



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : Biologie Appliquée



MEMOIRE DE MASTER

Domaine: Science de la nature et de la vie

Filière: Sciences biologiques

Option : Microbiologie appliquée à la santé et à l'environnement

Thème

**Profil bactériologique des infections bactériennes
superficielles du pied diabétique**

Présenté par :
ZERFAOUI Zina
ABBAD Moufida

Devant le jury de soutenance :

Présidente: Dr Debabza Manel	(MCA)	Université de Tébessa
Rapporteur : Dr BOUKOUCHI Mourad	(MCB)	Université de Tébessa
Examinatrice : Me Chadi Hafida	(MAA)	Université de Tébessa

Date de soutenance: 23/05/2017

Note:

Mention :

Introduction

1. INTRODUCTION

Le diabète est une maladie silencieuse et indolore, son évolution se fait toujours vers les complications métaboliques et dégénératives (**Drabo et al., 1996**). Il est aujourd'hui un problème majeur de santé publique à l'échelle planétaire par l'augmentation de sa prévalence. Il constitue avec ces complications une menace économique pour les systèmes de santé (**Monabeka & Nsakala-Kibangou, 2001**).

Les complications qui atteignent les diabétiques sont nombreuses représentées généralement par les maladies cardiovasculaires, l'insuffisance rénale et les problèmes oculaires, les complications au niveau des pieds sont les plus fréquentes, qui évoluent rapidement et peuvent favoriser une infection, lesquelles augmentent le risque d'amputation (**Amoussou Guenou et al., 2006**), ce qui constitue un problème majeur dans tous les pays sur le plan médical et socio-économique (**Drabo et al., 1996**).

Le pied diabétique est défini comme un pied qui présente des lésions allant des simples phlyctènes, petites plaies aux ulcérations qui peuvent s'infecter, et aussi des lésions détruisant les tissus profonds. Les cas les plus graves peuvent aboutir aux amputations. Toutes ces lésions sont associées à un désordre neurologique et vasculaire du membre inférieur (**Tchakonté et al., 2005**).

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 avec ou sans réponse inflammatoire. Le diagnostic est clinique et l'infection doit être distinguée de la colonisation bactérienne. Cette infection peut revêtir plusieurs formes cliniques allant de l'infection superficielle d'une plaie jusqu'à la fasciite nécrosante qui peut engager le pronostic vital et qui relève d'un traitement médicochirurgical urgent (**Mendes & Neves, 2012**).

La plupart des IPD sont initialement superficielles touchant seulement la peau et/ou le tissu sous-cutané (sans atteinte des tissus plus profonds mais les micro-organismes peuvent diffuser par contiguïté aux profonds (**Mendes & Neves, 2012**). L'infection est souvent polymicrobienne, les germes les plus fréquemment retrouvés sont le staphylocoque doré, les bacilles gram négatif et les anaérobies. Le type de germe dépend de la profondeur de la plaie et de l'extension de la cellulite périlésionnelle (**Purohit & Solank, 2013**).

Notre étude vise à :

Introduction

- ✓ Déterminer l'étiologie bactérienne de l'infection superficielle du pied diabétique et sa fréquence au niveau de notre wilaya de Tébessa.
- ✓ Etudier l'évolution de la sensibilité aux antibiotiques des germes responsables de l'infection superficielle du pied diabétique pour une meilleure prise en charge sur le plan antibiothérapie.

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سُبْحَانَكَ لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا مَا عَلَّمْتَنَا
إِنَّكَ أَنْتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ

سورة البقرة: الآية 31

صَبَّحَهُ بِمَا فَلَاحَ الْغَظِيمِ

Remerciements

*J'exprime d'abord mes profonds remerciements à **DIEU** qui m'adonné le courage et la Volonté d'achever ce travail.*

On exprime nos vifs remerciements a Monsieur l'encadreur Docteur **Boukoucha Mourad** pour son encadrement sa confiance, ses efforts et sa patience lors de la correction du manuscrit.

A notre jury de mémoire,

A Madame le Docteur **Debabza Manel**, Vous nous faites l'honneur de présider cette mémoire, je vous remercie très sincèrement. Nous avons eu la chance de profiter de vos connaissances et remarques pertinentes et de votre disponibilité et de votre attention que vous nous avez apportée au cours de notre travail. Veuillez trouvez ici l'expression de notre profond respect et de toute notre reconnaissance. Notre jury de thèse,

A madame le Docteur **Chadi Hafida**, Vous nous faites l'honneur de Bien vouloir juger de notre travail. Nous vous en sommes très reconnaissants. Veuillez trouvez ici l'expression de toute ma gratitude et de ma considération.

ملخص

القدم السكرية لا تزال تمثل مشكلة صحية عامة بسبب تردها العالي، ورعايتها الصعبة والمكلفة، وهي مسؤولة عن مضاعفات وظيفية، جمالية ونفسية. وينبغي أن يسترشد العلاج بالمضادات الحيوية عن طريق دراسة علم الأحياء الدقيقة. ومن هذا المنطلق تم أخذ عينات على (34) مريض يخضع للعلاج بمستوى المستشفى بوقرة بولعراس بكارية (تبسة) في قسم الطب الباطني و الاستشاريين على مستوى المؤسسة العمومية للصحة الجوارية منتور بيشير (تبسة) يعانون من جروح سطحية بسبب القدم السكرية، خلال فترة شهرين (2017). تم أخذ العينات عن طريق المسح بعد التنضير الميكانيكي. وأظهرت الدراسة الجرثومية مؤخرا أن من بين (63) سلالة بكتيرية المتمثلة في *Staphylococcus* 33 les spp سلالة (52.38%) تحتل المرتبة الأولى، تليها 30 سلالة *Entérobactéries* (47.61%). كشفت دراسة قابلية للمضادات الحيوية العديد من التشكيلات مقاومة *Staphylocoques* (21 profils) و *les Entérobactéries* (13 profils)، وهذا المقاومة أثر تفكيلا لطبقات بمختلف، مقاومة *Staphylococcus spp* للسيفوكستين (75.75%)، فانكوميسينوكلينداميسين (60.60%)، أزيثروميسينو الستيرتوميسين (27.27%)، جنتاميسين (24.24%)، أوفلوكساسين (18.18%) وحمض الفوسيديك (15.15%)، *les entérobactéries* مقاومة تلمس أموكسسلين و حمض الاموكسلين أسيدكلوفانيك (100%)، سيير وفلوكساسين (50%)، أوفلوكساسين (36.66%)، الكلورامفينيكول، الجنتاميسين وحمض النالدكسيك (20%)، سيفوتكسيمو الإيميبينيم (6.66%).

الكلمات المفتاحية: القدم السكرية، المضادات الحيوية، والمقاومة.

Abstract

The diabetic foot remains a public health problem due to its high frequency, difficult and costly management. It is responsible for the formidable complications on the functional, aesthetic and psychological level. Antibiotherapy should be guided by a microbiological study. In this sense, our work was carried out on (34) diabetic patients presenting superficial lesions at the level admitted to the level of internal medicine service of the Bouguerra Boulaaras hospital and consultants at the level of the Public Health Institution of proximity Mentouri Bachir (wilaya of Tebessa), for a period of two months (year 2017). The samples were taken by swab after mechanical debridement. The bacteriological study of the latter showed that among the (63) bacterial strains isolated 0 *Staphylococcus spp* occupy the first rank with (33) strains (52,38%), followed by the *Enterobacteria* (30) strains (47.61%). The study of antibiotic susceptibility revealed a multitude of resistance profiles for *staphylococci* (21 profiles), *enterobacteria* (13 profiles). The resistance affected all classes with variable magnitude, *Staphylococcus spp* showed resistance to cefoxitin (75.75%), Vancomycin and Clindamycin (60.60%), Azithromycin and Streptomycin (27.27%), Gentamycin (24.24%), Ofloxacin (18.18%) and fusidic acid (15.15%) For *enterobacteriaceae* the resistance affected Amoxicillin and Amoxicillin + clavulanic acid (100%), Ciprofloxacin (50%), Ofloxacin (36.66%), Chloramphenicol, Gentamycin and Nalidixic Acid (20%), and Cefotaxime And the Imipenem (6.66%).

Key words: Diabetic foot, Infection, Antibiotics, resistance.

Résumé

Le pied diabétique demeure un problème de santé publique par sa fréquence élevée, sa prise en charge difficile et coûteuse. Il est responsable des complications redoutables sur le plan fonctionnel, esthétiques et psychologiques. L'antibiothérapie doit être guidée par une étude microbiologique. Dans ce sens notre travail a été menée sur (34) patients diabétiques présentant des lésions superficielles au niveau du pied admis au niveau de service de médecine interne de l'hôpital Bouguerra Boulaaras et consultants au niveau de l'Etablissement Public de Santé de proximité Mentouri Bachir (wilaya de Tébessa), pendant une période de deux mois (année 2017). Les prélèvements ont été réalisés par écouvillonnage après débridement mécanique. L'étude bactériologique de ces derniers a montré que parmi les (63) souches bactériennes isolées les *Staphylococcus* spp occupent le premier rang avec (33) souches (52,38%), suivie par les Entérobactéries (30) souches (47,61%). L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a révélé une multitude de profils de résistance pour les staphylocoques (21 profils), les entérobactéries (13 profils). La résistance a touché toute les classes avec ampleur variable, les *Staphylococcus* spp ont montrée une résistance à la Céfoxitine (75,75%), Vancomycine et Clindamycine (60,60%), l'Azithromycine et la Streptomycine (27,27%), Gentamycine (24,24%), l'Ofloxacin (18,18%) et L'acide fusidique (15,15%), pour les entérobactéries la résistance a touché l'Amoxicilline et l'Amoxicilline + acide clavulonique (100%), Ciprofloxacine (50%), Ofloxacin (36,66%), Chloramphénicol, Gentamycine et l'Acide Nalidixique (20%), Céfotaxime et l'Imipénème (6,66%).

Mots clés : Pied diabétique, Infection, Antibiotiques, résistance.

Abstract

Résumé

Remerciement

Dédicace

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des symboles

Table des matières

Introduction..... 01

Première partie : Synthèse bibliographique

I. Généralités sur le Diabète sucré.....03

I.1.Définition..... 03

I.2. Classification étiologique des diabètes sucrés..... 03

I.2.1.Diabètes primitifs..... 03

I.2.1.1.Le diabète de type 1..... 03

I.2.1.2.Le diabète de type 2..... 03

I.2.2. Diabètes Secondaires 04

I.2.3. Diabète gestationnel 04

I.3.Complications de diabète..... 04

I.3.1.Neuropathies.....04

Table des matières

I.3.2. La rétinopathie	05
I.3.3. Néphropathie	05
I.3.4. Maladies cardiovasculaires	05
I.3.5. Le pied diabétique	05
I.4. Les infections du pied diabétique	06
I.4.1. Signes et symptômes de l'infection	06
I.4.2. Classification des plaies	07
I.4.3. Facteurs déclenchant	08

Deuxième partie : Etude expérimentale

1. Objectif de l'étude	09
2. Matériel et Méthodes	09
2.1. Phase de prélèvement	09
2.1.1. Matériel	09
2.1.2. Méthode	11
2.2. Phase d'analyse microbiologique au niveau de laboratoire	11
2.2.1. Matériel	12
2.2.1.1. Examen direct	12
2.2.1.2. Mise en culture	12
2.2.1.3. Caractérisation biochimique des souches bactériennes	13
2.2.1.4. Etude de la sensibilité aux antibiotiques	14
2.2.2. Méthodes	16
2.2.2.1. Examen microscopique	16
2.2.2.2. Recherche des germes	16
2.2.2.3. Caractérisation biochimique des souche	16
2.2.2.4. Etude de la sensibilité aux antibiotiques	17

Résultats

1. Diagnostic bactériologique	19
1.1. Examen microscopique	19

Table des matières

1.1.1. Après coloration de Gram	19
1.1.2. Après coloration au bleu de méthylène	19
1.2. Résultats de la mise en culture	21
2. Résultats Caractérisation biochimique des bactéries isolée.....	22
3. Etude de la sensibilité aux antibiotiques.....	24
Discussion	30

Conclusion

Références bibliographique

Annexes

LISTE DES TABLEAUX

Tableau n°	Titre	Page
1	Classification de l'infection des plaies du pied selon le Consensus international sur le pied diabétique	7
2	Récapitulatif des malades choisis et de l'ensemble des caractéristiques Correspondantes	10
3	Antibiotiques testés sur les <i>entérobactéries</i>	15
4	Antibiotiques testés sur les <i>staphylocoques</i>	15
5	Les valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour l'interprétation des résultats de l'étude de la sensibilité aux antibiotiques des <i>Staphylococcus</i> spp et les <i>entérobactéries</i> sur milieu gélosé	18
6	Résultats de l'étude de la sensibilité des Entérobactéries aux antibiotiques testés sur milieu gélose	25
7	Résultats de l'étude de la sensibilité des <i>Staphylococcus</i> spp aux antibiotiques testés sur milieu gélose	28

LISTE DES FIGURES

Figure n°	Titre	Page
1	Infection du pied diabétique	5
2	Souches de références (<i>E.coli</i> et <i>Staphylococcus aureus</i>)	14
3	Aspect microscopique des bacilles à coloration de Gram négative	19
4	Aspect microscopique des cocci à coloration de Gram positive	19
5	Aspect microscopique des Bacilles et Cocci	19
6	Aspect microscopique des levures après coloration au Bleu de Méthylène	20
7	Aspect microscopique des Champignons après coloration au Bleu de Méthylène	20
8	Aspect microscopiques des polynucléaires neutrophiles après coloration au Bleu de Méthylène	20
9	Abondance Relative des bactéries isolés et combinés après examen direct	21
10	Pourcentage des bactéries après mise en culture sur différents milieux	21
11	Aspect macroscopique des différents isolats sur les milieux de cultures utilisées	22
12	Pourcentage des différents groupes bactériens identifiés biochimiquement	23
13	Pourcentage des différentes espèces d'Entérobactéries isolé	24
14	Pourcentage de la résistance des <i>Entérobactéries</i> aux antibiotiques	26
15	Pourcentage de la résistance des <i>Staphylococcus spp</i> aux antibiotiques	29

Liste des Symboles

ADA : American Diabetes Association

API : Appareillage et procédé d'identification.

