



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية العلوم الطبيعية و الحياة

Département : Microbiologie

قسم : الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : *Ecologie Microbienne*

---

## Thème

### La flore bactérienne (Entérobactéries) du pied diabétique infecté.

---

Présenté et soutenu par : Berrahma Racha

Le : 13/06/2016

Mouellef Amel

Derici Selma

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mr Hanniche .S (M.A.A -UFM Constantine)

Rapporteuse : Mme Benkahoul .M (M.A.A-UFM Constantine)

Examinatrice : Melle Meriane. I (M.C.B-UFM Constantine)

Co-encadreur : Mme Ouchnane. (Prof -HMRU Constantine)

*Année universitaire*  
2015 - 2016

## *Dédi caces*

A ma chère mère Merieme,

Pour ses sacrifices, sa tendresse et sa patience illimitée, que ce travail soit le témoignage de mon grand amour et qu'il fasse l'objet de ta fierté.

A mon cher père Mhomed à qui je dois tout,

Qui a cru en moi et m'a soutenue par ses précieux conseils,

Puisse Dieu te garder et te permettre de jouir du produit de tes efforts.

A mon cher mari Adlène,

Pour tout l'amour et le soutien que tu m'as offert.

A mes sœurs,

A tout mes amis,

Pour tous les instants inoubliables que j'ai passés avec vous. Je vous souhaite le succès dans vos vies.

A tous ceux que j'aime et qui m'aiment.

Je dédie ce travail espérant avoir répondu à leurs souhaits de me voir réussir

*Selma*

## *Dédi caces*

A Mon cher papa (Abdel Baki)

Permettez-moi de vous exprimer mon grand amour  
Mon attachement et ma plus haute considération pour  
Votre personne. Je suis très fière d'être votre fille et de pouvoir enfin réaliser,  
ce que vous avez tant espéré et attendu de moi.

Vous n'avez jamais cessé de déployer tous vos efforts afin de subvenir à nos  
besoins, nous encourager et nous aider à choisir le chemin de la Réussite.

A Ma Chère Maman (Ratiba)

Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de  
tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de  
prier pour moi. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants  
suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études.

Je vous dédie ce travail en témoignage de mon respect et de ma gratitude  
pour votre soutien constant et sans limite. Puisse Dieu, le tout puissant, vous  
comblent de santé, de bonheur et vous procurer longue vie.

A mes frères (Mehdi, Ramzi et maroune), et ma sœur (Fayrouze)

*En témoignage de l'attachement, de l'amour et de*

*L'affection que je porte pour vous.*

*Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, santé et de réussite .*

*Je vous aime de tout mon cœur.*

A toute ma famille ainsi qu'à mes amis.

Amel.

## *Dédi caces*

*Je dédie ce mémoire*

*À mes chers parents (Ali, Akila)*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.*

*À mes*

*Chères adorables sœurs (Ilhem, Hannen, Maya, Issmahane, Aya) et à mon frère que j'adore (Lamine).*

*À ma grande mère*

*Qui m'a accompagné par ses prières, puisse Dieu lui prêter longue vie et beaucoup de santé*

*Enfin*

*Je remercie tous mes Ami(e)s que j'aime tant  
« Abdelouahab, Fatima, Imene, Rachel, Lina  
Amel, Feriel, Rayene, Oussama, Houssem, Issam »  
Pour leur sincère amitié et confiance, et à qui je dois ma reconnaissance et mon attachement.*

*Ainsi que toute la famille cousins, cousines oncles, tantes  
À tous ces intervenants, je présente mes remerciements, mon respect et ma gratitude*

Racha

## REMERCIEMENTS

*Ce mémoire peut être l'occasion d'exprimer une gratitude sincère envers les personnes qui ont apporté une aide, une écoute ou simplement une chaleur gratuite et généreuse.*

*Suite à l'aboutissement de ce travail, nous tenons d'abord à remercier*

*ALLAH qui nous a donné vigueur et opiniâtreté  
Notre encadreur M. Benkahoul et co-encadreur  
Prof. Ouchnane et Dr Ghitarie pour la confiance qu'ils nous a accordé, leurs encouragements, et leurs précieux  
Conseils.*

*Tout notre respect et nos remerciements vont vers les membres du jury qui vont pleinement consacrer leurs temps et leur attentions afin d'évaluer notre travail, qui espérons le sera à la hauteur de leurs attentes*

*« Ms S. Hanniche qui nous faites l'honneur d'avoir accepté de présider le jury et  
Mme Meriane d'être l'examineur de ce mémoire »*

*Merci.*

# Sommaire

- Liste des figures
- Liste des tableaux
- Liste des Abréviations

## Partie 1 : Théorique

### INTRODUCTION

#### Chapitre 1 : Le pied diabète

1. Le Diabète.....	1
1.2. Classification étiologique des diabètes sucrés .....	1
2.1 Le diabète de type 1.....	2
2.2 Le diabète de type 2 .....	3
1.3. Facteurs de risque du diabète .....	4
1.4 Epidémiologie et complication du diabète .....	5
2. Le pied diabétique	
2.1 Définition .....	6
2.2 L'anatomie du pied diabétique .....	7
2.3 Physiopathologie du pied diabétique .....	8
2. 3.1 La Neuropathie .....	9
2.3.2 L'artériopathie .....	10

#### Chapitre 2 : La microbiologie du pied diabétique infecté

1. Infection du pied diabétique	
1.1 Définition .....	11
1.2 L'infection du pied diabétique .....	11
1.2.1 Dans la plaie neuropathique.....	11
1.2.2 Dans la plaie ischémique ou neuro-ischémique.....	11

1.3 Aspects cliniques.....	12
1-4-Classification des infections .....	13
1.4.1 Classification des plaies.....	13
1.4.2 Classification d'infection .....	14
1.5 Aspects bactériologiques .....	17
1.6 Les Entérobactéries	
1.6.1 Définition.....	19
1.6.2 Caractères morphologique .....	19
1.6.3 Caractères biochimique.....	19
1.6.4 Caractères cultureux.....	20
1.6.5 Caractères antigénique .....	20
1.6.6 Etude des principaux genres.....	21
1.6.6.1 <i>Escherichia</i> .....	21
1.6.6.2 <i>Klebsiella</i> .....	21
1.6.6.3 <i>Proteus-Providencia</i> .....	21
1.6.7 Résistances aux antibiotiques.....	21
1.6.7 Bêta-lactamases à spectre élargi (BLASE).....	21
1.7 Antibiothérapie .....	22
1.7.1 Choix de l'antibiothérapie probabiliste.....	22
1.7.2 Voie d'administration.....	22
1.7.3 Critères d'hospitalisation.....	23
1.7.4. Durée du traitement.....	24

## Partie 2: Pratique

### Matériels et méthodes

1. Matériels .....	27
2. Méthodes .....	27
2.1 Le prélèvement et le transport .....	27
2.2 Prélèvement de pus .....	27
3. Examens .....	28
3.1 Examen direct .....	28
3.2 Mise en culture .....	28
3.3 Identification .....	29
3.4 Antibiogramme .....	39
4. Résultats .....	41
5. Discussion .....	60
6. Conclusion .....	63

### Références bibliographiques

### Annexe

### Résumé

## Liste des figures :

- Figure 1 : Signes et symptômes du diabète
- Figure 2 : les facteurs de risque du diabète de type2
- Figure 3: La différence entre un pied diabétique et un pied sain.
- Figure 4 : L'anatomie du pied diabétique.
- Figure 5.a: Neuropathie périphérique du Pied diabétique.
- Figure 5 b : Le Pied de Charcot chez le Diabétique
- Figure 6 : une Gangrène du pied artériel.
- Figure 7: Sondage de la plaie par un stylet boutonné métallique stérile.
- Figure 8 : pas de signe d'infection grade 1.
- Figure 9 : infection de grade 2.
- Figure 10: infection de grade 3.
- Figure 11: infection de grade 4.
- Figure 12 : A : prélèvement par écouvillonnage, B : aspiration à l'aiguille.
- Figure N°13: Schématisation de prélèvement superficiel à visée bactériologique ou histologique
- Figure14 : souche productrice de bêta –lactamase a spectre élargi (image de bouchon de champagne).
- Figure 15 : Pourcentage des prélèvements positifs.
- Figure 16 :pourcentage d'enterobacteries.
- Figure 17:Pourcentage d'infection.
- Figure 18 :Fréquences des genres d'entérobacteries.
- Figure 19: Fréquences des espèces d'entérobactéries.
- Figure 20 : Fréquences des infections mixtes.
- Figure 21: Profil antibiotique d'Entérobacteries.
- Figure 22 : Profil antibiotiques de *Proteus mirabilis* .
- Figure 23 : Profil antibiotiques de *Morganella morganii* .

Figure 24: Profil antibiotique de *Klebsiella pneumoniae*.

Figure 25: Profil antibiotiques de *Klebsiella oxytoca*.

Figure 26 : Profil antibiotiques d'*Escherichia coli* .

Figure 27 : Profil antibiotique de *Proteus vulgaris*.

Figure 28 : Souche d'Entérobactéries BLSE.

Figure 29 : répartition des patients infectés selon l'âge.

Figure 30 : Répartition des patients infectés selon le sexe.

Figure 31: cas de récives.

Figure 32: cas d'amputation.

