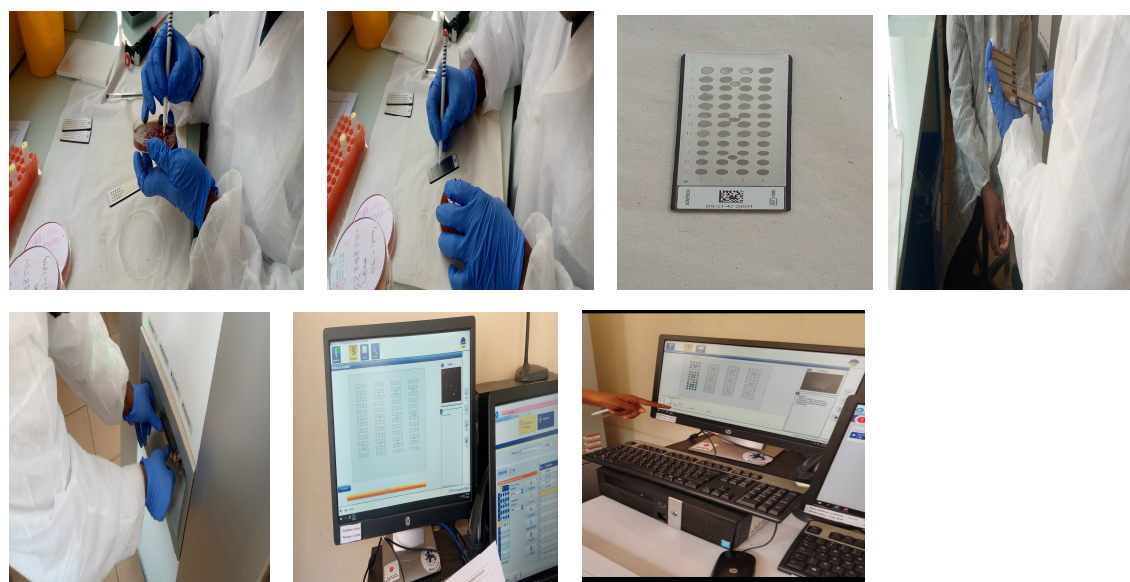
**Figure 23** : Test de synergie positif entre l'Augmentin et la ceftriaxone

## PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DES PLAIES DIABETIQUES DANS DEUX HOPITAUX DE YAOUNDE

### Annexe 8 : Mode opératoire du MALDI-TOF

#### MODE OPERATOIRE : MALDI-TOF

La colonie bactérienne est directement déposée sous forme d'un fin frottis à la surface d'une plaque métallique, puis recouverte par une matrice appropriée. Le mélange matrice/échantillon va se co-cristalliser sur la plaque. Une fois les échantillons déposés sur la cible, cette dernière est introduite dans le spectromètre de masse. Chaque dépôt est soumis à l'action du rayon laser UV. Le rôle de la matrice est d'absorber l'énergie provenant du laser ce qui provoque la vaporisation de l'échantillon avec formation d'ions de masses différentes. Les ions ainsi formés dans la chambre d'ionisation vont être mis en mouvement sous l'action d'un champ électrique, et l'analyseur va les séparer en fonction de leur rapport m/z. Ils traversent ensuite un certain nombre de grilles d'extraction avant d'atteindre le « tube de vol » à l'extrémité duquel se trouve le détecteur. Les ions sont séparés selon leur temps de vol, ceux de petite taille atteignant les premiers le détecteur. Le temps de vol pour atteindre le détecteur est utilisé pour calculer la masse de chaque particule. La somme des ions analysés va former un spectre caractéristique de l'échantillon. Le spectre de masse obtenu est une sorte d'empreinte digitale spécifique et unique de la composition en protéines du microorganisme analysé, qui peut être comparé à une banque de données de spectres.



**Figure 24 :** Quelques étapes du MALDI-TOF