BGN : Bacille Gram Négatif.

CA-SFM : Comité de l'Antibiogramme de la société Française de Microbiologie.

CGP : Cocci Gram Positif.

CI : Consensus international

CMI : Concentration Minimal Inhibitrice.

DID : Diabète Insulinodépendante.

DNID : Diabète Non Insulinodépendante.

EUCAST : European Comity on Antimicrobial Susceptibility Testing.

IDP : Infection du Pied Diabétique.

IDSA : Infectious Diseases Society of America.

IWGDF : International working Group on the Diabetic Foot.

MCF: McFarland.

MH : Mueller-Hinton.

OMS : Organisation mondial de la santé.

PN : Polynucléaires Neutrophiles.

R : Résistant.

S : Sensible.

ADO : Antidiabétique oraux

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Généralités sur le diabète sucré

I.1. Définition

Le diabète représente un problème majeur de santé publique en raison de « ses lourdes conséquences morbides, de son caractère évolutif suggérant une prévention possible et la crainte que la situation soit méconnue et hors contrôle» (**Geneviève, 2008**).

La définition du diabète est fondée sur le seuil glycémique. Par l'élévation chronique de la concentration de glucose dans le sang (hyperglycémie). Cette hyperglycémie est la conséquence soit d'un défaut de sécrétion de l'insuline (diabète type 1), soit d'une diminution de son action (diabète type 2), soit de ces deux anomalies associées, sous l'influence de facteurs génétiques ou environnementaux (**Grimaldi, 2000**).

I.2. Classification étiologique des diabètes sucrés

La classification étiologique des diabètes sucrés proposée par l'ADA et l'OMS. Cette classification actualisée en fonction des données scientifiques (**Spinas & Lehmann, 2001**).

I.2.1. Diabètes primitifs

Les termes de diabète de type 1 et de type 2 (chiffres arabes) remplacent les termes DID et DNID (**Spinas & Lehmann, 2001**).

I.2.1.1. Le diabète de type 1 (Insulinodépendant)

Le diabète de type 1 est provoqué par une réaction auto-immune au cours de laquelle les propres défenses de l'organisme attaquent les cellules bêta du pancréas qui produisent l'insuline. L'organisme devient alors incapable de fabriquer l'insuline dont il a besoin (**Harris & Zimmet, 1997**).

I.2.1.2. Le diabète de type 2

Ce type de diabète est caractérisé par deux anomalies : un état d'insulinorésistance et un déficit plus ou moins marqué de l'insulinosécrétion l'organisme est capable de produire de l'insuline (**Monnier, 2010**), mais soit la quantité produite est insuffisante, soit l'organisme ne réagit pas à l'action de l'insuline, ce qui entraîne une accumulation de glucose dans le sang (**Harris & Zimmet, 1997**).

Généralités sur le diabète

I.2.2. Diabètes Secondaires

Peu fréquents, comprennent : les affections génétiques, les infections, les affections du pancréas exocrine, endocrinopathies (**Grimaldi, 2001**). Ce type de diabète peut être à l'origine d'une destruction des îlots pancréatiques et donc d'une insulino-pénie, d'une insulino-résistance ou d'une association des deux (**Klein, 2009**).

I.2.3. Diabète gestationnel

Est une intolérance au glucose qui se manifeste pour la première fois pendant la grossesse (**Monnier, 2010**).

I.3. Complications de diabète

Une personne atteinte de diabète peut vivre plusieurs années sans présenter aucun symptôme. Pendant ce temps, la glycémie élevée endommage silencieusement l'organisme et des complications peuvent se développer (**Harris & Zimmet, 1997**). Les complications du diabète sont une cause majeure de handicap, de diminution de la qualité de vie et de décès. Elles peuvent en outre toucher diverses parties de l'organisme et se manifester de différentes façons selon les personnes (**Drabo *et al.*, 1996**), comprennent les rétinopathies (maladies des yeux), les néphropathies (maladies des reins), les neuropathies (maladies du système nerveux), les maladies cardiovasculaires (maladie du système circulatoire), les ulcérations au pied et l'amputation (**Harris & Zimmet, 1997**).

I.3.1. Neuropathies

C'est la complication la plus fréquente du diabète, uniquement « évaluée » cliniquement et retrouvée chez plus de 44 % des patients (**Maurice, 2003**). La neuropathie est une atteinte du système nerveux. C'est l'une des complications du diabète. Lorsque le taux de sucre dans le sang demeure trop élevé sur une longue période de temps, cela peut endommager les nerfs, surtout ceux des membres inférieurs (**Attali, 2005**).

I.3.2. La rétinopathie

De nombreuses personnes atteintes de diabète développent une forme quelconque de maladie oculaire (rétinopathie) pouvant altérer la vision ou provoquer la cécité (**Harris & Zimmet, 1997**). La rétinopathie diabétique reste silencieuse pendant de nombreuses années.

Généralités sur le diabète

Elle ne devient symptomatique qu'au stade des complications. Seul un examen régulier et systématique permet de la diagnostiquer précocement et de la traiter (**Monnier, 2010**).

I.3.3. Néphropathie

Les maladies rénales (néphropathies) sont beaucoup plus fréquentes chez les personnes atteintes de diabète (**Drouin et al., 1999**). Le diabète est l'une des principales causes de maladie rénale chronique. La maladie est causée par les dommages subis par les petits vaisseaux sanguins, qui rendent les reins moins performants ou qui les empêchent de fonctionner (**Harris & Zimmet, 1997**).

I.3.5. Le pied diabétique

Le pied diabétique se caractérise par une ulcération ou une destruction du tissu du pied, associant notamment des troubles de la sensibilité, de la circulation sanguine et des déformations, qui exposent à des traumatismes au niveau du pied (**Roxane et al., 2014**). On estime que 15% des patients diabétique développeront une plaie au pied nécessitant une hospitalisation prolongée. Toute plaie du pied chez un diabétique est une urgence médicale. La prévention est essentielle pour éviter son apparition, mais aussi pour en limiter l'extension qui peut conduire à des décisions médicales souvent extrêmes. En effet, le diabète est la cause principale d'amputation dans le monde (**Magalon, 2003**).



Figure 01. Infection du pied diabétique (**Darbellay et al., 2011**)

I.4. Les infections du pied diabétique

L'infection d'une plaie du pied chez les personnes diabétiques est définie comme l'invasion et la multiplication de microorganismes dans les tissus du corps, associées à la destruction de tissus ou à une réaction inflammatoire de la part de l'hôte. L'infection est définie sur le plan clinique par les symptômes et les signes d'inflammation (**Darellay et al.,**

Généralités sur le diabète

2011). Les infections des pieds chez les diabétiques sont multiples (**Peacock & Van Winkle, 1976**). Il faut différencier les infections cutanées superficielles, en particulier les mycoses, des complications bactériennes, responsables des surinfections voire de cellulites qui entraînent des infections profondes avec un risque général majeur (**Purohit & Solanki, 2013**).

- **Les mycoses :** Les mycoses des pieds sont fréquentes et dominées par les dermatophytes. On rencontre aussi des atteintes par levures et plus rarement par moisissures (**Maurice, 2003**).
- **Cellulite:** infection cutanée aiguë touchant l'épiderme, le derme et le tissu sous-cutané. Est appelée purulente une cellulite accompagnée d'une sécrétion purulente, mais sans abcès drainable. Le pathogène le plus fréquent de la cellulite est *Staphylococcus aureus* (**Stefano et al., 2013**).
- **Erysipèle :** infection cutanée superficielle aiguë, limitée à l'épiderme et au derme (**Stefano et al., 2013**).

Les infections sont le plus souvent causées par des agents aérobies, Cocci Gram positif, en particulier le staphylocoque doré ou le streptocoque. L'existence de germes à Gram négatif est fréquent aussi, *Escherichia coli*, *Klebsiellas*, et *Proteus* (**Maurice, 2003**).

I.4.1. Signes et symptômes de l'infection

La présence d'une infection devrait être évaluée en se basant sur la présence d'au moins deux des signes et symptômes suivants (**Peters et al., 2012**):

- Chaleur; Une hausse de température (érythème) autour de la plaie peut également indiquer la présence d'une infection (**Sibbald et al., 2011**) ;
- Induration et œdème : l'induration (une fermeté anormale des tissus) et l'œdème (enflure) sont des signes d'infection;
- Sensibilité;
- Douleur ;
- Exsudats purulents (**Hammami et al., 2014**) .

I.4.2. Classification des plaies

Le groupe de travail international sur le pied diabétique (International Working Group on the Diabetic Foot - IWGDF) et l'IDSA (Infectious Diseases Society of America) ont

Généralités sur le diabète

proposé des critères cliniques pour classifier la sévérité de l'infection des plaies du pied (**tableau I**) (**Jean-Philippe et al, 2011**). Ces critères ont été retenus par la Société de pathologie infectieuse de langue française en 2007 (**Lipsky, 2004**). Brièvement, l'infection d'une plaie du pied chez le diabétique est définie par la présence d'au moins deux signes d'inflammation (présence de pus, érythème, douleur, oedème, chaleur ou induration) et est divisée en 3 grades allant d'une infection modérée (grade 2) à une infection sévère (grade 4), en fonction de l'extension de l'infection aux tissus mous et aux annexes et à la présence de signes systémiques et/ou de troubles métaboliques. Cette classification a été récemment validée au cours d'une étude prospective (**Lavery, 2007**). Cependant, comme nous l'avons signalé, les manifestations cliniques retenues dans cette classification peuvent être réduites chez le diabétique.

Tableau I. Classification de l'infection des plaies du pied selon le Consensus international sur le pied diabétique (**Jean-Philippe et al, 2011**)

Grade	Les symptômes
Grade 1	Pas de symptôme, ni de signe d'infection
Grade 2	Atteinte cutanée uniquement (sans atteinte des tissus sous-cutanés, ni systémique) avec au moins deux des signes suivants : <ul style="list-style-type: none">✓ chaleur locale✓ érythème > 0,5-2 cm autour de l'ulcère✓ sensibilité locale ou douleur✓ tuméfaction locale ou induration✓ décharge purulente (sécrétion épaisse, opaque à blanchâtre ou sanguinolente) Les autres causes de réaction inflammatoire de la peau doivent être éliminées (par exemple : traumatisme, goutte, pied de Charcot aigu, fracture, thrombose, stase veineuse)
Grade 3	Erythème > 2 cm et une des constatations décrites ci-dessus ou <ul style="list-style-type: none">✓ Infection atteignant les structures au-delà de la peau et du tissu sous-cutané, comme un abcès profond, une lymphangite, une ostéite, une arthrite

Généralités sur le diabète

Grade 4

septique ou une fasciite.
Il ne doit pas y avoir de réponse inflammatoire systémique (cf grade 4)

Quelle que soit l'infection locale, si présence de signes systémiques manifestées par **au moins deux des caractéristiques suivantes** :

- ✓ température > 39° ou < 36°C
 - ✓ fréquence cardiaque > 90 battements/min
 - ✓ fréquence respiratoire > 20 cycles/min
 - ✓ PaCO₂ < 32 mm Hg
 - ✓ leucocytes > 12 000 ou < 4 000 /mm³
 - ✓ - 10 % de formes leucocytaires immatures
-

I.4.3. Facteurs déclenchant

Les lésions du pied sont très souvent occasionnées par des traumatismes mineurs (**Lushikue, 2006**). Les facteurs déclenchants les plus fréquemment en cause sont les chaussures inadaptées, une hygiène insuffisante, des soins de pédicurie mal faits (**Jeffcoate & Rayman, 2011**).

Etude expérimentale



1. Objectif de l'étude

Notre prospection a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie appliqué de la faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie, université de Tébessa (Cheikh Laarbi Tebessi). Ce travail a été réalisé en deux mois (Mars et avril 2017) en collaboration avec le service de Médecine Interne de l'Hôpital « **Bouguerra Boulaaras** », et l'Etablissement Public de Santé de proximité « **Mentouri Bachir** » dans la wilaya de Tébessa.

Notre étude a été menée sur (34) patients présentant des pieds diabétiques et a eu pour objectif de :

- ✓ Déterminer le profil bactériologique responsable de l'infection du pied diabétique par isolement et identification biochimique des microorganismes responsables.
- ✓ Etudier la sensibilité aux antibiotiques des germes responsables de l'infection du pied diabétique (IPD).

2. Matériel et Méthodes

2.1. Phase de prélèvement

2.1.1. Matériel

a) Matériel biologique

Le matériel biologique est représenté par le pied des malades admis pour hospitalisation au service de médecine interne **Bouguerra Boulaaras** à Békaria wilaya de Tébessa et les patients qui ce sont présentés pour une consultation externe spécialisée au niveau de l'Etablissement Public de Santé de proximité **Mentouri Bachir**. Le choix des malades a été effectué selon des critères de choix, qui sont les suivants :

- ✓ Présence d'un état de diabète (ID, NID).
- ✓ Malades admis et diagnostiqués cliniquement (pied diabétique).
- ✓ Infection du pied diabétique superficielle diagnostiquée cliniquement.
- ✓ Deux sexes masculin et féminin.
- ✓ Tout âge confondu.