### **Liste des tableaux :**

Tableau N°1 : les symptômes d'infections superficielles et profondes

Tableau N°2: Classification des plaies du pied diabétique établie par l'université du Texas.

Tableau N°3: Classification de l'infection des plaies du pied d'après le consensus international sur le pied diabétique.

Tableau N°4: facteurs suggérant la nécessité l'hospitalisation.

Tableau N°5 : Antibiothérapie de première intention dans les infections du pied diabétique.

Tableau N°6 : caractères différentiels entre les entérobactéries.

Tableau N°7: tests urée indole.

Tableau 8: lecture de la galerie API 20<sup>E</sup>.

### Liste des abréviations :

- PDI : Pied diabétique infecté.
- OMS : L'Organisation mondiale de la santé.
- DID : *Diabète insulino-dépendant*.
- DNID : Non insulino dépendant .
- PD: Pied diabétique.
- BMR : Les Bactéries multi-résistantes.
- BLSE : Bêta-lactamases à spectre élargi.
- SARM : *S. aureus* résistant à la méticilline.
- VRE : Entérocoques résistants à la vancomycine.
- GISA : staphylocoques de sensibilité diminuée aux glycopeptides.
- BGN : Bacille gram négative.
- AMP : ampicilline.
- AMC :amoxicilline + acide clavulanique
- TIC :ticarcilline.
- CZ : cefazoline .
- CTX : cefotaxime.
- GN : gentamicine.
- CIP :ciprofloxacine .
- FOS :fosfomycine.
- CHL : chloromphenicol.
- AK :amikacine.

# Partie 1 : Synthèse bibliographique

## 1. Diabète

Le diabète est une maladie chronique qui survient lorsque le pancréas ne produit pas assez d'insuline ou lorsque l'organisme n'est pas capable d'utiliser efficacement l'insuline qu'il produit. Cela se traduit par un taux de sucre dans le sang élevé : on parle d'hyperglycémie. (6).

### 1. Classification étiologique des diabètes sucrés

L'Organisation mondiale de la santé (OMS) propose une classification étiologique du diabète qui comporte deux catégories : diabète de type 1 et diabète de type 2 (6).

#### 2.1 Le diabète de type 1

Le diabète de type 1 est un *diabète insulino-dépendant*(DID) caractérisé par une production insuffisante d'insuline. La cause de ce type de diabète n'est pas connue.

#### 2.2 Le diabète de type 2

Le diabète de type 2 autrefois appelé *non insulino dépendant* (DNID), résulte d'une mauvaise utilisation de l'insuline par l'organisme. Il représente 90% des diabètes rencontrés dans le monde.

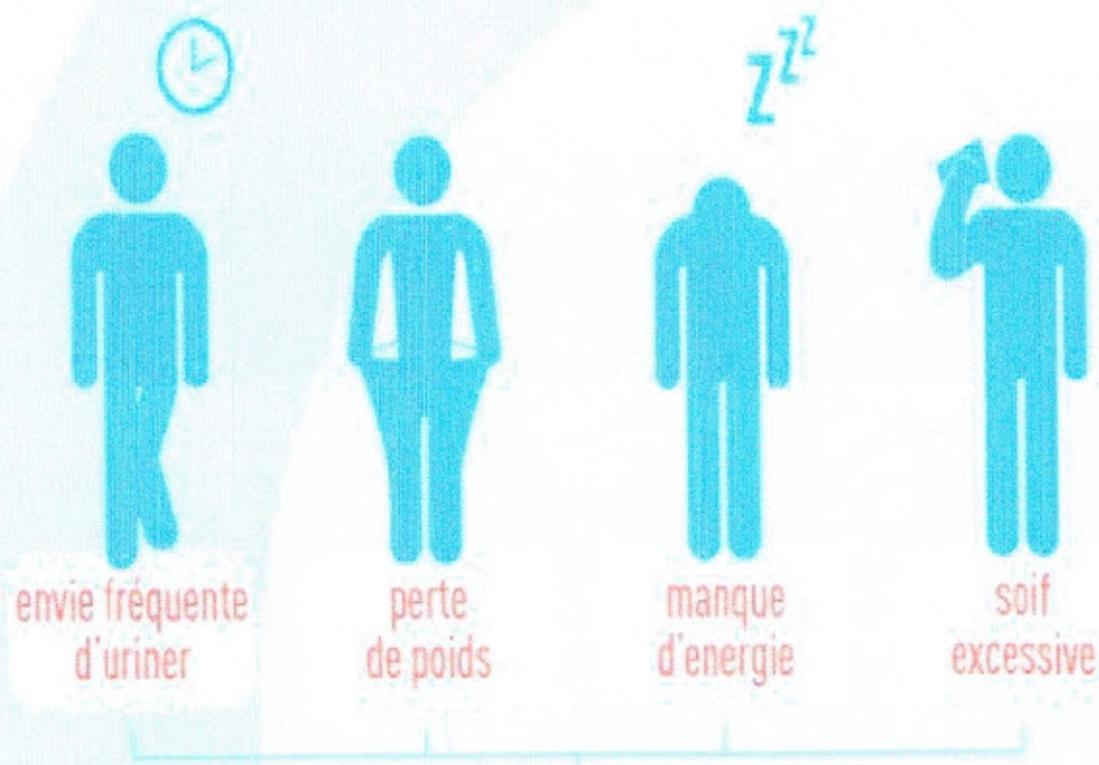
Les personnes atteintes de diabète peuvent développer différents signes et symptômes. Parfois, la maladie est asymptomatique. Les signes fréquents sont notamment les suivants :

- urines abondantes
- soif excessive
- faim accrue
- perte de poids
- fatigue
- manque d'intérêt et de concentration
- sensation de fourmillement ou d'engourdissement dans les mains ou les pieds
- infections fréquentes
- cicatrisation lente des plaies

Le diabète de type 1 apparaît généralement de manière soudaine et spectaculaire, alors que les symptômes sont souvent légers ou absents chez les personnes atteintes de diabète de type 2, ce qui rend ce dernier difficile à dépister. (figure 1)

# DIABÈTE

## SIGNES ET SYMPTÔMES



Si vous présentez ces signes,  
consultez un médecin

Ces signes peuvent être légers ou absents pour le diabète de type 2

Figure N°1 : Signes et symptômes du diabète.

## و أبحاثه

Des recherches sont encore en cours afin d'établir les facteurs de risque du **diabète de type 1**. Toutefois, la présence d'une personne atteinte de diabète de type 1 dans la famille augmente le risque d'apparition de la maladie. Des facteurs environnementaux et l'exposition à certaines infections virales ont également été liés au risque de développement du diabète de type 1.

Divers facteurs de risque ont été associés au **diabète de type 2**, entre autres

- les antécédents familiaux de diabète ;
- le surpoids ;
- l'alimentation peu saine ;
- l'inactivité physique ;
- l'âge avancé ;
- la tension artérielle élevée ;
- l'ethnie (figure 2)



Figure N°2 : les facteurs de risque du diabète de type2

### 1.4 Epidémiologie et complication du diabète

Le diabète est une maladie très fréquente. Du point de vue épidémiologique, le nombre de diabétiques à travers le monde augmente excessivement ces dernières années. On estime qu'il va passer de 250 millions en 2015 à 380 millions en 2025. (7).

Cette maladie considérée grave a cause des complications qu'elle peut causée entre autre :cardio-vasculaires, rénales, oculaires et ischémie avec gangrène des membres inférieurs conduisant à l'amputation. (8).

Ces complications existent parfois lors de la première consultation du diabétologue.

Le diabète fait partie de la longue liste des différentes affections susceptibles d'entraîner une altération des défenses anti infectieuses. Cela est surtout vérifié pour les infections bactériennes (8). Les plus fréquemment rencontrés sont :

- Les infections urinaires
- Les infections pulmonaires
- Les infections cutanées
- Les infections du pied

### INTRODUCTION

Le diabète sucré est une maladie dont la prévalence croît sans cesse dans le monde (1).

Cette maladie est un véritable problème de santé publique, la gravité du diabète tient à la survenue des complications évolutives aiguës et chroniques notamment dégénératives.

Le pied diabétique infecté (PDI) est un ensemble des manifestations trophiques du pied survenant chez le diabétique par atteinte nerveuse, artérielle et infectieuse (3).

La progression de l'infection est habituellement aggravée par le retard de diagnostic, la sous-estimation de l'ampleur de l'infection et aussi l'antibiothérapie inadéquate (4).

Le pied diabétique infecté constitue un problème majeur sur le plan médical que social et économique, de part sa fréquence et sa gravité, dominées par un taux d'amputations des membres inférieurs encore très élevé essentiellement dans les pays en voie de développement (5). En effet, une amputation du membre inférieur est réalisée toutes les 30 secondes chez un patient diabétique dans le monde, ce qui donne environ 1 million d'amputés diabétiques par an (5).

Notre étude a pour but de rechercher les principales bactéries isolées (entérobactéries) de l'infection de pied chez des patients diabétiques algériens et leur sensibilité vis-à-vis des antibiotiques afin de prescrire une antibiothérapie ciblée avec l'espoir de réduire le risque d'amputation ; pour atteindre cet objectif une démarche scientifique a été adoptée elle concerne :

- Echantillonnage
- Examen directe et mise en culture
- Identification et antibiothérapie

## 2. Le pied diabétique

### 2.1 Définition

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 vasculaire et locomoteur. Le retard dans la cicatrisation des plaies expose le pied diabétique à l'infection, augmente ainsi le risque d'amputation (9). La figure 1 : illustre la différence qui existe entre un pied diabétique et un pied sain.

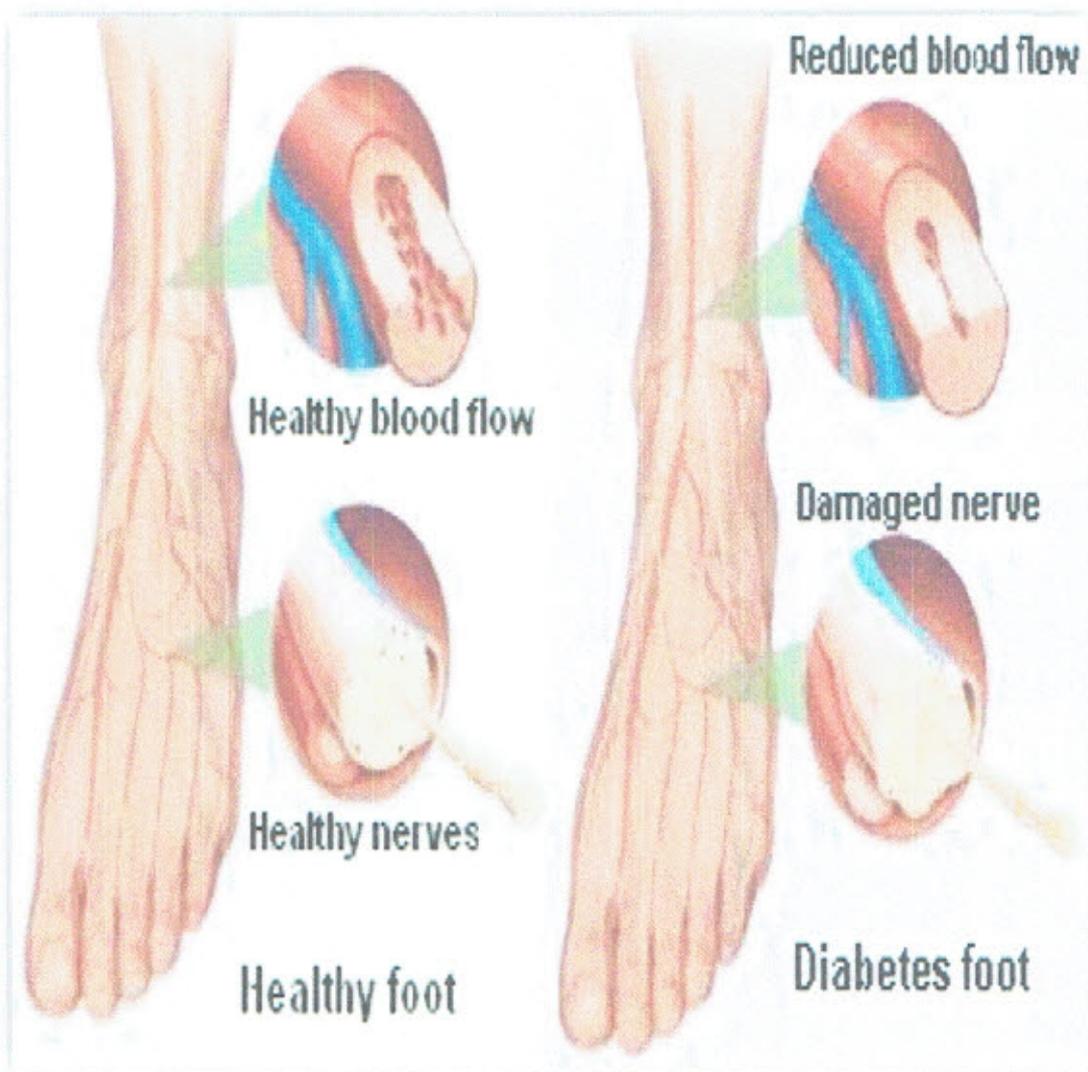


Figure 3 : La différence entre un pied diabétique et un pied sain.

## 2.2 L'anatomie du pied diabétique

Le pied est une partie complexe du corps humain qui comprend 28 os, 30 muscles, 21 articulations et 107 ligaments qui agissent en synergie pour produire les différents mouvements des pieds et procurer la stabilité nécessaire aux différents stress subis quotidiennement. Pour le bon fonctionnement de toutes ces structures, les pieds sont desservis d'un réseau d'artères, de veines et de vaisseaux lymphatiques qui assurent un bon apport sanguin (figure 2). Le fonctionnement mécanique des pieds et l'état de leurs composantes dermatologiques, neurologiques, musculaires, articulaires et osseuses peuvent être évalués cliniquement, par des examens d'imagerie et des tests de laboratoire. C'est là où réside toute l'expertise de la podiatrie. Les pathologies des pieds sont parmi les problèmes de santé les plus répandus et les plus négligés. Quoique certains de ces problèmes puissent être congénitaux, héréditaires ou résultants des manifestations de maladies du système, plusieurs sont locaux et sont causés par la négligence et le port de chaussures inadéquates (10).



Figure 4 : L'anatomie du pied diabétique.

## 2.3 Physiopathologie

Les lésions du pied diabétiques sont la conséquence de plusieurs mécanismes physiopathologiques, qu'il est essentiel de connaître afin d'en prévenir l'apparition et d'en assurer une prise en charge précoce. La prévention et la prise en charge précoce et adaptée sont les seuls moyens d'éviter le risque d'amputation. Les principaux mécanismes à l'origine des lésions tiennent à deux complications du diabète, la neuropathie périphérique et l'artériopathie, qui peuvent être associées à des degrés divers, l'infection qui peut survenir sur ce terrain en présence d'une plaie, est un facteur de gravité. D'autres mécanismes contributifs sont impliqués : le pied en tant qu'organe cible et le terrain notamment sur le plan psychosocial (11).

### 2.3.1 La neuropathie

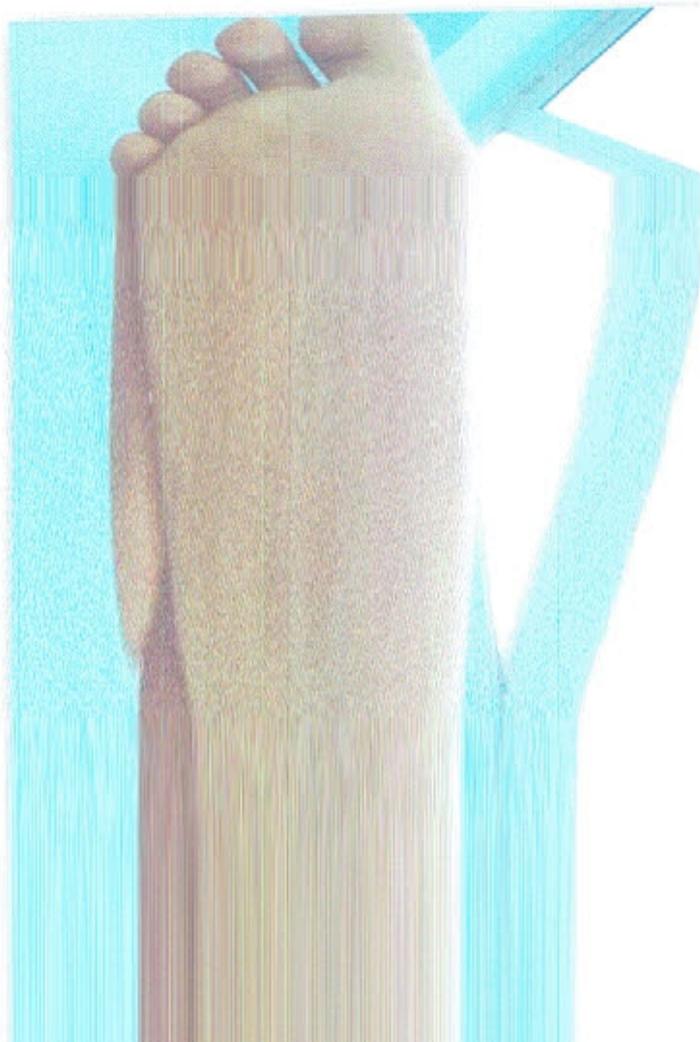
La neuropathie périphérique caractérise l'atteinte du système nerveux périphérique. Elle prédomine au niveau des membres inférieurs en raison de la plus grande fragilité des fibres longues sensibles peu myélinisées. La polynévrite diabétique est une des formes cliniques les plus fréquentes et doit systématiquement être recherchée car elle joue un rôle majeur dans l'apparition des lésions des pieds (figure 3a) (12).

L'atteinte des nerfs peut donner une déformation du pied souvent sévères (traitement chirurgical parfois nécessaire), des ulcères (plaies) au pied très durs à soigner et des troubles de la sensibilité (douleurs très intenses ou au contraire perte totale de la sensibilité). Cette déformation est appelée le pied de Charcot. Si le patient ne perçoit plus la douleur au niveau du pied, il peut se blesser sans s'en rendre compte. La blessure peut ainsi s'infecter, et les conséquences peuvent être, à long terme, très graves, allant jusqu'à l'amputation du pied dans certains cas (figure 3b) (13).