✓ Malades soumis ou non à une antibiothérapie.

Tableau 2. Récapitulatif des malades choisis et de l'ensemble des caractéristiques Correspondantes (**P:** patient), (**M:** masculin), (**F:** féminin).

Patients	sexe	année Age	Type de diabète	Siège de la plaie	Traitement Anti diabétique suivi
P1	F	64	I	Orteils	insuline
P2	M	67	I	Orteils	insuline
P3	M	82	I	Orteils	insuline
P4	M	73	I	Orteils	insuline
P5	M	64	II	Orteils	insuline
P6	M	66	I	Orteils	ADO
P7	F	57	I	Orteils	insuline
P8	F	69	I	Bord interne	insuline
P9	F	55	I	Orteils	insuline
P10	M	68	I	Plaie multiple	insuline
P11	F	78	I	Face postérieure de pied	insuline
P12	M	76	I	Orteils	ADO
P13	F	45	I	Face postérieure de pied	insuline
P14	M	85	I	Plaie multiple	insuline
P15	M	84	II	Orteils	insuline
P16	M	65	I	Face antérieure de pied	ADO
P17	M	75	I	Plaie multiple	insuline
P18	M	58	II	Orteils	insuline
P19	M	78	I	Orteils	insuline
P20	M	62	I	Bord externe	ADO
P21	M	54	I	Plaie multiple	insuline

P22	F	60	I	Face postérieure de pied	ADO
P23	F	54	II	Bord interne	insuline
P24	M	43	I	Orteils	insuline
P25	M	64	I	Plaie multiple	ADO
P26	F	70	I	Orteils	insuline
P27	M	62	I	Orteils	insuline
P28	M	56	I	Face antérieure de pied	insuline
P29	M	69	I	Orteils	insuline
P30	M	71	I	Face postérieure de pied	insuline
P31	M	64	I	Orteils	ADO
P32	M	69	II	Orteils	insuline
P33	M	57	I	Plaie multiple	insuline
P34	M	60	I	Orteils	insuline

b) Matériel de prélèvement

Des écouvillons stériles et un bouillon nutritif d'enrichissement générale (**Annexe III**) ont été utilisées pour assurée un bon prélèvement, l'écouvillonnage permet de collecter des bactéries d'une plaie est suivie d'un enrichissement immédiat en vue de revivifier les bactéries stressés par une antibiothérapie probabiliste.

2.1.2. Méthode

a). Préparation de la plaie

Un prélèvement est effectué par écouvillonnage après débridement et nettoyage de la plaie au lit du malade en utilisant une curette ou un scalpel stérile pour éliminer les zones nécrosées et limiter la quantité bactérienne et en nettoyant la plaie avec une gaze imbibée de sérum physiologique stérile (les antiseptiques peuvent être

utilisés mais il faut les éliminer avec du sérum physiologique stérile avant de prélever).

b). Technique de prélèvement

- Tournez la pointe de l'écouvillon dans une zone de 1 cm² de tissu de granulation propre en appliquant une pression suffisante pour dégager l'exsudat du tissu pendant une période de cinq secondes.
- Retirez le capuchon protecteur du milieu de culture et insérez l'embout de coton dans le milieu de culture sans contamination.
- en utilise 2 écouvillons (1 pour examen microscopique et l'autre pour culture).
- Ajout immédiat du milieu d'enrichissement au prélèvement (bouillon nutritif).

Les prélèvements sont transportés au laboratoire de microbiologie et lancer immédiatement.

2.2. Phase d'analyse microbiologique au niveau de laboratoire

Une fois les prélèvements sont au niveau du laboratoire, une série d'analyses bactériologique ont été effectués :

2.2.1. Matériel

2.2.1.1. Examen direct des prélèvements au microscope optique à la recherche de micro-organismes et de la réaction cellulaire sur des lames dégraissés

a). Coloration de Gram (Violet de gentiane, lugol, alcool, fuschine) (**Annexe II**)

b). Coloration au bleu de méthylène (Bleu de méthylène) (**Annexe II**)

2.2.1.2. Mise en culture

Les milieux utilisés sont nombreux : sélectifs, et non sélectifs, solides pour isolement Gélose nutritif, Chapman, Gélose Hektoene.

- **Gélose Chapman**, est un milieu sélectif permettant la croissance des germes halophiles. Parmi ces germes figurent au premier rang les bactéries du genre *Staphylococcus* et porte une forte concentration en chlorure de sodium

inhibe la croissance de la plupart des bactéries à Gram négatif et à Gram positif (**Annexe III**).

- **Gélose Hektoene**, est un milieu différentiel modérément sélectif servant à l'isolement et à la culture de microorganismes entériques à Gram négatif, la composition du milieu permet la différenciation des colonies fermentant rapidement un des 3 sucres (Le lactose, le saccharose et la salicine) et/ou produisant de l'H₂S (centre noir) (**Annexe III**).
- **Gélose de Sabouraud**, est un milieu péptoné et glucosé favorise la croissance des levures et des moisissures, et en particulier des dermatophytes (**Annexe III**).
- **Gélose nutritive**, est un milieu dit non sélectif car il ne permet pas de sélectionner une souche bactérienne précise. Ce milieu permet donc à toutes souches bactériennes de pouvoir pousser, à condition qu'elles soient non exigeantes, c'est à dire que les souches peuvent pousser sur un milieu minimum, qui n'apporte que les éléments essentiels à leur développement (**Annexe III**).

2.2.1.3. Caractérisation biochimique des souches bactériennes

a) caractérisation préliminaire

- ✓ Disques oxydase.
- ✓ Eau oxygénée pour détermination de la catalase.

b) caractérisation détaillée

La galerie biochimique API 20 E, est une version miniaturisée et standardisée des techniques biochimiques conventionnelles pour l'identification des bactéries. Lorsqu'une suspension bactérienne de densité convenable est répartie dans les différentes alvéoles qui composent la microgalerie (contenant de substrats déshydratés), les métabolites produits durant la période d'incubation se traduisent par des changements de couleur spontanés ou révélés par addition de réactifs. Elle permet l'identification d'une centaine de bacilles à Gram négatif dont les *Entérobactéries*.

Elle comprend 20 tests biochimiques. La lecture de ces réactions se fait à l'aide d'un logiciel d'identification (**Annexe IV**).

2.2.1.4. Etude de la sensibilité aux antibiotiques:

L'antibiogramme a été réalisé par la technique de diffusion en gélose selon la méthode recommandée par EUCAST 2017 (European Comity on Antimicrobial Susceptibility Testing) (**Annexe IV**).

- **Gélose Mueller Hinton**, Milieu relativement riche, mais qui reste un milieu de base qui permet la culture des bactéries non exigeantes, et qui permet la réalisation de l'antibiogramme standard (principale utilisation). Sa formulation est conforme aux recommandations EUCAST (**Annexe III**).
- **Souches de référence**, destinées à évaluer l'efficacité, la précision, l'exactitude et la reproductivité des méthodes utilisées permettent de contrôler la fiabilité des réactifs et l'évaluation du rendement du manipulateur. Les souches qui ont été utilisées : *Escherichia Coli* ATCC 25922; *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.



Figure 2. Les souches de références (*E. coli* et *Staphylococcus aureus*)

- **Écouvillons stériles**
- **Disques d'antibiotiques**, Un ensemble de disques d'antibiotiques ont été utilisés selon le genre bactérien isolé et suivant les recommandations EUCAST 2017, une liste de molécules d'antibiotiques a été appliquée sur les différentes catégories de bactéries isolées dans notre étude:

Tableau 3. Antibiotiques testés sur les entérobactéries.

Classe d'antibiotique	Disque d'antibiotique	Code de disque
Penicillines	Amoxicilline	AX10
	Amoxicilline-Acide Clavulanique	AMC3
Céphalosporines	Céfexime	CFM5
	Céfotaxime	CTX30
Carbapénèmes	Imipenème	IPM10
Fluoroquinolones	Ciprofloxacine	CIP5
	Acide nalidixique	NA30
	Ofloxacine	OF5
<i>Aminosides</i>	Gentamicine	GEN10
<i>Autres</i>	Chloramphénicol	C30

Tableau 4. Liste des antibiotiques testés sur les staphylocoques.

Classe d'antibiotique	Disque d'antibiotique	Code de disque
Céphalosporines	Céfoxitine	FOX30
Fluoroquinolones	Ofloxacine	OF5
<i>Aminosides</i>	Gentamicine	GEN10
	Streptomycine	S10
Glycopeptides	Vancomycine	VA30
Macrolides, Lincosamides, Streptogramines	Azithromycine	AT15
	Erythromycine	E15
	Clindamycine	CD2
	Pristinamycine	PT15
Autres	Acide fusidique	FC10

- **La suspension**

Réalisation d'une suspension bactérienne physiologique stérile de germes recueillis en culture pure et fraîche de moins de 24 h.

2.2.2. Méthodes

2.2.2.1. Examen microscopique

A partir des écouvillons des frottis sur lame en verre ont été réalisés, et colorés par une coloration de Gram et Bleu de Méthylène.

✓ Coloration de Gram

Un examen à l'état frais se fait pour détecter la morphologie, l'abondance des bactéries, l'examen direct d'un frottis par la méthode de Gram permet la différenciation entre les bactéries Gram positif et négatif sous différentes formes.

Les bactéries Gram positif ont une coloration violette foncée tandis que les Gram négatif sont de coloration rose.

✓ Coloration au bleu de Méthylène

Coloration simple et rapide qui permet d'apprécier la morphologie des bactéries et leur mode de groupement pour intérêt de :

- Noter l'abondance des leucocytes et des hématies ;
- Vérifier la rareté des cellules immunitaires.

2.2.2.2. Recherche des germes

Consiste à ensemencer des milieux de culture à partir des écouvillons qui ont servi au prélèvement. On dépose l'inoculum, on réalise des stries à l'aide d'une pipette Pasteur. Ces milieux ont été incubés à 37 °C pendant 24 à 48 heures.

2.2.2.3. Caractérisation biochimique des souches

a). Tests préliminaires

Les souches suspects isolées sur milieu de culture subit une identification biochimique, des testes préliminaires d'orientation ont été utilisé en premier :

Recherche de la catalase, oxydase.

- **Recherche de la catalase**

Sur une lame propre et bien désinfecté, déposer une goutte d'H₂O₂ a 10 volumes, puis dissoudre la colonie. Une souche est qualifiée catalase positive lors d'un dégagement gazeux immédiat des bulles.

- **Recherche d'oxydase**

Déposer sur une lame propre un disque d'oxydase imbibé avec une goutte d'eau stérile, puis prélever une colonie à l'aide d'une pipette pasteur et l'étaler sur le disque. En présence d'oxydase, une coloration violette brin apparait immédiatement en quelque seconde.

b). Caractérisation biochimique détaillée

La recherche et l'identification des germes reposent sur la connaissance des caractères biochimiques et métaboliques des bactéries, nous avons utilisés au cours de notre étude la galerie biochimique API 20 E pour l'identification des *Entérobactéries*.

2.2.2.4. Etude de la sensibilité aux antibiotiques

L'antibiogramme est réalisé selon la méthode recommandée par EUCAST 2017 (European Comity on Antimicrobial Susceptibility Testing). Les étapes comportent la préparation de l'inoculum et ensemencement de **0.5 MCF**, les boîtes contenant les milieux par écouvillonnage puis laisser sécher 10 à 15 mn à la température ambiante. Appliquer les disques d'antibiotiques correspondant à l'aide d'une pince en appuyant légèrement et incuber à 37°C /18 h.

Lecture et interprétation

La culture bactérienne s'arrête lorsqu'elle rencontre une concentration égale à sa CMI. La mesure du diamètre d'inhibition reflète donc la valeur de la CMI de l'antibiotique. L'interprétation des résultats s'effectue suivant des tables d'interprétation établit par le comité EUCAST. Pour certains antibiotiques les valeurs critiques pour l'interprétation ont été tirés des tables d'interprétation fournit par le comité français d'antibiogramme de la société Française de microbiologie CA-SFM.

Tableau 5. Les valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour l'interprétation des résultats de l'étude de la sensibilité aux antibiotiques des *Staphylococcus* spp et les *entérobactéries* sur milieu gélosé.

	Antibiotiques testés	Diamètre : par mm	
		Sensible \geq	Résistance <
<i>Entérobactéries</i>	Céfixime	17*	17*
	Gentamicine	17*	14*
	Imipénème	22*	16*
	L'acide nalidixique	19*	14*
	Chloramphénicol	17*	17*
	Ciprofloxacine	26*	24*
	Ofloxacine	24*	22*
	Amoxiciline	19*	19*
	Céfotaxime	20*	17*
	Amoxicilline- acide clavulanique	19*	19*
<i>Staphylococcus aureus</i>	Erythromycine	21*	18*
	Pristinamycine	22#	19#
	Clindamycine	22*	19*
	Azithromycine	21*	18*
	Streptomycine	15#	13#
	Gentamycine	18*	18*
	Ofloxacine	20*	20*
	Vancomycine	17#	14#
	Céfoxitine	22*	22*
	L'acide fusidique	24*	24*

(#): Des valeurs critique tirées à partir de CA-SFM 2013.