Figure 5. a: Neuropathie périphérique du Pied diabétique



### 2.3.2 L'artériopathie

L'artérite diabétique relève, comme chez le non diabétique de la combinaison de lésions athéro et artérioscléreuses.

Elle est diffuse, distale et prédomine sur les axes des jambes. Elle peut s'associer à des lésions proximales. Les sténoses de la fémorale profonde et de ses branches de division constituent un facteur de gravité supplémentaire de l'artérite diabétique en raison de l'impossibilité de suppléance.

L'atteinte artériolaire du pied jouerait un rôle beaucoup moins important chez les diabétiques. Ce qui expliquerait que les chances de succès des gestes de revascularisation soient plus grandes chez les diabétiques que chez les non diabétiques (14).

L'ischémie en aval des lésions artéritiques aggrave considérablement le pronostic des troubles trophiques du pied (figure4).



Figure 6 : une Gangrène du pied artériel.



L'infection est définie par une invasion tissulaire avec multiplication de micro-organismes entraînant des dégâts tissulaires avec ou sans réponse inflammatoire de l'organisme. Dans le cas du pied diabétique, cette infection est en règle secondaire à une plaie cutanée. **Le diagnostic est clinique** et non microbiologique puisque la plaie est obligatoirement colonisée par la flore commensale du patient ou par des espèces bactériennes provenant de l'environnement ou des flores endogènes du patient: la présence de bactéries sur une plaie ne signifie donc pas qu'elle soit infectée (15).

15 à 25 % des diabétiques auront une ulcération du pied et 40 à 80 % des ulcérations du pied diabétique s'infecteront. Cette infection du pied diabétique a un rôle majeur dans 2/3 des amputations (16,17).

Le diabète mal équilibré est un terrain propice à l'infection et à son extension inversement, l'infection est une cause importante de déséquilibre du diabète (18).

## 1 .L'infection du pied diabétique

### 1.1. Dans la plaie neuropathique

L'infection du pied diabétique est généralement la conséquence de la survenue d'une plaie sur un pied le plus souvent insensible en raison de la neuropathie. Cette absence de symptôme douloureux entraîne un retard diagnostique et de prise en charge de cette plaie, trop longtemps négligée par le patient. L'origine de cette plaie est dans 9 fois /10 un microtraumatisme externe,( chaussure inadaptées, chirurgie de salle de bain, brûlure, etc) (19).

**1.2. Dans la plaie ischémique ou neuro ischémique**

Dans les plaies chroniques, l'artériopathie est associée à la neuropathie dans la moitié des cas.

Ces plaies s'infectent plus facilement en raison de mauvaise perfusion distale du pied.

D'autres facteurs interviennent aussi dans ce risque infectieux, tel que :

- Le déficit des mécanismes cellulaires de défense, induit par hyperglycémie chronique, peut altérer les fonctions des leucocytes polynucléaires ;
- L'hypoxie locale due à la mauvaise perfusion, diminue l'antibiothérapie des leucocytes et favorise les infections anaérobies ;
- L'anatomie particulière des pieds cloisonnés en plusieurs loges expliquerait la diffusion rapide de l'infection (20).

**1.3 Aspects cliniques**

Les signes habituels de l'infection peuvent être atténués chez le diabétique notamment en cas de neuropathie.

Toute plaie du pied chez un diabétique doit être explorée avec un stylet boutonné à la recherche d'un contact osseux. La recherche d'un contact osseux est très spécifique de la présence d'une ostéite (21,22).

L'infection peut être superficielle ou profonde :

L'infection superficielle : infection de la peau sans extension à une quelconque des structures au-delà du derme.

L'infection profonde : infection qui s'étend au-delà du derme, comme en témoigne la présence d'un abcès, d'une arthrite septique, d'une ostéite, d'une ténosynovite septique ou d'une fasciite nécrosante.

Suite aux données existant sur le tableau 1 nous confirmer les différents symptômes des 2 types d'infection.

Les symptômes d'infection superficielle	Les symptômes d'infection profonde
<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> Absence de guérison</li> <li><input type="checkbox"/> Abondance de tissu de granulation friable</li> <li><input type="checkbox"/> Coloration rouge vif du tissu de granulation</li> <li><input type="checkbox"/> Exsudation accrue</li> <li><input type="checkbox"/> Mauvaise odeur</li> <li><input type="checkbox"/> Nouveau tissu fibreux au fond de la plaie</li> </ul> 	<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> Douleur</li> <li><input type="checkbox"/> Plaie pénétrante jusqu'à l'os (risque accru en présence d'une ostéomyélite)</li> <li><input type="checkbox"/> Nouvelles zones de dommages</li> <li><input type="checkbox"/> Chaleur</li> <li><input type="checkbox"/> Érythème, œdème</li> </ul> 

Tableau 1 : les symptômes d'infections superficielles et profondes.

Les signes d'une infection locale ou profonde indiquent un danger potentiel pour le membre ou pour la vie du patient. Ces signes et symptômes cliniques nécessitent une attention médicale urgente (23).

## 1.4 Classification de l'infection

### 1.4.1 Classification des plaies

L'infection étant en règle générale secondaire à une plaie du pied, L'objectif d'une classification des plaies du pied diabétique (tableau 2) est de :

- documenter et grader la sévérité de la plaie
- évaluer le pronostic (délai de cicatrisation, risque d'amputation, etc.)
- permettre une prise en charge standardisée et adaptée à chaque type de plaie.

	Grade 0 Lésion épithélialisée	Grade 1 Plaie superficielle	Grade 2 Atteinte du tendon ou de la capsule	Grade 3 Atteinte de l'os ou de l'articulation
Stade A Pas d'infection Pas d'ischémie	0A (0 %)	1A (0 %)	2A (0 %)	3A (0 %)
Stade B Infection Pas d'ischémie	0B (12.5 %)	1B (8.5 %)	2B (28.6 %)	3B (92 %)
Stade C Pas d'infection Ischémie	0C (25 %)	1C (20 %)	2C (25 %)	3C (100 %)
Stade D Infection et ischémie	0D (50 %)	1D (50 %)	2D (100 %)	3D (100 %)

Tableau 2: Classification des plaies du pied diabétique établie par l'université du Texas.

La Classification des plaies du pied chez le patient diabétique établie par l'université duTEXAS combinant un grade et un stade ,Ce système de classification est un tableau à double entrée prenant en compte d'une part la profondeur de l'atteinte (colonne) et d'autre part la présence ou non d'une infection et/ou d'une ischémie (ligne). Entre parenthèses sont indiqués les pourcentages des amputations selon la catégorie de la plaie, Grade 0 Lésion épithéliale ,Grade 1 Plaie superficielle ,Grade2 Atteinte du tendon ou de la capsule, Grade 3 Atteinte de l'os ou de l'articulation ,Pas d'infection Pas d'ischémie 0A( 0) 1A(0) 2A(0) 3A(0), Stade B infection Pas d'ischémie 0B(12.5) 1B(8.5) 2B(28.5) 3B(92) ,Stade C Pas d'infection Ischémie 0C(25) 1C(20) 2C(25) 3C(100) ,Stade D Infection et ischémie 0D(50) 1D(50) 2D(100) 3D(100) (24).

### 1.4.2 Classification de l'infection

Toute plaie infectée du pied chez le diabétique nécessite une évaluation rigoureuse.

Pour classer l'infection, trois paramètres sont notamment pertinents pour la prise en charge clinique et éventuellement pour l'évolutivité :

- l'atteinte seulement de la peau
- l'atteinte de structures plus profondes et
- une réponse inflammatoire systémique du patient.

L'évaluation de la plaie nécessite un débridement et un nettoyage préalables qui permettront de juger, si l'antibiothérapie est nécessaire et si la réalisation de prélèvements à visée bactériologiques, le sondage est indispensable (figure4) à la recherche d'un contact osseux en faveur, mais non synonyme, de l'ostéite(25).

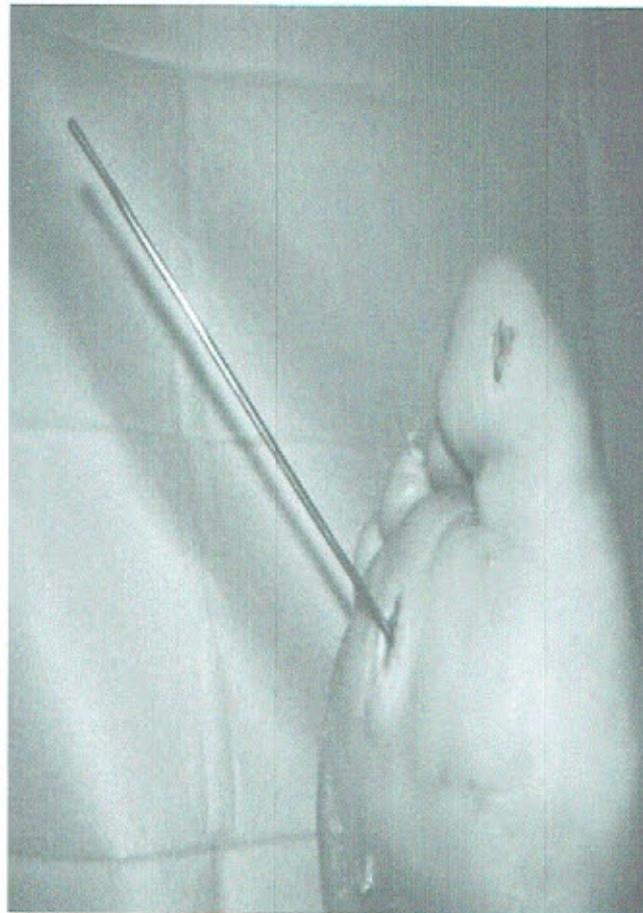


Figure N°7: Sondage de la plaie par un stylet boutonné métallique stérile.

La sévérité de l'infection du pied diabétique sera jugée d'après la classification du Consensus international sur le pied diabétique (tableau3)(26).

<b>Grade 1</b>	Pas de symptôme ni de signe d'infection (figure 6)
<b>Grade 2</b>	Atteinte cutanée uniquement (sans atteinte des tissus sous-cutanés, ni systémique) avec au moins deux des signes suivants : - érythème < 2 cm autour de la plaie - sensibilité locale ou douleur - tuméfaction locale ou induration - écoulement purulent (sécrétion épaisse opaque à blanchâtre ou sanguinolente) Les autres causes de réaction inflammatoire de la peau doivent être éliminées (traumatisme, goutte, pied de Charcot aigu, fracture, thrombose, stase veineuse)(figure7)
<b>Grade 3</b>	Érythème > 2cm et des constatations écrites ci-dessus ou Infection atteignant les structures au-delà de la peau et du tissu sous-cutané (abcès profond, lymphangite, ostéite, arthrite septique ou fasciite) Sans signes systémiques(figure8)
<b>Grade 4</b>	Quel que soit l'infection locale, si présence de signes systémiques avec au moins deux des caractéristiques suivantes : - température > 38 ° ou < 36 °C - fréquence cardiaque > 90/mn - rythme respiratoire > 20/mn - PaCO <sub>2</sub> < 32 mm Hg - leucocytes > 12 000 ou < 4 000/mm <sup>3</sup> - 10 % de formes leucocytaires immatures(figure9)

Tableau 3: Classification de l'infection des plaies du pied d'après le consensus international sur le pied diabétique (IWGF).

L'infection est donc caractérisée dans le tableau précédent par sa présence (Ou son absence) et par la profondeur de l'atteinte. Cette classification comprend quatre grades, du grade 1 (absence d'infection) au grade 4 (sepsis sévère) illustré dans le tableau Tableau 3.(27)

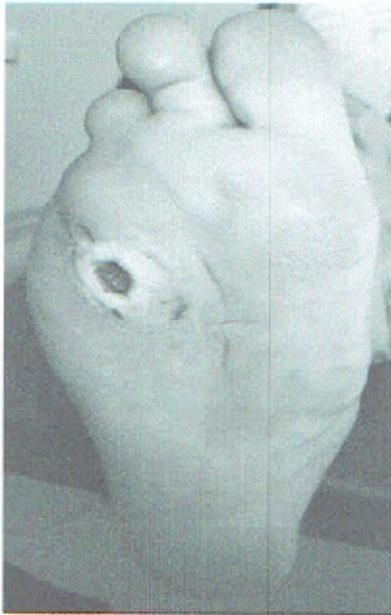


Figure N° 8 : Grade 1 : pas de signe d'infection.

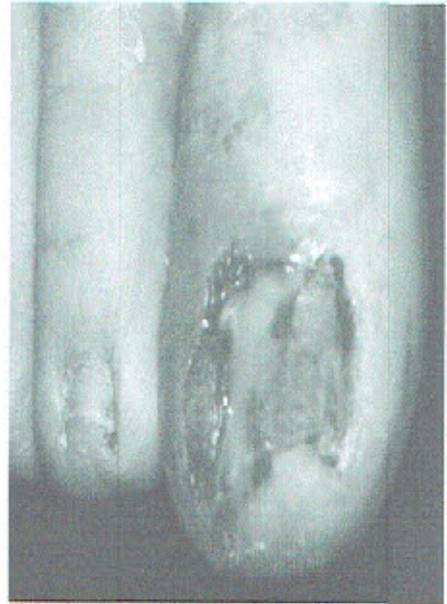


Figure N° 9 : infection de grade 2.



Figure N°10: infection de grade 3.



Figure N°11: infection de grade 4.

### 1.5 Principaux microorganismes en cause dans les infections du pied diabétique

Lorsqu'il n'y a aucun d'infection, il n'est pas recommandé de faire des prélèvements bactériologiques dont la culture n'objectiverait qu'une flore de colonisation (28).

En cas d'infection identifiée cliniquement, un prélèvement bactériologique est réalisé. Pour cela il existe différents modes de prélèvements dont la fiabilité n'est pas la même :

- Les prélèvements superficiels : écouvillons, curetage ou biopsie des berges de la plaie : sont les méthodes les plus utilisées, par leur simplicité, mais ont le défaut de recueillir simultanément les pathogènes impliqués dans le processus infectieux et les Bactéries de la flore commensale et/ou transitoire du patient (figure10a).
- Les prélèvements profond : aspiration à l'aiguille, biopsie tissulaire, curetage profond, permettent d'identifier théoriquement les seuls pathogènes mais souffrent d'une mauvaise sensibilité et sont de réalisation plus difficile (figure10b).
- La biopsie osseuse reste la méthode de choix surtout en cas d'ostéite.

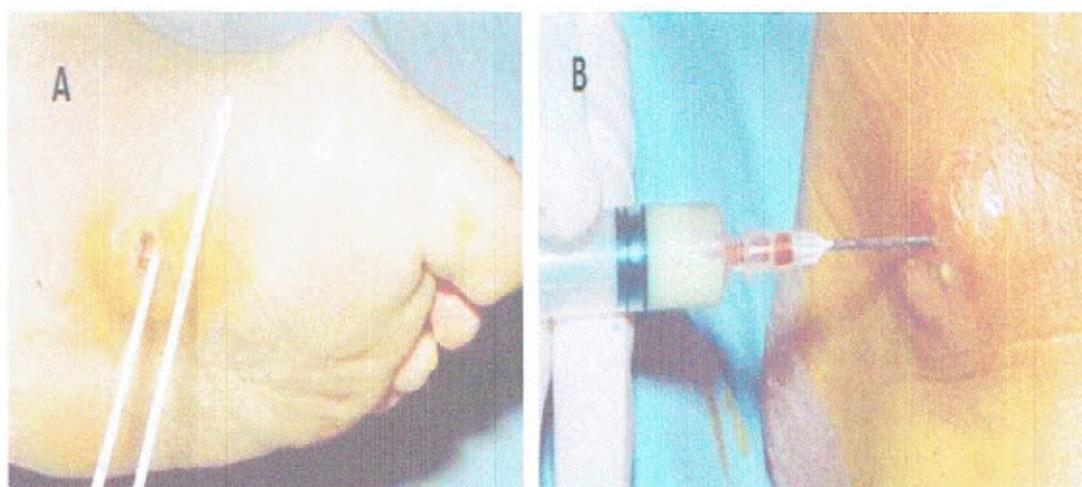


Figure 10: A : prélèvement par écouvillonnage. B : aspiration à l'aiguille.

Il est recommandé, en cas d'infection clinique, de faire des prélèvements bactériologiques avant toute antibiothérapie, sur une plaie débridée. Ces derniers doivent être acheminés au laboratoire dans un délai maximum 2heures (29).

La présence au prélèvement de germes commensaux non virulents *a priori* (staphylocoque à coagulase négative, corynébactéries, entérocoques, *Pseudomonas aeruginosa*) n'entraîne pas de traitement systématique et seul l'aspect clinique septique inquiétant commande le traitement car ces germes peuvent se révéler comme pathogènes opportunistes (30).

Les germes pathogènes habituels, les plus fréquemment rencontrés sont :

- **Les bactéries à Gram positif** dont les plus fréquentes sont : staphylocoques dorés, streptocoque  $\beta$  hémolytiques souvent au sein d'une flore polymicrobienne (31).
- **Les bacilles aérobies à Gram négatif**, surtout de la famille des entérobactéries (*Proteus Mirabilis*, *Escherichia Coli*, *Klebsiella sp*) se rencontrent en cas d'infections chroniques ou déjà traitées. *Pseudomonas aeruginosa* est souvent isolé après une longue hospitalisation. Son rôle pathogène est toujours à discuter (32).
- **Les bactéries anaérobies strictes** Cocci Gram positif (plutôt dans les plaies peu profondes ou bacilles Gram négatif (*Prevotella spp*, *Bacteroides sp*) dans les plaies profondes et ischémiques) sont souvent associées à des germes aérobies (33).
- **Les Bactéries multi résistantes** La probabilité d'isoler une bactérie multirésistante (BMR) a augmenté au niveau mondial au cours de la dernière décennie (34). Les infections avec des souches de *S. aureus* résistant à la pénicilline (SARM), notamment communautaires, et les infections par des bactéries Gram négatif, productrices de bêtalactamases à spectre élargi (BLSE) ou de carbapénémases, sont un problème émergent et préoccupant (35).

Parmi les cocci à Gram positif, deux autres bactéries multi résistantes sont à surveiller : les entérocoques résistants à la vancomycine (VRE) et staphylocoques de sensibilité diminuée aux glycopeptides (GISA) sont beaucoup plus rarement rencontrés (36).

Le plus souvent, les infections superficielles sont mono-microbienne (staphylocoque doré, streptocoque. .), les infections profondes poly-microbiennes (germes gram positif, gram négatif et anaérobies).