(*): Des valeurs critique tirées à partir de EUCAST 2017

Résultats



1. Diagnostic bactériologique

1.1. Résultats de l'Examen microscopique

1.1.1. Après coloration de Gram

La lecture des différents frottis nous a permis de distinguer les bactéries grâce à leurs morphologie et leurs coloration de Gram.

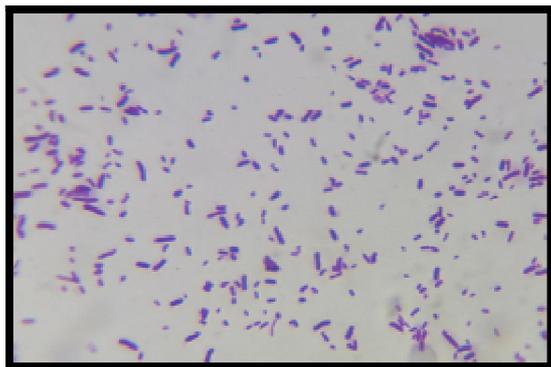


Figure 3. Aspect microscopique des bacilles à coloration de Gram négative.

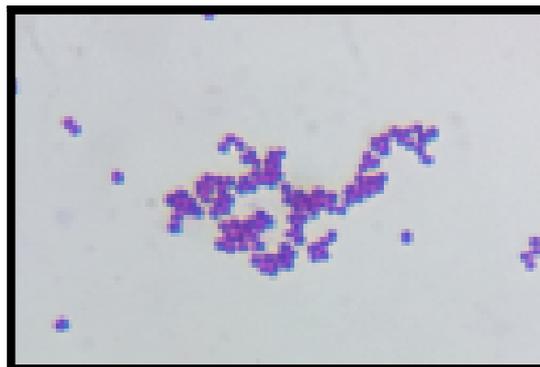


Figure 4. Aspect microscopique des Cocci à coloration de Gram positive.

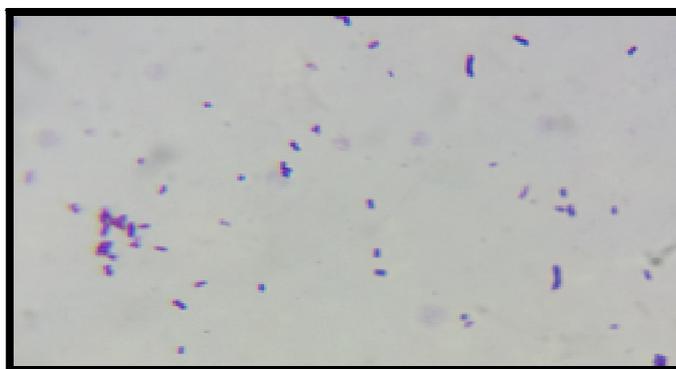


Figure 5. Aspect microscopique des Bacilles et Cocci.

1.1.2. Après coloration au bleu de méthylène

L'observation microscopique des différents frottis colorés au bleu de méthylène nous a permis d'observer les bactéries, les champignons, levures, et apprécier la réaction cellulaire immunitaire (**Annexe V**).

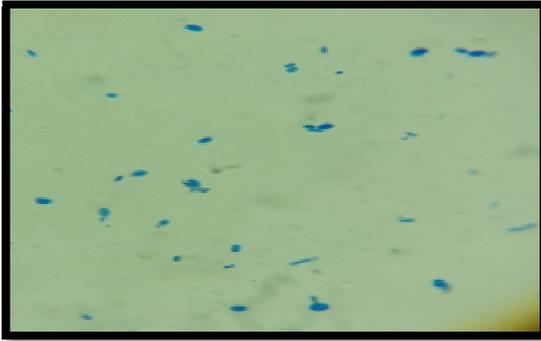


Figure 6. Aspect microscopique des levures après coloration au bleu de méthylène.

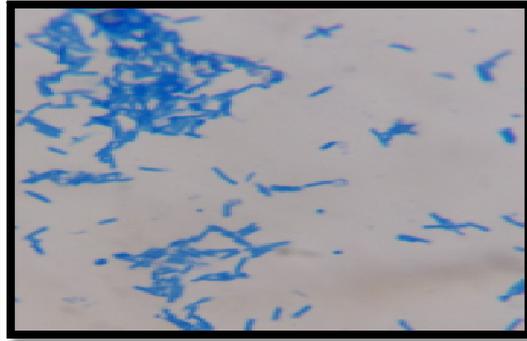


Figure 7. Aspect microscopique des Champignons après coloration au bleu de méthylène.

- Les polynucléaires neutrophiles (PN) ont été visualisés avec une abondance rare. La réaction cellulaire à polynucléaire était positif avec 7 frottis/34 patient ce qui représente (20,58%) et négatif avec 27 frottis /34 patient ce qui représente (79,41%).

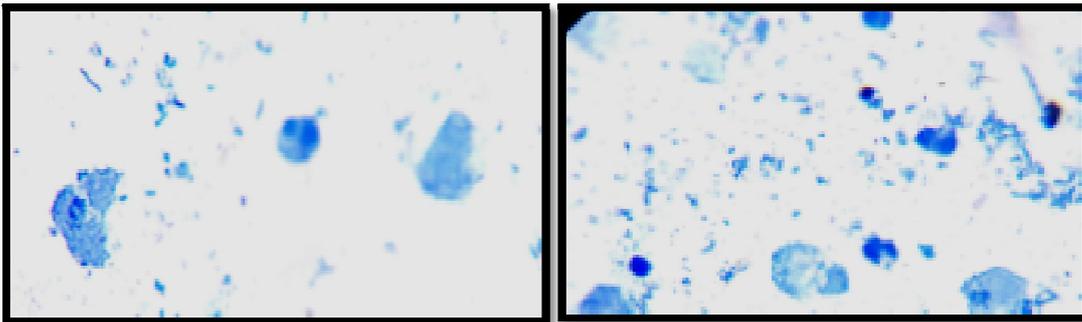


Figure 8. Aspect microscopiques des polynucléaires neutrophiles après coloration au bleu de méthylène.

L'étude de différents frottis coloré en premier lieu par coloration de Gram puis par Bleu de Méthylène nous a fournis les différents pourcentages suivant :

- ✓ Des Cocci à Gram positif sur 33 frottis/34 patients (**97,05%**).
- ✓ Des bacilles à Gram négatif 30 frottis/34 patients (**88,23%**).
- ✓ Des levures 14frottis/patients (**41,17%**).
- ✓ Combinaison bacilles et cocci 30 frottis /34 patients (**88,23%**).
- ✓ Combinaison bacilles, cocci et levures 12frottis/34 patients (**35,29%**) (**Annexe V**).

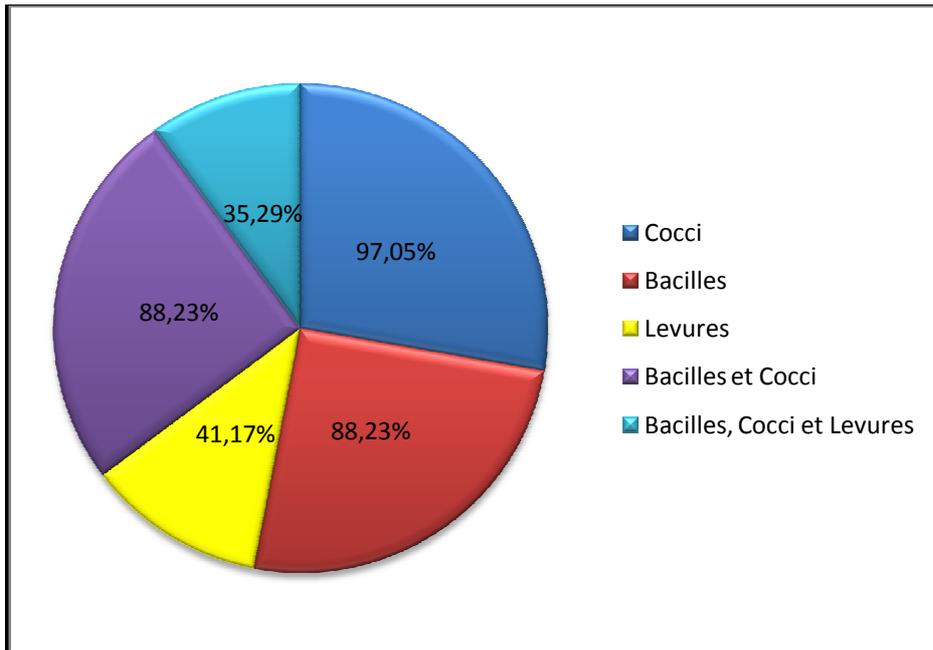


Figure 9. Abondance Relative des bactéries isolés et combinés après examen direct.

1.2. Résultats de la mise en culture

La mise en culture a permis d'isoler les différents groupes bactériens observés à l'examen direct après coloration :

- **Milieu Chapman** : culture positif 33/34 patient ce qui représente (**97,05%**).
 - **Milieu Hektoen** : culture positif 30/34 patient ce qui représente (**88,23%**).
 - **Sabouraud** : culture positif 14/34 patient ce qui représente (**41,17%**)
- (Annexe V).

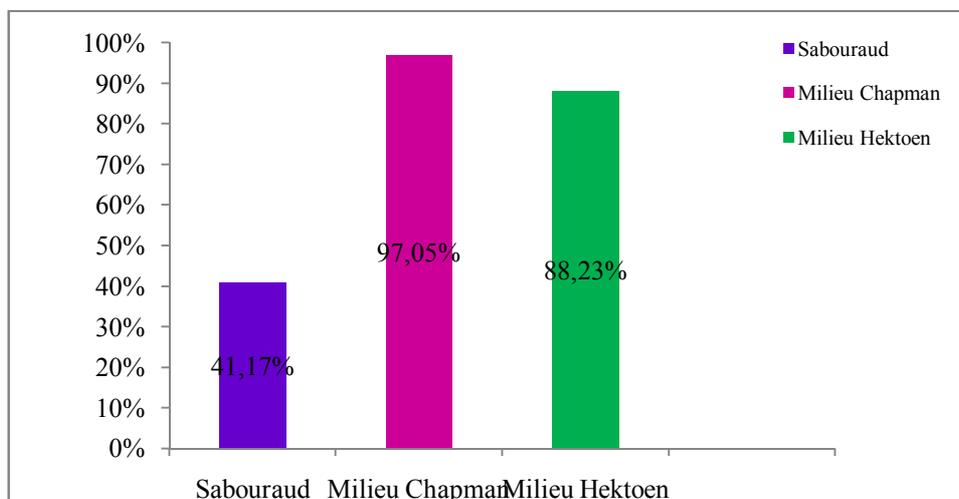


Figure 10. Pourcentage des bactéries après mise en culture sur différents milieux.

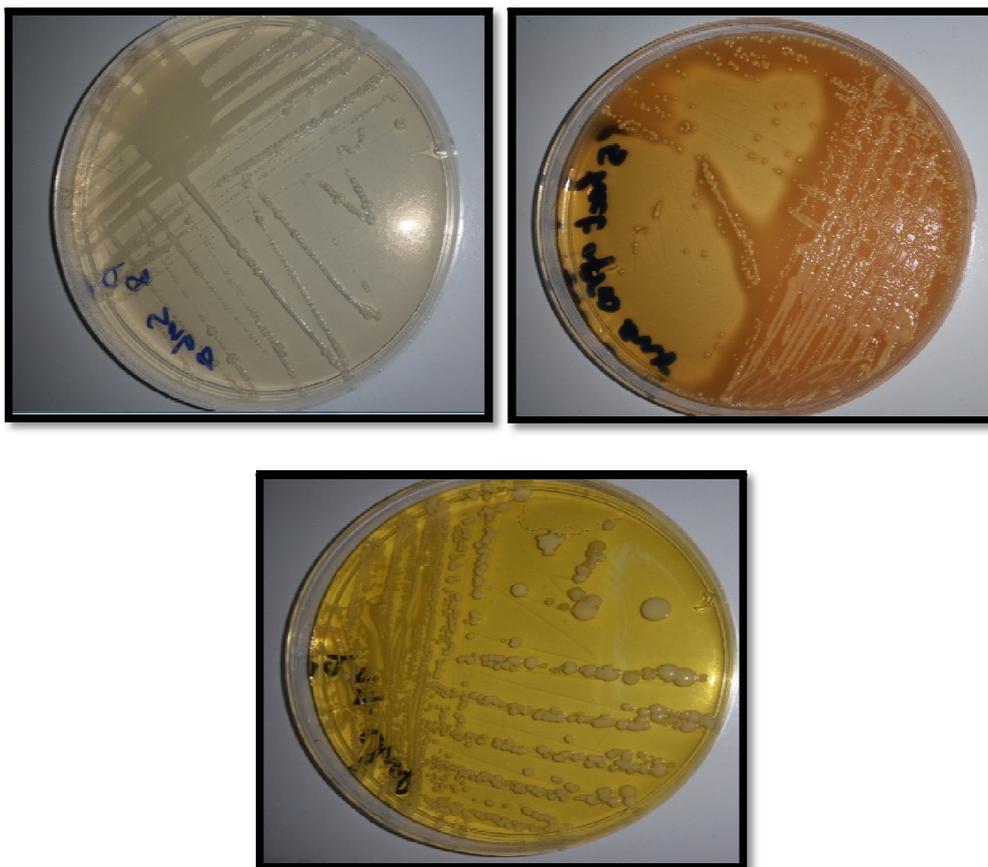


Figure 11. Aspect macroscopique des différents isolats sur les milieux de cultures utilisées.