## 1.6 Les Entérobactéries

Les entérobactéries et les bacilles à Gram négatif non fermentaires occupent une place très importante en pathologie humaine infectieuse.

Cette importance s'explique aussi bien par la variété des espèces bactériennes qui les composent qu'à leur incidence au niveau de la santé des populations.

La fréquence, la gravité des infections dont elles sont responsables, traduisent des difficultés de prise en charge liées entre autres à des difficultés d'identification et à leur résistance aux antibiotiques.

L'identification de ces bactéries bénéficie depuis de nombreuses années déjà de l'existence de plusieurs méthodes :

- galerie classique avec un nombre limité de caractères ;
- galeries API qui sont très performantes.

### 1.6.1 Définition

La famille des *Enterobacteriaceae* comprend de nombreux genres bactériens répondant à la définition suivante :

- bacilles à Gram négatif ;
- immobiles ou mobiles grâce à une ciliature péritriche ;
- aérobies anaérobies facultatifs ;
- se développant aisément sur milieu ordinaire.

### 1.6.2 Les caractères morphologiques

Toutes les entérobactéries ont une morphologie habituellement typique de type bacilles à Gram négatif de 2-3  $\mu$  de long sur 0,6  $\mu$  de large, généralement polymorphes (38).

Les espèces mobiles les plus nombreuses le sont grâce à une ciliature péritriche. Certaines sont immobiles (*Klebsiella*, *Shigella*, *Yersinia pestis*) (39).

La présence d'une capsule visible au microscope est habituelle chez les *Klebsiella* (40).

La plupart des espèces pathogènes pour l'homme possèdent des *fimbriae* ou *pili* qui sont des facteurs d'adhésion (41).

### 1.6.3 Caractères biochimiques

Les entérobactéries définies par trois caractères biochimiques fondamentaux. Il s'agit notamment de la capacité de réduire les nitrates en nitrites (Nitrate +), de fermenter le glucose, de ne pas avoir de cytochrome-oxydase (oxydase -) (42).

### 1.6.4 Les caractères cultureux

Les entérobactéries poussent facilement sur les milieux ordinaires en 24 heures à 37°C en aérobiose et en anaérobiose (43).

Leurs exigences nutritionnelles sont, en général, réduites et la plupart se multiplient en milieu synthétique avec une source de carbone simple comme le glucose (44).

Sur milieux gélosés, les colonies d'entérobactéries sont habituellement lisses, brillantes, de structure homogène. Cet aspect peut évoluer après cultures successives pour donner des colonies à surface sèche rugueuse (40).

En milieu liquide, les entérobactéries occasionnent un trouble uniforme du Bouillon (45).

### 1.6.5 Etude des principaux genres

Ce genre ne comporte qu'une seule espèce *Escherichia coli*. Les souches immobiles et agazogènes anciennement décrites comme *Alkalescens dispar* ne sont plus qu'un biovar d'*Escherichia coli* (41).

- *Escherichia coli*

Hôte normal de l'intestin et des animaux, c'est l'espèce aérobie la plus représentée dans le tube digestif. La présence de colibacilles ou espèces voisines dans l'eau est un témoin de contamination fécale (43).

#### 1.6.5.2 *Klebsiella*

Au sein des entérobactéries, les bactéries du genre *Klebsiella* se distinguent par leur immobilité constante, leur groupement en diplobacilles généralement encapsulés (46).

On distingue cependant plusieurs espèces mais *Klebsiella pneumoniae* est la plus fréquemment retrouvée en clinique humaine (47).

- *Klebsiella pneumoniae*

Connue autrefois sous le nom de pneumobacille de Friedlander, *Klebsiella pneumoniae* est une bactérie commensale de l'intestin, des voies respiratoires et des animaux.

Chez l'homme, elle est l'agent des pneumopathies aiguës, d'angines, d'otites, de cystites et d'affections rénales.

Ce sont des bactéries Gram négatif immobiles capsulés, surtout au sortir de l'organisme, très polymorphes (41).

### 1.6.5.3 *Proteus-Providencia*

Au sein de la famille des *Enterobacteriaceae*, le groupe *Proteus-Providencia* se distingue essentiellement par les deux caractères suivants :

- présence d'un tryptophane désaminase ;
- envahissement constant de la gélose nutritive.

Le groupe *Proteus-Providencia* est divisé en deux genres :

- le genre *Proteus* avec : *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis* ;
- le genre *Providencia* : *Providencia stuartii*, *Providencia alcalifaciens*, *Providencia rettgeri* (44).

Hôtes normaux du tube digestif de l'homme et des animaux, elles peuvent dans certains cas se montrer pathogènes et provoquer des infections très diverses : entérites, cystites, otites, méningites (45).

### 1.6.6 Résistances aux antibiotiques

#### 1.6.7 Bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE)

Les entérobactéries ont la capacité de produire des bêta-lactamases, enzymes qui inactivent les antibiotiques bêta-lactamines par ouverture du cycle bêta-lactame. Ce mécanisme fait partie des **mécanismes classiques** de résistance bactérienne.

Les gènes de résistance des bêta-lactamases se situent soit au niveau du chromosome bactérien, soit sur des éléments extra-chromosomiques.

#### 1.6.7 Bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE)

Les BLSE sont des enzymes qui inactivent les bêta-lactamines, dont font partie les céphalosporines de 3<sup>ème</sup> et de 4<sup>ème</sup> génération. En fait, les BLSE sont responsables d'une résistance aux pénicillines, aux oxyimino-céphalosporines (ceftriaxone, cefotaxime, ceftazidime) et aux monobactames (aztreonam). En revanche, elles n'inactivent pas les céphamycines (cefoxitine, céfotetan,...), ni les carbapénèmes (imipénème).

## 1.7 Antibiothérapie

### 1.7.1 Choix de l'antibiothérapie probabiliste

Le choix de l'antibiothérapie probabiliste est influencé par plusieurs facteurs :

**La nature et l'ancienneté de la plaie** : en cas d'infection ancienne ou profonde ou ayant fait l'objet d'une antibiothérapie ou en cas d'hospitalisations antérieures, l'antibiothérapie doit comporter des molécules à spectre large du fait de la fréquence des infections poly-microbiennes (association de CGP, BGN..). Par contre, l'antibiothérapie des plaies superficielles récentes sans notion d'antibiothérapie ni d'hospitalisation dans les 3 mois doit être ciblée pour couvrir les cocci à Gram positif aérobies : *S. aureus* et streptocoques bêta-hémolytiques

**Le risque de présence de bactéries multi-résistantes (BMR)** : les BMR, dominées par le SARM, leur fréquence augmentent dans les infections du pied diabétique engendrant des difficultés thérapeutiques.

Contre les cocci à Gram positif (SARM et VRE), le linézolide, antibiotique bactériostatique de la famille des oxazolidinones a démontré son efficacité dans le traitement des infections de la peau et des tissus mous.. Enfin, l'ertapénème a démontré un intérêt dans le traitement des infections profondes à entérobactéries multi-résistantes, notamment sécrétrices de B-lactamase, en l'absence d'atteinte osseuse (48 ,49).

**La sévérité de l'infection** : la présence d'un sepsis sévère ou d'un choc septique est une indication à la prescription d'une antibiothérapie à large spectre.

### 1.7.2 Voie d'administration

L'administration parentérale doit être réservée aux infections jugées sévères, en cas d'artériopathie, lorsque les molécules utilisées ne sont pas administrables par voie orale ou que l'état du patient est incompatible avec la prise orale. À l'opposé, les situations d'infections légères à modérées pourraient probablement être traitées par voie orale en ambulatoire dès lors qu'un suivi médical est possible de façon rapprochée.

### 1.7.3 Critères d'hospitalisation

La sévérité de l'infection jugée par son retentissement vital et fonctionnel et la nécessité de recourir à une antibiothérapie par voie parentérale, constituent les principales indications à l'hospitalisation au cours des infections du pied diabétique. Les autres critères d'hospitalisation figurent dans le Tableau 16.

facteurs suggérant la nécessité d'hospitalisation
• Infection sévère (grade IV).
• Mauvaise compliance du patient avec mise en jeu du pronostic vital
• Plaie profonde avec suspicion d'atteinte ostéo articulaire
• Evolution rapidement et défavorable de la plaie
• Déséquilibre métabolique
• Ischémie sévère, gangrène
• Nécessité d'une antibiothérapie IV non réalisable à domicile
• Nécessité d'un geste chirurgical
• Impossibilité de suivi du patient
• Impossibilité de soins adaptés

Tableau N°4: facteurs suggérant la nécessité l'hospitalisation.

## 1.7.4. Durée du traitement

Les recommandations disponibles proposent 1 à 2 semaines et 2 à 4 semaines selon la sévérité de l'infection.

Le Tableau suivant résume des propositions d'antibiothérapie de première intention dans les infections du pied diabétique.

Sévérité de l'infection	Pathogènes attendus	Antibiotiques proposés	Durée de traitement
Légère	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>S. aureus</i></li> <li>• Streptocoques</li> <li>• Enterobacteries</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Amoxicilline</li> <li>• Clindamycine</li> <li>• Amoxicilline-acide clavulanique</li> <li>• Co-trimoxazole</li> </ul>	1-2 semaines
Modérée	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>S. aureus</i></li> <li>• Streptocoques</li> <li>• Enterobacteries</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Amoxicilline-acide clavulanique</li> <li>• Association clindamycine + quinolone</li> </ul>	1-2 semaines
Sévère	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>S. aureus</i></li> <li>• Streptocoques</li> <li>• Enterobacteries</li> <li>• Anaerobes</li> <li>• <i>Pseudomonas aeruginosa</i></li> <li>• Piperacilline-tazobactam</li> <li>• Cefepime</li> <li>• Carbapeneme</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Piperacilline-tazobactam</li> <li>• Cefepime</li> <li>• Carbapeneme</li> </ul>	1-2 semaines
Bactériémie associée	Le plus souvent : <i>S. aureus</i>	A adapter selon cultures et sensibilités	1-2 semaines
Ostéomyélite	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>S. aureus</i></li> <li>• Streptocoques</li> <li>• Enterobacteries</li> </ul>	A adapter selon cultures des prélèvements osseux	4-6 semaines (en l'absence de résection chirurgicale)

Tableau N°5 : Antibiothérapie de première intention dans les infections du pied diabétique.

## CONSEILS POUR PRENDRE SOIN DE VOS PIEDS

Les 10 recommandations suivant qu'il faut toujours rappeler au patient diabétique, visent essentiellement à :

1. Inspectez vos pieds tous les jours. Utilisez un miroir ou demandez l'aide de quelqu'un.
2. Lavez-vous les pieds chaque jour avec soin. Eviter les bains prolongés qui favorisent la macération (max 5 min) ne pas utiliser les coricides, ni les détergents, ni autres produits agressifs.
3. Essuyez-vous les pieds soigneusement, ne laissez pas d'espace entre vos orteils mouillés.
4. Appliquez une crème hydratante sur les pieds pour les soins de la peau.
5. Les ongles doivent être coupés à droite, pas trop court, et les coins arrondis. Ne pas traiter soi-même durillons, cors et ampoules, ne pas arracher les peaux gênantes au toucher.
6. Utilisez uniquement la bonne chaussure, ne porter les chaussures neuves que très progressivement (une demi-heure la première fois).
7. Ne marchez pas pieds nus ou en chaussettes seulement. Utilisez des chaussettes qui absorbent la transpiration, permettant d'aérer vos pieds et de les garder au sec.
8. La sensation de froid aux pieds ne peut disparaître que grâce à un traitement approprié, prescrit par un médecin et non pas en les réchauffant avec des bouteilles, des briques, ou près de l'incendie. Cela peut causer de graves brûlures.
9. Consultez immédiatement un médecin si vous sentez des douleurs aux pieds ou, au contraire, si vous remarquez que la sensibilité a baissé...
10. Connaitre les signes d'hypo et d'hyperglycémie et éviter les complications..., les différents types de traitement, les différents sites d'injection en cas d'insulinothérapie.

# Partie 2: La pratique

# Chapitre 1

- **Lieu d'étude**

L'étude a été réalisée à l'unité de microbiologie-parasitologie de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine durant la période allant du 24 février au 4 avril 2016. Il s'agit d'une étude perspective et prospective qui s'est intéressée aux cas d'infections du pied diabétique.

### 1. Matériel biologique

50 prélèvements à visée diagnostique de pus du pied diabétique ont été pris en considération, il s'agit de prélèvements positifs non répétitifs à entérobactéries, en raison de la fréquence d'isolement de ces dernières.

### 2. Méthode

#### Prélèvement et transport

Lors de la réalisation du travail expérimental, nous avons accompagné l'infirmier et le médecin dans la réalisation et l'acheminement du prélèvement au laboratoire.

#### Prélèvement de pus

La technique est la suivante :

- enlever le pansement
- nettoyer avec du sérum physiologique le pourtour de la plaie
- prélever les sécrétions les plus douteuses avec une seringue stérile (de préférence) ou un écouvillon à utiliser suivant les instructions du fabricant
- en cas de plaie profonde, une recherche de bactéries anaérobies peut être réalisée avec des écouvillons spécifiques comprenant un milieu de transport ou à la seringue (en prenant soin de purger l'air résiduel présent dans le corps de la seringue). On peut ainsi introduire le prélèvement dans un flacon d'hémoculture anaérobie.
- identifier le prélèvement et le placer dans un sac en plastique.
- remplir la fiche de demande d'examen (voir annexe1) en précisant exactement le lieu et le type de la plaie (postopératoire, traumatique, escarre, ulcère, mal perforant plantaire, fistule...).
- acheminer le prélèvement au laboratoire.

### 3. Examens

Afin d'éviter que le prélèvement sèche et qu'il se contamine, les milieux de culture sont rapidement ensemencés.

#### 3.1. L'examen direct (coloration au bleu de méthylène)

- Réaliser un frottis et le fixer.
- Recouvrir la lame de solution de bleu de méthylène, 10 à 15 minutes.
- Rincer à l'eau distillée.
- Sécher la lame entre 2 feuilles de papier Joseph.
- Observer à l'objectif x100 à l'immersion à l'huile et à pleine lumière.

#### 3.2. Mise en culture

Les différents milieux de culture utilisés pour l'isolement des différentes bactéries sont :

- une gélose au sang frais (streptocoques).
- une gélose au chocolat (sang cuit), germes exigeants.
- milieu hektoen (pour bacille à Gram négatifs ; entérobactéries, BNF).
- milieu Chapman (staphylocoques).

Chacun de ces milieux est ensemencé à la pipette pasteur stérile avec la technique de cadrons puis incubés à 37° C pendant 24 h à 48 h à l'étuve

### 4. Identification

#### 4.1. La coloration de Gram

La technique de coloration se fait selon les étapes suivantes

- nettoyer une lame à l'alcool.
- déposer une goutte d'H<sub>2</sub>O sur la lame.
- prélever une colonie à l'aide d'une pipette pasteur stérile ou anse de platine préalablement flambée.
- bien mélanger
- laissez sécher à l'air.

- déposer quelques gouttes de solution de **violet de gentiane** (cristal violet) sur le frottis fixé.
- laisser agir 1 minute. *Le violet de gentiane colore le cytoplasme des bactéries.*
- jeter l'excès de colorant dans un bécher.
- rincer très brièvement en faisant couler de l'H<sub>2</sub>O sur la lame au-dessus du frottis (pas directement sur le frottis).
- déposer quelques gouttes de **lugol** sur le frottis. *Le Lugol (composé iodé) est un mordant qui permet de fixer le violet dans les bactéries.*
- laissez agir 1 minute.
- jeter la solution de Lugol dans un bécher et rincer brièvement à l'H<sub>2</sub>O comme précédemment décrit.
- rajouter de la fuschine .
- laissez agir 1 à 2 minutes
- laver
- Laisser sécher à l'air.
- Observer au microscope (x100), à l'immersion.

La lecture permet d'identifier les bactéries à Gram négatif qui apparaissent en rose et les Gram positif en violet.

#### 4.2. Test à la catalase

Pour plus d'identification on fait ce test pour déterminer si la bactérie est catalase + catalase -, le principe de la réaction est comme suit :



- déposer sur une lame de verre une ou deux goutte d'eau oxygénée à 10 volumes.
- prélever à l'aide de l'effilure d'une pipette pasteur un fragment de colonie et dissocier la culture dans l'eau oxygénée.

Dans la lecture, la présence d'une catalase se traduit, en quelques secondes, par la formation de bulles d'oxygène

### 4.3. Test à l'oxydase

Plusieurs réactifs sont commercialisés et plusieurs méthodes peuvent être utilisées, dans notre cas nous avons utilisé du papier filtre imprégné de *N, N-Dimethyl-1,4-phenylenediamine dichlorure* et déposé sur une lame en verre. Le prélèvement est effectué à l'aide de l'effilure d'une pipette pasteur, le fragment de colonie est dissocié sur le papier filtre.

La présence d'une cytochrome-oxydase se traduit, en 20 à 60 secondes, par l'apparition d'une coloration rouge virant rapidement au violet très foncé

### 4.4. Galerie biochimique (Galerie classique)

Cette galerie est utilisée dans l'identification des bactéries mais dans notre cas nous avons choisi de travailler avec la galerie API 20<sup>E</sup>, cette dernière permet des résultats plus rapides.

#### 4.4.1. Milieu TSI

- chaque colonie à étudier est ensemencée en strie centrale sur la pente, puis en piqure profonde dans le culot.
- porter les tubes à l'étuve à 37°C pendant 24H, après avoir vérifié que les bouchons ne sont pas vissés à fond afin de permettre une bonne oxydation de la pente.

La lecture est résumée dans le tableau 6

Tableau 6 : caractères différentiels entre les entérobactéries

	Pente/lactose et /ou saccharose	Culot Gaz	H <sub>2</sub> S
<i>Entérobacter</i>	+	+	-
<i>Escherichia</i>	+(-)	+	-
<i>Klebsiella</i>	+	+(-)	-
<i>Proteus</i>	-	+	+
<i>Vulgaris- mirabilis</i>	-	+	+
<i>Providencia</i>	-	- (+)	-
<i>Serratia</i>	+ ou -	+ ou -	-

#### 4.4.2. Milieu citrate au de Simmons

Ensemencer le milieu au citrate de Simmons à partir d'une colonie prélevée sur un milieu gélosé. En aucun cas on ne se servira d'une culture en bouillon ou eau peptone qui apporterait avec germes des éléments nutritifs susceptibles de fausser les résultats. Incuber à 37°C.