2. Résultats de la Caractérisation biochimique des bactéries isolées

L'identification préliminaire et détaillée des différentes souches bactériennes isolées, a permis de déterminer des pourcentages variables pour les différents groupes bactériens (**Figure 12**). D'après les résultats obtenus, les *Staphylococcus* spp étaient les germes les plus abondants avec (33/63) (52,38%), les *Entérobactéries* avec (30/63) (47,61%).

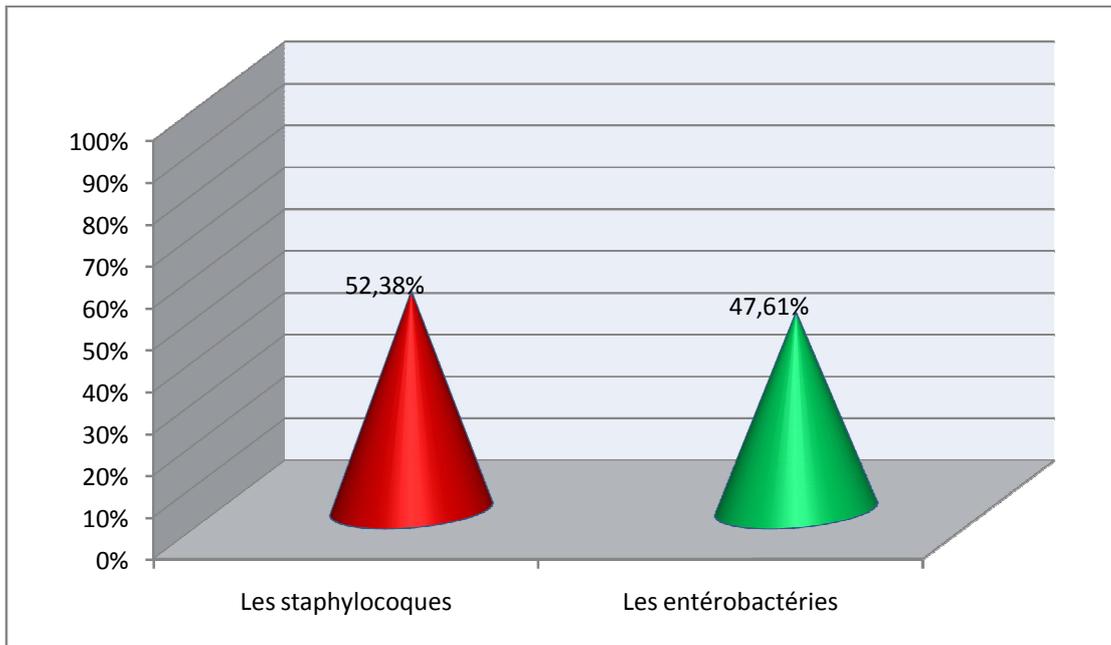


Figure 12. Pourcentage des différents groupes bactériens identifiés biochimiquement.

➤ **Identification biochimique détaillé**

Après incubation, la lecture de la galerie a été effectuée en se référant à une table de lecture (**Annexe V**).

- *Klebsiella oxytoca* (14/30 souches) (**46,66%**)
- *E. Coli* 1(4/30souches) (**13,33%**)
- *Citrobacter kosori /Farmeri* (2/30souches) (6,66%)
- *Serratia marcescens* (2/30souches) (**6,66%**)
- *Serratia liquefaciens* (2/30souches) (**6,66%**)
- *Enterobacter aerogenees* (2/30souches) (**6,66%**)
- *Erwinia spp* (2/30souches) (**6,66%**)
- *Proteus vulgaris group* (1/30souches) (**3,33%**)
- *Enterobacter cloacae* (1/30 souches) (**3,33%**)

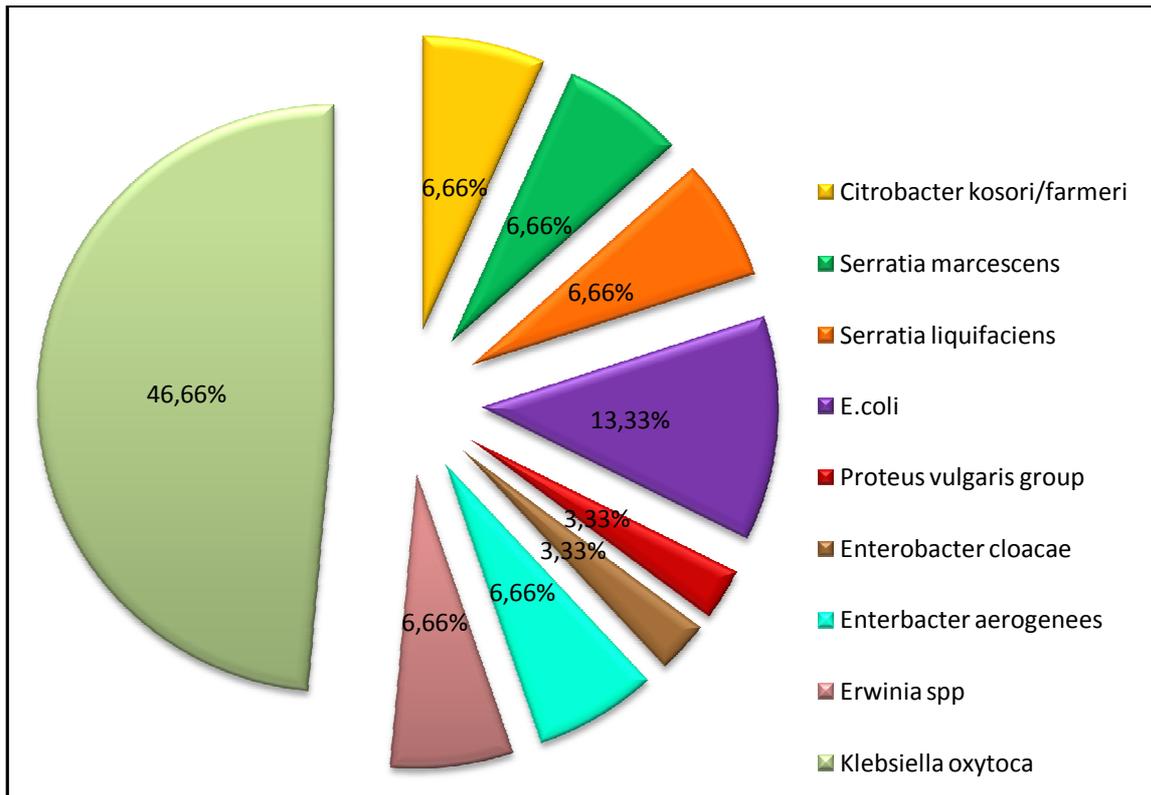


Figure 13. Pourcentage des différentes espèces d'Entérobactéries isolées.

3. Etude de la sensibilité aux antibiotiques

❖ Plusieurs profils de résistance ont été visualisés

• Profils de Résistance des *Entérobactéries*

Profil 1: Amoxicilline- acide clavulanique (R), Gentamycine (R), Imipenème (R), L'acide Nalidixique (R), Ciprofloxacine (R), Ofloxacine (R), Amoxicilline (R), **Observé avec un seul isolat (1/30) (3,33%).**

Profil 2 : Amoxicilline- Acide Clavulanique (R), Amoxicilline (R), **Observé avec onze isolats (11/30) (36,66%)**

Profil 3 : Amoxicilline- Acide Clavulanique (R), Gentamycine (R), L'acide Nalidixique (R), Ofloxacine (R), Amoxicilline (R), **Observé avec un seul isolat (1/30) (3,33%).**

Profil 4 : Amoxicilline- Acide Clavulanique (R), L'acide Nalidixique (R), Chloramphénicol (R), Ciprofloxacine (R), Ofloxacine (R), Amoxicilline (R), **Observé avec un seul isolat (1/30) (3,33%).**

Profil 5 : Amoxicilline- Acide Clavulanique (R), Gentamycine(R), Amoxicilline (R), **Observé avec un seul isolat (1/30) (3,33%).**

Résultats

Profil 6 : Amoxicilline- Acide Clavulanique (R), Ciprofloxacine (R), Amoxicilline (R), **Observé avec cinq isolats (5/ 30) (16,66%).**

Profil 7 : Amoxicilline- Acide Clavulanique (R), Ciprofloxacine (R), Ofloxacine (R), Amoxicilline (R), **Observé avec trois isolats (3/30) (10%)**

Profil 8 : Amoxicilline- Acide Clavulanique (R), Chloramphénicol (R), Ciprofloxacine (R), Ofloxacine (R), Amoxicilline (R), **Observé avec 2 isolats (2/30) (6,66%)**

Profil 9 : Amoxicilline- Acide Clavulanique (R), Céfixime (R), Gentamycine (R), L'acide Nalidixique (R), Chloramphénicol (R), Ciprofloxacine (R), Ofloxacine (R), Amoxicilline (R), **Observé avec un seul isolat (1/30) (3,33%).**

Profil 10 : Amoxicilline- Acide Clavulanique (R), Gentamycine (R), Ofloxacine (R), Amoxicilline (R), **Observé avec un seul isolat (1/30) (3,33%).**

Profil 11 : Amoxicilline- Acide Clavulanique (R), Céfotaxime (R), L'acide Nalidixique (R), Chloramphénicol (R), Ciprofloxacine (R), Ofloxacine (R), Amoxicilline (R), **Observé avec un seul isolat (1/30) (3,33%).**

Profil 12 : Amoxicilline- Acide Clavulanique (R), Chloramphénicol(R), Ciprofloxacine (R), Amoxicilline (R), **Observé avec un seul isolat (1/30) (3,33%).**

Profil 13 : Amoxicilline- Acide Clavulanique (R), Gentamycine(R), Imipénème (R), L'acide Nalidixique (R), Amoxicilline (R), **Observé avec un seul isolat (1/30) (3,33%).**

Tableau 6. Résultats de l'étude de la sensibilité des *Entérobactéries* aux antibiotiques testés sur milieu gélose (P : Patient, R : résistante, S : sensible) (**Annexe V**).

	AM C	CTX	CFM	GEN	IPM	NA	C	CIP	OF	AX
P01	R	S	S	R	R	R	S	R	R	R
P02	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R
P 04	R	S	S	S	S	R	R	R	R	R
P05	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R
P07	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R
P 08	R	S	S	R	S	R	S	S	R	R
P09	R	S	S	R	S	S	S	S	S	R
P11	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R
P12	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R
P 13	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R
P14	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R
P15	R	S	S	S	S	S	S	R	R	R
P16	R	S	S	S	S	S	S	R	R	R
P17	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R
P18	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R
P19	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R
P20	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R

Résultats

P21	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R
P22	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R
P23	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R
P24	R	S	S	S	S	S	S	R	R	R
P25	R	S	S	S	S	S	R	R	R	R
P26	R	S	S	S	S	S	R	R	R	R
P27	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R
P28	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R
P29	R	S	S	R	S	S	S	S	R	R
P30	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R
P31	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R
P33	R	S	S	S	S	S	R	R	S	R
P34	R	S	S	R	R	R	S	S	S	R

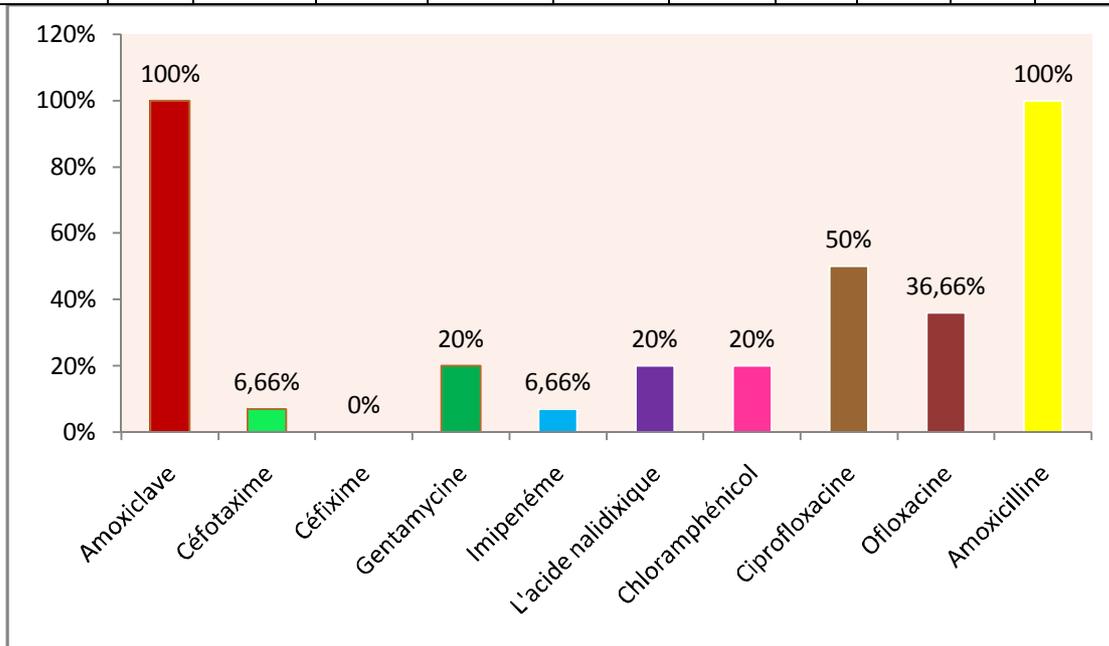


Figure 14. Pourcentage de la résistance des *Entérobactéries* aux antibiotiques

Les résultats montrent clairement une résistance très élevée à l'Amoxicilline- Acide Clavulanique et l'Amoxicilline (30/30) (100%), Ciprofloxacine (15/ 30) (50%), Ofloxacine (11/ 30) (36,66%), Chloramphénicol, Gentamycine et l'Acide Nalidixique (6/30) (20%), Céfotaxime et l'Imipenème (2/30) (6,66%), et une résistance nulle à la Céfixime (0/30) (0%).

- **Profils de Résistance des *Staphylococcus spp***

Profil 1 : Clindamycine (R), Azithromycine (R), Pristinamycine (R), Erythromycine (R), Céfoxitine (R), Vancomycine (R), Gentamycine (R), Ofloxacine(R), Streptomycine (R), **Observé avec un seul isolat (1/ 33)(3,03%).**

Profil 2 : Clindamycine (R), Pristinamycine (R), Erythromycine (R), Céfoxitine (R), Vancomycine (R), Gentamycine (R), Ofloxacine (R), **Observé avec un seul isolat (1/ 33)(3,03%)**.

Profil 3 : Clindamycine (R), Céfoxitine (R), Vancomycine (R), Gentamycine (R), Ofloxacine (R), Streptomycine(R), **Observé avec un seul isolat (1/ 33) (3,03%)**.

Profil 4 : Clindamycine (R), Vancomycine (R), Gentamycine (R), Ofloxacine(R), **Observé avec un seul isolat (1/ 33)(3,03%)**.

Profil 5 : Clindamycine(R), Céfoxitine(R), Vancomycine (R), **Observé avec trois isolats (3/ 33) (9,09%)**.

Profil 6 : Clindamycine (R), Vancomycine (R), **Observé avec un seul isolat (1/ 33) (3,03%)**.

Profil 7 : Clindamycine (R), Azithromycine (R), Céfoxitine (R), Vancomycine(R), Gentamycine (R), Ofloxacine (R), Streptomycine (R), **Observé avec un seul isolat (1/ 33)(3,03%)**.

Profil 8 : Clindamycine (R), Azithromycine (R), Erythromycine (R), Céfoxitine (R), Vancomycine (R), Gentamycine (R), Ofloxacine (R), **Observé avec un seul isolat (1/ 33) (3,03%)**.

Profil 9 : Clindamycine (R), Azithromycine (R), Pristinamycine (R), Erythromycine (R), Vancomycine (R), **Observé avec trois isolats (3/ 33) (9,09%)**.

Profil 10 : Gentamycine (R), **Observé avec un seul isolat (1/ 33) (3,03%)**.

Profil 11 : Clindamycine (R), Azithromycine (R), Pristinamycine (R), Erythromycine (R), Céfoxitine (R), Vancomycine (R), **Observé avec quatre isolats (4/ 33) (12,12%)**.

Profil 12 : Céfoxitine (R), Streptomycine (R), **Observé avec trois isolats (3/ 33) (9,09%)**.

Profil 13 : Céfoxitine (R), **Observé avec trois isolats (3/ 33) (9,09%)**.

Profil 14 : Streptomycine (R), **Observé avec un seul isolat (1/ 33) (3,03%)**.

Profil 15 : Acide fusidique (R), Céfoxitine (R), Streptomycine (R), **Observé avec un seul isolat (1/ 33) (3,03%)**.

Résultats

Profil 16 : Clindamycine (R), Azithromycine (R), Erythromycine (R), Pristinamycine (R), Acide Fusidique (R), Céfoxitine (R), Vancomycine (R), **Observé avec deux isolats (2/33) (6,06%)**.

Profil 17 : Acide Fusidique (R), **Observé avec un seul isolat (1/ 33) (3,03%)**.

Profil 18 : Clindamycine (R), Azithromycine (R), Acide Fusidique (R), Céfoxitine (R), Vancomycine (R), **Observé avec un seul isolat (1/ 33) (3,03%)**.

Profil 19 : Erythromycine (R), Céfoxitine (R), **Observé avec un seul isolat (1/ 33) (3,03%)**.

Profil 20 : Erythromycine (R), Céfoxitine (R), Streptomycine (R), **Observé avec un seul isolat (1/ 33) (3,03%)**.

Profil 21 : Erythromycine (R), Céfoxitine (R), Gentamycine (R), **Observé avec un seul isolat (1/ 33) (3,03%)**.

Tableau 5. Résultats de l'étude de la sensibilité des *Staphylococcus spp* aux antibiotiques testés sur milieu gélose. (P : Patient, R : résistante, S : sensible). **(Annexe V)**

	CD	AT	PT	E	FC	FOX	VA	GEN	OF	S
P01	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R
P02	R	S	R	R	S	R	R	R	R	S
P04	R	S	S	S	S	R	R	R	R	R
P05	R	S	S	S	S	S	R	R	R	S
P06	R	S	S	S	S	R	R	S	S	S
P07	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S
P08	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R
P09	R	R	S	R	S	R	R	R	R	S
P10	R	R	R	R	S	S	R	S	S	S
P11	R	S	S	S	S	R	R	S	S	S
P12	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
P13	R	R	R	R	S	R	R	S	S	S
P14	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R
P15	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R
P16	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S
P17	R	R	R	R	S	R	R	S	S	S
P18	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
P19	S	S	S	S	R	R	S	S	S	R
P20	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S
P21	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S
P22	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R
P23	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S
P24	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S
P25	R	R	S	S	R	R	R	S	S	S
P26	R	R	R	R	S	S	R	S	S	S

Résultats

P27	R	R	S	R	S	R	R	S	S	S
P28	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S
P29	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S
P30	R	S	S	S	S	R	R	S	S	S
P31	S	S	S	R	S	R	S	S	S	R
P32	R	R	R	R	S	S	R	S	S	S
P33	R	R	R	R	S	R	R	S	S	S
P34	S	S	S	R	S	R	S	R	S	S

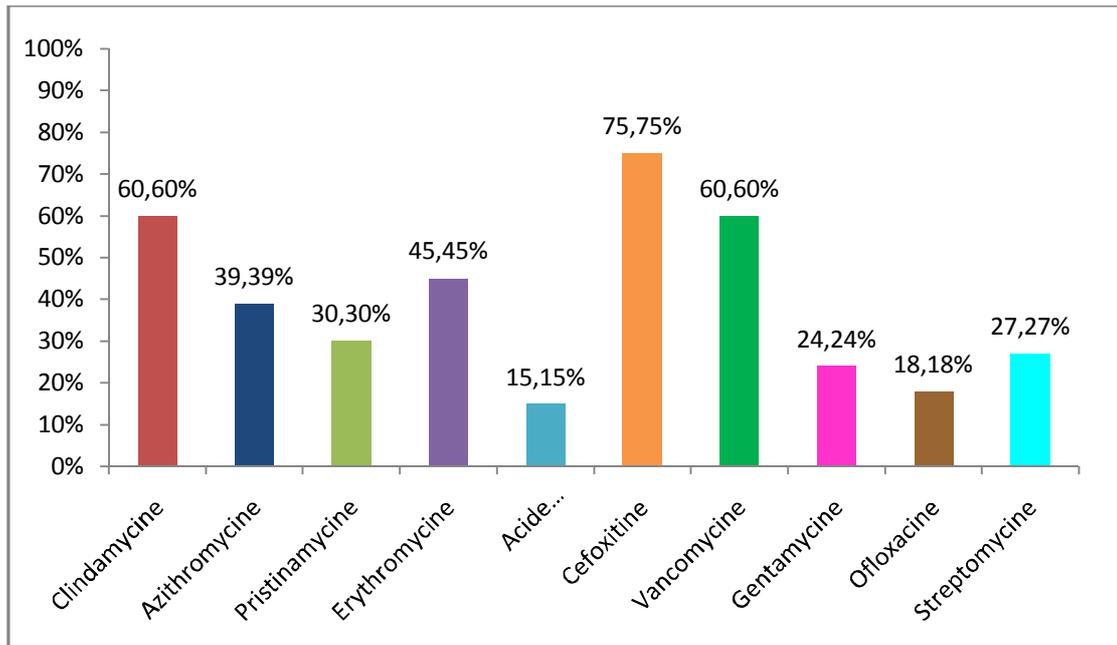


Figure 15. Pourcentage de la résistance des *Staphylococcus spp.* aux antibiotiques

Les résultats montrent clairement une résistance très élevée à la Cefoxitine (75,75%), Vancomycine et Clindamycine (60,60%), Erythromycine (45,45%), Azithromycine, Streptomycine (27,27%), Gentamycine (24,24%), Ofloxacine (18,18%), et enfin à l'acide fusidique (15,15%).

Discussion



DISCUSSION

L'infection du pied diabétique est un motif fréquent de prescription d'antibiotiques. Ceci incite à une documentation microbiologique rigoureuse pour identifier les germes en cause et à avoir une parfaite maîtrise des règles de prescription des antibiotiques (**Toumi et al., 2011**). L'isolement des germes et le choix d'une antibiothérapie ciblée contribuent à améliorer la qualité de la prise en charge de cette maladie (**Senneville, 2008**).

Cette étude a été effectuée en pratiquant des prélèvements microbiologiques optimisés par écouvillonnage après débridement mécanique. Les techniques de prélèvement ont été mises au point conjointement par les cliniciens et les microbiologistes en vue d'obtenir un résultat cliniquement utile. Elles définissent la manière de prélever en fonction de la présentation clinique, le matériel à utiliser, les conditions de transport (**O'Meara et al., 2006**). L'utilisation de ces derniers est fortement conseillée. Les écouvillons déchargés dans un bouillon nutritif (eau péptonée) pour augmenter la durée de survie des germes. Ils doivent être conservés à température ambiante jusqu'à l'ensemencement (**Hammami et al., 2004**).

La susceptibilité particulière des diabétiques aux infections pourrait être en rapport avec un déficit des mécanismes cellulaires de défense majoré par l'hyperglycémie, capable d'altérer la fonction des leucocytes (phagocytose, adhérence, bactéricide) (**Malgrange, 2008**) ce qui explique que la réaction immunitaire n'est pas toujours présente avec tous les malades.

La combinaison de milieux sélective pour entérobactéries et les staphylocoques, enfin un milieu pour isolement sélectif des levures a permis d'isoler la totalité des germes observés à l'examen direct (**Bowler et al., 2001**). L'étude bactériologique de ces prélèvements a montrée l'aspect poly microbien avec une variété d'espèces bactériennes comprenant des Cocci à Gram positif 33 frottis/34 patients (97,05%). les bacilles à Gram négatif 30 frottis/34 patients (88,23%) et les levures 14 frottis/34 patients (41,17%). L'absence des anaérobies dans les études dépend de la technique de prélèvement, de transport des échantillons et des méthodes de culture utilisées (**Adil et al., 2015**).

Les résultats obtenus montrent qu'une des remarques principales est le taux élevé de bactéries Cocci à Gram positif et en particulier *Staphylococcus* spp. Des résultats similaires

ont été observés chez **Lipsky *et al.*, 2004 ; Tentolouris *et al.*, 1999** étant de loin les bactéries les plus fréquemment isolées dans les infections de plaies chez le diabétique. *Klebsiella oxytoca* vient en 2ème rang, le même résultat a été constaté avec l'étude faite au Maroc ou 20% des souche isolée de 105 patients (**Adil *et al.*, 2015**). Etaient de même espèce bactérienne.

Concernant la sensibilité aux antibiotiques, une multitude de profils a été observée avec les différentes souches bactériennes. avec les entérobactéries la résistance a été remarquable avec toutes les classes, des résultats similaires ont été observés avec d'autres études .Ce taux élevé de bactéries multi résistantes pour les staphylocoques isolées sur des plaies superficielles doit être relié aux antécédents d'hospitalisation des patients même si une majorité de patients consultait pour une première plaie (**Sotto *et al.*, 2008**).

Conclusion



CONCLUSION

L'infection de pied diabétique est une urgence thérapeutique. Elle est grave pouvant conduire à l'amputation. Une bonne éducation du diabétique ainsi qu'une prise en charge précoce et multidisciplinaire dont le microbiologiste constitue le maillon principal pour conduire sans échec l'antibiothérapie.

Le travail réalisé, nous a permis d'évaluer le profil bactériologique des infections du pied diabétique ainsi que l'ampleur de la résistance observé avec les bactéries responsables.

L'infection bactérienne était mixte (polymicrobienne) avec les 31 prélèvements. De plus, les Cocci à Gram positif étaient majoritaires avec une dominance totale du *Staphylococcus* spp suivie par les bacilles à Gram négatif ou *Klebsiella oxytoca* représente l'espèce la plus abondante. La réaction immunitaire cellulaire à polynucléaire était négative dans la majorité des prélèvements probablement liée au terrain immunodéprimé du diabétique.

D'autre part, l'étude de la sensibilité aux antibiotiques a révélé une multitude de profils de résistance pour les staphylocoques et les entérobactéries. La résistance a touchée toute les classes avec ampleur variable ce qui augmente l'échec de l'antibiothérapie probabiliste de première intention. Ceci rend le rôle de microbiologiste très important et incontournable pour conduire l'antibiothérapie avec une étude bactériologique qui comporte un isolement, une identification précise et une étude de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries responsables.

Annexes



Annexe I

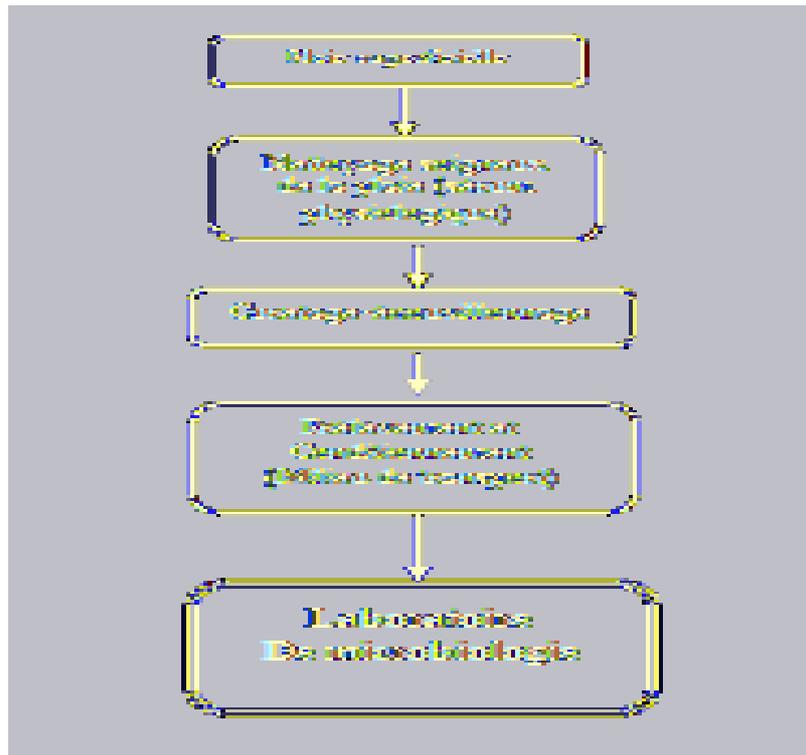


Figure 1. Schématisation des prélèvements à pratiquer

Annexe II

A. La technique de coloration de Gram

1. On réalise un frottis sur une lame de microscope à partir du prélèvement à l'aide de l'écouvillon
2. Le passage rapide de la lame à la flamme du bec Bunsen pour fixer l'échantillon à la chaleur.
3. Immerger (ou inonder) les lames dans la solution de Cristal Violet pendant 1 mn.
4. Rincer abondamment la lame avec le jet d'une pissette d'eau distillée jusqu'à élimination des colorants en excès
5. Immerger (ou inonder) les lames dans du Lugol pendant 1 mn.
6. Laver à nouveau à l'eau.
7. Décoloration par l'alcool jusqu'à disparition de la couleur violette
8. Laver à l'eau.
9. Contre-colorer en déposant la solution de **fuchsine** (rose) pendant 1 minute.
10. Laver à l'eau.
11. Les lames doivent être parfaitement sèches.
12. Observer à l'objectif x 100, en immersion avec de l'huile à immersion.

B) La technique de coloration de bleu de méthylène

1. Réaliser un frottis à partir du prélèvement et le fixer
2. Le recouvrir de bleu de méthylène et laisser agir 3 min

3. Rincer à l'eau distillée
4. Les lames doivent être parfaitement sèches

Annexe III

A. Les milieux de culture

a) Le milieu Chapman

- **La composition**

Composition	gramme /Litre
Extrait de viande de bœuf	1,0
Peptone	10,0
Mannitol	10,0
Chlorure de sodium	75,0
Rouge de phénol	0,025
Agar	15,0
PH 7,5	

- **La préparation**

Verser 111 g de poudre dans un litre d'eau distillée. Porter à ébullition jusqu'à dissolution complète. Stériliser 15 minutes à 121°C à l'autoclave.

b) Le milieu Hektoen

- **La composition**

COMPOSITION	(grammes/litre)
Peptone pepsique de viande	12,0 g
Extrait autolytique de levure	3,0 g
Lactose	12,0 g
Saccharose	12,0 g
Salicine	2,0 g
Sels biliaires	9,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Thiosulfate de sodium	5,0 g
Citrate ferrique ammoniacal	1,5 g
Bleu de bromothymol	65 mg
Fuchsine acide	40 mg
Agar agar bactériologique	13,5 g
PH= 7,5	

- Laisser reposer pendant environ 15 min et porter à ébullition total ne pas autoclaver.

c) Gélose Nutritif (GN)

- **La composition**

COMPOSITION	(grammes/litre)
Extrait de viande	1g
Extrait de levure	2g
Peptones	5g
NaCl	5g
Agar	15
pH final = 7,4	

➤ Autoclaver à 121C° pendant 20 min

d) Bouillon Nutritive

- **La composition**

COMPOSITION	(grammes/litre)
Tryptone	10,0 g
Extrait de viande	5,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
pH du milieu 7,2	

➤ Autoclaver à 121C° pendant 15 min

e) Sabouraud

- **La composition**

COMPOSITION	grammes/litre
Peptone	10g
Glucose masse	20g
Agar-agar	15g
Eau distillée	1000 ml
pH=6	

Annexe IV

1. Préparation de la galerie API 20 E

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.

- Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation

a) Préparation de l'inoculum

- Préparer une suspension bactérienne dans 5 ml d'eau distillée avec des colonies sur milieu gélosé (Hekteon) d'une culture pure et jeune de 18 – 24 h

b) Inoculation de la galerie

- Remplir les tubules et les cupules des tests du type[CIT]

- Remplir les tubules des tests du type ADH et remplir la cupule avec de l'huile de paraffine, pour créer l'anaérobiose.
- Remplir uniquement les tubules des tests restants
- Incubé à 37 °C
- Lire après 18 – 24 h d'incubation

c) Résultats

- Réaliser les tests nécessitant l'addition de réactifs : Test VP, TDA, IND,
 - Test VP : ajouter une goutte des réactifs VP 1 et VP 2. Attendre au minimum 10 min. Une couleur rose ou rouge indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats. Une faible coloration rose apparaissant après 10 min doit être considérée négative.
 - Test TDA : ajouter une goutte de réactif TDA. Une couleur marron-rougeâtre indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.
 - Test IND : ajouter une goutte de réactif Kovacs. Une couleur rose diffusant dans toute la cupule indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.
- Noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées.

2. Protocole de réalisation de l'antibiogramme

a) Préparation de l'inoculum

- Toucher les sommets de 3 à 5 colonies de même aspect de la culture du germe à tester
- Les transférer dans 5 ml d'eau distillé stérile
- Homogénéiser manuellement
- Comparer la suspension ainsi obtenue à l'étalon de turbidité 0,5 McFarland
- Ajuster si nécessaire la densité de la suspension en y ajoutant soit des bactéries soit de l'eau distillé stérile

b) Ensemencement

- Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum ;
- Eliminer l'excès d'inoculum en pressant et en faisant rouler l'écouvillon contre les parois du tube ;
- Ensemencer en stries sur toute la surface du milieu à trois reprises en faisant tourner à chaque fois la boîte de 60° après chaque application ;
- Passer ensuite l'écouvillon sur le bord de la gélose ;
- Laisser sécher 5 minutes à la température du laboratoire, le couvercle étant fermé.
- Après séchage des boîtes, Application des disques d'antibiotiques: elle se fait à l'aide d'une pince. Certains disques sont déposés manuellement avec une pince stérile, utiles pour un rapprochement ou éloignement des disques, ou pour un choix positionnel comme l'emplacement des inhibiteurs.

c) Incubation

Mettre les boîtes à l'étuve à 37°C pendant 18h à 24h ;

d) Lecture et interprétation

- Mesurer en mm le diamètre d'inhibition de chaque disque d'antibiotique à l'aide d'un pied à coulisse.
- Ces mesures doivent être effectuées sur la face inférieure de la boîte,
- Comparer les diamètres obtenus aux diamètres critiques

Annexe V

Tableau 01. Les résultats de l'examen direct après coloration au bleu de méthylène et de Gram et la mise en culture sur les différents milieux (Chapman, Hektoene, Sabouraud)

	Milieu Chapman	Milieu Hektoene	Milieu Sabouraud	Coloration de gram		Coloration Bleu de Méthylène
				Bacilles	Coques	
P 01	+	+	+	Bacilles	Coques	-
P 02	+	+	-	Bacilles	Coques	-
P 03	-	-	+	-	-	-
P 04	+	+	-	Bacilles	Coques	-
P 05	+	+	+	Bacilles	Coques	Polynucléaire neutrophile
P 06	+	-	-	-	Coques	-
P 07	+	+	+	Bacilles	Coques	-
P 08	+	+	+	Bacilles	Coques	-
P 09	+	+	+	Bacilles	Coques	Polynucléaire neutrophile
P 10	+	-	-	-	Coques	-
P 11	+	+	-	Bacilles	Coques	Polynucléaire neutrophile
P 12	+	+	-	Bacilles	Coques	-
P 13	+	+	-	Bacilles	Coques	-
P 14	+	+	-	Bacilles	Coques	-
P 15	+	+	+	Bacilles	Coques	-
P 16	+	+	+	Bacilles	Coques	-
P 17	+	+	-	Bacilles	Coques	-
P 18	+	+	-	Bacilles	Coques	Polynucléaire neutrophile
P 19	+	+	+	Bacilles	Coques	-
P 20	+	+	+	Bacilles	Coques	-
P 21	+	+	-	Bacilles	Coques	-
P 22	+	+	+	Bacilles	Coques	Polynucléaire neutrophile
P 23	+	+	+	Bacilles	Coques	-
P 24	+	+	-	Bacilles	Coques	-
P 25	+	+	+	Bacilles	Coques	-
P 26	+	+	+	Bacilles	Coques	-
P 27	+	+	-	Bacilles	Coques	-
P 28	+	+	-	Bacilles	Coques	-
P 29	+	+	-	Bacilles	Coques	Polynucléaire neutrophile
P 30	+	+	-	Bacilles	Coques	-
P 31	+	+	-	Bacilles	Coques	-
P 32	+	-	-	-	Coques	-
P 33	+	+	-	Bacilles	Coques	Polynucléaire neutrophile
P 34	+	+	-	Bacilles	Coques	-

Tableau 2. Résultats de la mesure des diamètres d'inhibition des *Entérobactéries* aux antibiotiques testés sur milieu gélose.

	AMC3	CTX30	CFM5	GEN10	IPM10	NA30	C30	CIP5	OF5	AX10
P01	R	39	20	10	20	R	25	10	10	R
P02	R	39	25	24	22	25	20	35	30	R
P 04	R	30	37	20	35	R	R	15	14	R
P05	R	30	39	20	30	20	25	27	28	R
P07	R	35	32	26	22	30	30	30	30	R
P 08	R	32	25	10	32	R	20	26	20	R
P09	R	35	30	17	32	25	25	30	27	R
P11	R	36	32	16	34	25	30	39	37	R
P12	R	35	35	34	36	26	32	37	35	R
P 13	R	39	32	20	30	27	28	11	26	R
P14	R	22	20	20	34	25	28	10	30	R
P15	R	20	20	30	31	25	27	11	22	R
P16	R	22	21	22	30	23	25	13	22	R
P17	R	21	23	21	31	24	23	17	30	R
P18	R	24	30	24	32	22	26	30	37	R
P19	R	20	32	29	30	21	30	22	36	R
P20	R	19	22	30	34	26	28	34	34	R
P21	R	26	24	31	36	23	32	35	32	R
P22	R	37	30	25	22	24	33	36	31	R
P23	R	30	25	23	23	22	34	37	30	R
P24	R	25	22	22	25	23	25	15	14	R
P25	R	25	24	17	22	25	15	15	15	R
P26	R	23	30	20	25	26	15	15	14	R
P27	R	R	25	10	23	R	R	20	19	R
P28	R	25	24	17	25	23	34	35	30	R
P29	R	20	32	14	30	23	26	27	25	R
P30	R	R	30	17	30	R	R	13	10	R
P31	R	25	31	17	30	25	25	24	25	R
P33	R	22	29	17	24	24	16	15	25	R
P34	R	30	30	R	R	R	22	30	30	R

R : Résistance naturelle

Tableau 3. Résultats de la mesure des diamètres d'inhibition des *Staphylococcus spp* aux antibiotiques testés sur milieu gélose.

	CD	AT15	PT	E15	FC	FOX	VA	GEN	OF	S
P01	R	R	R	R	35	20	R	R	R	R
P02	R	20	R	R	35	20	R	R	R	20
P04	15	23	25	27	35	20	R	R	R	10
P05	20	21	22	25	35	23	R	R	R	15
P06	20	25	24	25	35	20	16	26	30	17
P07	20	23	25	23	35	23	R	20	23	15
P08	17	15	25	23	30	20	15	10	R	R
P09	20	R	24	R	30	20	15	R	R	16
P10	R	15	R	R	35	22	R	23	30	20

P11	20	24	24	27	33	20	14	20	30	15
P12	27	30	25	35	33	22	24	30	34	26
P13	R	20	R	R	35	20	R	29	36	20
P14	27	32	25	37	35	20	24	38	30	R
P15	30	36	30	35	35	20	23	35	27	R
P16	23	35	30	35	33	20	25	35	35	24
P17	R	20	R	R	30	20	R	23	25	24
P18	32	35	23	36	35	23	20	36	25	13
P19	26	25	26	30	R	20	20	20	20	R
P20	R	20	R	R	15	20	R	30	30	25
P21	30	32	30	31	35	20	24	30	30	30
P22	24	26	27	27	35	20	17	30	21	R
P23	26	25	25	26	20	30	17	31	25	16
P24	R	R	R	R	R	20	R	30	30	15
P25	20	20	38	20	R	20	15	26	25	15
P26	R	R	R	R	35	24	R	34	30	15
P27	R	R	30	R	30	20	15	22	30	15
P28	30	30	30	32	30	20	20	28	30	20
P29	25	25	27	R	35	20	20	25	34	20
P30	18	23	24	30	35	20	15	34	30	16
P31	25	25	25	20	35	20	20	25	20	R
P32	R	17	R	R	35	22	R	30	30	20
P33	R	R	R	R	33	20	R	34	30	20
P34	26	25	25	R	30	20	20	17	30	16

R : Résistance naturelle

Tableau 4. Résultats de la mesure des diamètres d'inhibition des souches de références (*E.coli*) aux antibiotiques testent sur milieu gélose.

	CTX	AMC	CIP	OF	C	AX	CFM	GEN	IPM	NA
<i>E.coli</i>	40mm	R	40mm	35mm	30mm	R	30mm	30mm	35mm	34mm

Tableau 5. Résultats de la mesure des diamètres d'inhibition des souches de références (*Staphylococcus aureus*) aux antibiotiques testent sur milieu gélose.

	PT	E	AT	CD	GEN	S	OF	VA	FC	FOX
<i>S.aureus</i>	25mm	30mm	25mm	25mm	18mm	15mm	35mm	17mm	30mm	20mm

R : Résistance naturelle

Tableau 6. Résultats des testes préliminaires et d'identification biochimique détaillé pour les isolats cocci Gram +

Patient	Catalase
P1	+
P2	+
P4	+
P5	+
P6	+
P7	+
P8	+
P9	+
P10	+
P11	+
P12	+
P13	+
P14	+
P15	+
P16	+
P17	+
P18	+
P19	+
P20	+
P21	+
P22	+
P23	+
P24	+
P25	+
P26	+
P27	+
P28	+
P29	+
P30	+
P31	+
P32	+
P33	+
P34	+

Fiche de renseignements pour prélèvement du pied diabétique

Identification du patient :

Nom : _____ Prénom : _____ Age : _____

Sexe : Masculin Féminin :

Exam clinique :

Type de diabète : Type 01 Type 02 Secondaire

Mode de découverte de la plaie : a. Traumatisme minime

b. Chaleur

c. Mycose

d. Intertrigo

e. Frottement

f. Œdème

Durée de la plaie avant la consultation :

La 1^{er} geste fait devant la plaie : a. Automédication

b. Traitement traditionnel

c. Venir au centre de santé

Traitement antidiabétique suivi : a. Aucun

b. ADO

c. Insuline

d. Régime

Durée d'évolution du diabète :

Siege de la plaie : a. Face antérieure de pied

b. Face postérieure du pied

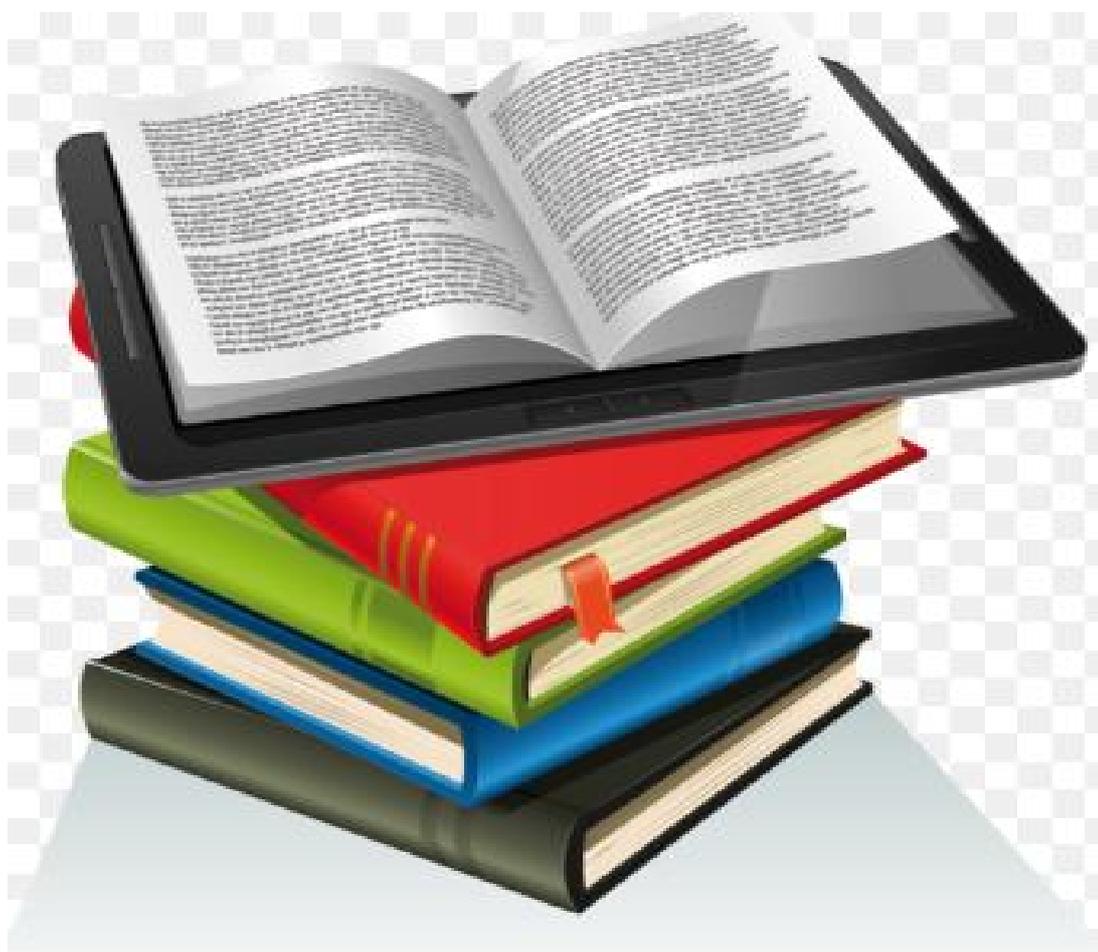
c. Bord interne

d. Bord externe

e. Orteils

f. Plaie multiple

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES



-A-

- **Abbott C. A., Carrington A. L., Ashe H., Bath S., Every L. C. & Griffiths, J. 2002.** The North-West Diabetes Foot Care Study: Incidence of, and risk factors for, new diabetic foot ulceration in a community-based patient cohort. *Diabetes Medicine*, 19, 377-384.
- **Adil Z., Mohamed T., Abdellatif B., Tarik L., Mustapha B., Mostafa E. & Cherqui H. 2015.** The Pan African Medical Journal. Profil bactériologique du pied diabétique et son impact sur le choix des antibiotiques, pp7.
- **Amoussou-Guenon K.D., Zannon D.MX., ADE G., Djrolo F., Avimadje M., Bigot A., Koffi-Tessio A. & HOUNGBE F. 2006.** Morbidité du pied diabétique en Médecine interne du CNHU HKM de Cotonou. Mali Medical.
- **Attali J.R. 2005.** Neuropathie diabétique. Traité de diabétologie coordonné par A.Grimaldi. Paris : Flammarion Médecine-Science, p 593-603 .

-B-

- **Bowler P., Duerden B & Armstrong D. 2001.** Wound microbiology and associated approaches to wound management. *Clin Microbiol Rev*, 14: 244–69.s.

-D-

- **Darellay P., Uçkay I. & Dominguez D. 2011.** Traitement du pied diabétique infecté : Une approche multidisciplinaire par excellence. *Revue médicale suisse* ; 7 : 894-7.
- **Drabo Y.J., Kabore J. & Lengani A. 1996.** Complication du diabète sucré au centre hospitalier de l'Ouagadougou. *Bull. Soc Pathol Exot*, 89, 191-195.
- **Drouin P., BLICKLE J.F., CHARBONNEL B. & ESCHWEGE E. 1999.** Diagnostic et classification du diabète sucré. Les nouveaux critères. Vol 25, n°1, 73-74.

-G-

- **Geneviève I. 2008.** Vers une étude épidémiologique du diabète de type 2 et de ses complications. *Santé publique*, volume 20, n° 2, pp 113-124.
- **Grimaldi A.** guide pratique du diabète : Complications aiguës du diabète. Paris ; 1999- 2000 : 69 - 92.
- **Grimaldi A.** Guide pratique du diabète. 2^e éditions. Paris: MIMI, 2001: 15-24.

-H-

- **Hammami M., Lahiani D., Guemri B., Maalej M., Elleuch E., Hammami B. & Ben Jemaa M. 2014.** Les infections du pied diabétiques. service des maladies infectieuses, CHU Hédi Chaker, Sfax 3029, Tunisie.

- **Harris M. & Zimmet P. 1997.** Classification of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. International Textbook of Diabetes Mellitus. Second Edition. Chichester: John Wiley and Sons Ltd; p9-23.

-J-

- **Jean-Philippe L., Jean-Louis R. & Albert S.2011.** Nouvelles avancées dans les infections des plaies du pied chez le patient diabétique. REVUE FRANCOPHONE DES LABORATOIRES, N°434,p58
- **Jeffcoate W. & Rayman, G.2011.** New guidelines for the diabetic foot: let's make it a giant leap forward. *Diabetic Foot Journal*, 14(3), 111.

-K-

- **KLEIN M.2009.** Relations entre le diabète sucré de type 2 et l'amyloïdose chez le .Thèse d'état en vitrine .Univ de Toulouse, France.17-88.

-L-

- **Lavery LA., Armstrong DG. & Murdoch DP. 2007.**Validation of the infectious diseases society of America's diabetic foot classification system. Clin Infect Dis;44:562-5.
- **Lipsky BA. 2004.** A report from the international consensus on diagnosing and treating the infected diabetic foot. Diabetes Metab Res Rev 2004;20:S68-77.
- **Lipsky BA., Berendt AR., Deery HG., Embil JM., Joseph WS. & Karchmer AW. 2004.** Diagnosis and treatment of diabetic foot infections. Clin Infect Dis ;39: 885–910.
- **Lushikue B. 2006.**Le pied diabétique. *Revue médicale de Bruxelles*; 27 : S315-23.

-M-

- **Magalon G. & Vanwijck R. 2003.**Guide des plaies : Du pansement à la chirurgie.
- **Malgrange.2008.** Physiopathologie du pied diabétique. Service de Médecine interne, CHU Reims. La revue de médecine interne 29, S231-S237.
- **Maurice B. 2003.**Pathologie ostéo-articulaire du pied et de la cheville. 3^{ème} édition.
- **Mendes J., Neves J.2012.**Diabetic foot infections : Current Diagnostic and treatment .The Journal of Diabetic foot complication, Volume 4 N°1, p29.
- **Monabeka H.G., Nsakala-kibango K .2001.**Aspects épidémiologiques et clinique du pied diabétique au CHU de Brazza villa bull socpathol exot, 2001, 94, 3,246-248.
- **Monnier L, Colette C, Mas E. 2010.** Regulation of oxidative stress by glycemic control : evidence for an independent inhibitory effect of insulin therapy. Diabetologia ; 53 : 562–71.

-O-

- **O'Meara S., Nelson EA., Golder S. & Dalton JE.2006.**Systematic review of methods to diagnose infection in foot ulcers in diabetes. *Diabet Med.* Apr; 23(4):341-7.

-P-

- **Peacock E. & Van Winkle W.1976.** *Surgery and biology of wound repair.* (2e édition) Philadelphia, PA : W. B. Saunders.
- **Peters, E. J., Lipsky B. A., Berendt A. R., Embil J. M., Lavery L. A. & Senneville, E.2012.** A systematic review of the effectiveness of interventions in the management of infection in the diabetic foot. *Diabetes/Metabolism Research Reviews*, 28(Suppl 1), 142-162.
- **Purohit S.K. & Solanki R.2013.** Microorganisms Responsible for Wound Infection on Human Skin. *Asian Pharma Press*, Vol. 3:n° 2, Pg 68-71.

-R-

- **Roxane D. & Jean-Jacque A.2014.**Le pied diabétique , mécanisme physiopathologique et épidémiologique. *SOiNS Hors Série N°1*,p4.

-S-

- **Senneville E.** Infection et pied diabétique. *Rev Med Interne.*2008 Sep; 29(Suppl2):S243-8.)
- **Sibbald R. G., Goodman L., Woo K. Y., Krasner D. L., Smart H. & Tariq G.2011.** Special considerations in wound bed preparation 2011: An update. *Advances in Skin & Wound Care*, 24(9), 415-436.
- **Sotto A., Lemaire X., Jourdan N., Bouziges N., Richard J-P.2008.**Activité in vitro de l'Ertapinème vis-à-vis de souches bactériennes isolées de plaie infectées du pied chez des patients diabétiques .*Médecine et maladies infectieuses* n°146-152
- **Spinas G. A. & Lehmann R.** 2001. Diabète sucré: Diagnostic, classification et pathogenèse. *Forum Med Suisse* N° 20, p 519.
- **Stefano B., Rein J. & Peter I.** 2013.Infections de la peau et des tissus mous: cellulite, érysipèle et fasciite nécrosante. *Forum Med Suisse*;13(35):672–677.

-T-

- **Tchakonté B., Ndib A., Aubry P., Malvy D., et Mbanya J.C.** 2005.Le pied diabétique au Cameroun. *Bull Soc Pathol Exot* ; 98 ; 2,94-98.
- **Tentolouris N., Jude EB., Smirnof I., Knowles EA. & Boulton AJ.** 1999. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: an increasing problem in a diabetic foot clinic. *Diabet Med*;16:767–71.
- **Toumi A., Bernard M. et Chakroum M.**2011.Antibiothérapie des infections du pied diabétique. *Revue Tunisienne d'infectiologie.* n° :61-67.