##### Lecture

La majorité des auteurs considère qu'une bactérie est citrate de Simmons positive lorsqu'elle utilise le citrate en provoquant une alcalinisation du milieu.

- Une coloration bleu dans tout le milieu signe réaction positive
- Présence d'une coloration verte dans tout le milieu : réaction négative

#### 4.4.3. Bouillon nitrate

- cultiver la bactérie dans un bouillon nitraté
- incuber à 37°C jusqu'à l'obtention d'une culture abondante
- ajouter une ou deux gouttes acide parasulfanilique en milieu acétique (réactif NIT1) puis une à deux gouttes d'alpha-naphtylamine en milieu acétique (réactif NIT2)

#### Lecture

1. Apparition en quelques secondes d'une coloration rose ou rouge : réaction positive, la bactérie réduit les nitrates en nitrites
2. Absence de coloration : ajouter de la poudre de zinc :
  - Apparition en 5 minutes d'une coloration rose ou rouge : réaction négative
  - Absence de coloration : réaction positive (bactéries réduisant les nitrates jusqu'au stade azote gazeux)

#### 4.4.4. Milieu urée indole

Uréase	Production d'indole	Tryptophane désaminase
Ensemencer un milieu synthétique contenant de l'urée, du tryptophane et de rouge de phénol Recouvrir la surface du milieu d'huile de paraffine pour éviter la libération d'ammoniac Incuber 18H à 37°C	Ensemencer un milieu urée indole Incuber 18H à 24H à 37°C	Ensemencer un milieu urée indole Incuber 18H à 24H à 37°C

Lecture Tableau N°7: tests urée indole.

<u>Uréase</u>	<u>Production d'indole</u>	<u>Tryptophane désaminase</u>
---------------	----------------------------	-------------------------------

<p><b><u>Urèase positive</u></b> : le milieu présente une coloration rouge violacée ou orange foncée</p> <p><b><u>Urèase négative</u></b> : le milieu a une teinte jaune</p>	<p>Ajouter une goutte de réactif de James</p> <p><b><u>Réaction positive</u></b> : apparition d'une coloration rouge qui diffuse dans tout le milieu</p> <p><b><u>Réaction négative</u></b> : milieu incolore ou présentant une légère coloration jaune</p>	<p>Ajouter une goutte d'une solution acide de perchlorure de fer (réactif TDA)</p> <p><b><u>Apparition d'une coloration brune foncée</u></b> : bactérie TDA positive</p> <p><b><u>Apparition d'une coloration jaune</u></b> : bactéries ne produisant pas de tryptophane désaminase.</p>
--	---	--

#### 4.4.5. Milieu Clark et Lubs

- ensemencer un milieu Clark et Lubs
- incuber 48H à 37°C
- prélever 1ml de milieu et ajouter 0,5ml de KOH ou NaOH (réactif VP1) et 0,5ML d'alpha-naphtol (réactif VP2)

#### Lecture

Attendre un temps maximum de 10 minute .La présence d'acétoine (bactérie VP positif) se traduit par une coloration rose en surface mais pouvant diffuser dans tout le milieu

#### 4.4.6. Disque ONPG (ortho-Nitrophenyl- $\beta$ -galactoside)

Réaliser une suspension bactériennes dans de l'eau physiologique incorporer un disque d ONPG.  
Incuber à 37°C.

#### Lecture

**Apparition d'une coloration jaune** : bactérie ONPG positive.

**Absence de coloration** : bactérie ONPG négative.

#### 4.4.7. Disque gélatinase

Ensemencer un tube d'eau peptonée dans lequel est introduit un disque de gélatine dénaturée au charbon.

Incuber à 37°C

##### Lecture

L'hydrolyse de la gélatine se traduit par la libération de particules de charbon de bois qui colorent le milieu en noir.

#### 4.4.8. Milieu de Moeller

Teste LDC (la lysine décarboxylase), ODC (l'ornithine décarboxylase) et ADH (arginine dihydrolase)

Ensemencer chacun des trois tubes avec une suspension bactérienne.

Réaliser une anaérobiose en recouvrant la surface du milieu d'huile de paraffine.

Incuber à 37°C

##### Lecture

Apparition d'une coloration jaune (acidification du milieu) : réaction négative

Apparition d'une coloration orange foncée ou rouge (alcalinisation du milieu) : réaction positive

#### 4.4.9 .Galerie API20E

- Placer de l'eau dans les alvéoles présents dans le fond de la boîte afin de créer une atmosphère humide.
- Retirer la galerie de son emballage et la placer dans le fond de la boîte.
- Prélever à l'aide d'une pipette pasteur boutonnée des colonies parfaitement isolées. Les dissocier soigneusement dans une ampoule de « suspension Medium » ou eau physiologique pour constitution d'une suspension bactérienne.

- A l'aide d'une pipette munie d'une poire remplir les microtubes de la galerie :
- Lorsque le sigle du test est encadré (CIT.VP.et GEL) : la suspension doit remplir le tube et la cupule.
- Lorsque que le sigle du test est souligné (ADH, LDC.ODC.URE.H2S) : la suspension doit remplir
- Uniquement le tube et la cupule sera remplie d'huile de paraffine.
- Lorsque le sigle du test n'est ni encadré ni souligné (ONPG. TDA .IND .GLU .MAN .INO .SOR .RHA .SAC .MEL .AMY. ARA), la suspension doit remplir uniquement le tube.
- Refermer la boîte d'incubation, écrire les références du prélèvement sur la languette du fond de la boîte et placer la boîte à 37°C durant 18 à 24 heures.

### Lecture

Sortir la boîte de l'étuve et noter sur la fiche de lecture les résultats obtenus pour les tests à lecture spontanée (voir ci-dessous le tableau de lecture).

Révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs (voir ci-dessous le tableau de lecture) :

- **TDA** : ajouter une goutte du réactif TDA
- **IND** : ajouter une goutte du réactif de James
- **VP** : ajouter une goutte du réactif VP1 et une goutte du réactif VP2
  
- **Nitrate réductase** : après avoir noté le résultat obtenu pour l'acidification du glucose ajouter une goutte du réactif NIT1 et une goutte du réactif NIT2, Si aucune coloration rouge n'est obtenue (attendre deux à trois minutes) ajouter une petite quantité de poudre zinc.

Noter les résultats et Calculer le profil numérique :

- Chaque test donnant une réaction négative prend la valeur 0.
- Lorsqu'un test est positif, il prend la valeur 1,2 ou 4 selon sa position au sein d'un groupe de trois : si le premier test d'un groupe de trois est positif il est noté 4.
- Le 21ème test mentionné sur la fiche de résultat (OX), correspond à l'oxydase (test réalisé avant l'ensemencement de la galerie).

Pour chaque groupe de trois, additionner les chiffres correspondants. On obtient un

--	--	--	--	--

nombre à sept chiffres qui constitue le profil numérique de la souche étudiée.

La recherche du profil numérique dans le Catalogue analytique commercialisé par le fabricant permet d'identifier la bactérie.

Si le profil numérique à sept chiffres ne permet pas une identification, il convient de noter les résultats obtenus pour les tests réduction des nitrates en nitrites (McC), oxydation du glucose (OF-O), fermentation du glucose (OF-F). On obtient alors un profil numérique à neuf chiffres plus discriminant que le précédent.

Tableau 8: lecture de la galerie API 20<sup>E</sup>.

Tests	Réaction	Composants actifs	Ajout De reactif	Résultats	
				négative	positive
<u>GEL</u>	Gélatinase	Gélatin de boeuf	Non	Non diffusion Du charbon	non diffusion du charbon
<u>GLU</u>	Glucose	D- glucose	Non	bleu ou bleu vert	jaune
<u>MAN</u>	Mannitol	D- mannitol	Non	Bleu ou bleu Vert	jaune
<u>INO</u>	Inositol	Inositol	Non	Bleu ou bleu Vert	jaune
<u>SOR</u>	Sorbitol	D- sorbitol	Non	bleu ou bleu vert	jaune
<u>RHA</u>	Rhamnose	L- rhamnose	Non	Bleu ou bleu Vert	jaune
<u>SAC</u>	Saccharose	D- saccharose	Non	Bleu ou bleu Vert	jaune
<u>MEL</u>	Mélibiose	D- mélibiose	Non	Bleu ou bleu vert	jaune
<u>AMY</u>	Amygdaline	Amygdaline	Non	Bleu ou bleu Vert	jaune
<u>ARA</u>	Arabinose	L- arabinose	Non	Bleu ou bleu vert	jaune

#### 4.4.10. Antibiogramme par diffusion des disques antibiotiques

##### 4.10.1. Milieu pour antibiogramme : gélose Mueller -Hinton

- il doit être coulé en boîtes de pétri sur une épaisseur de 4 mm
- les géloses doivent être séchées avant l'emploi.

##### 4.10.2. Préparation de l'inoculum

- a partir d'une culture pure de 18 à 24 h sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- bien décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9%.
- bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0.5 MF ou à une D.O. de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm. L'utilisation d'un densitomètre est fortement souhaitable.

##### 4.10.3. Ensemencement

- tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum.
- l'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum.
- frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

##### 4.10.4. Application des disques d'antibiotiques

- il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotique sur une boîte de 90 mm.
- presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pince bactériologique stérile et ne pas déplacer les disques après application.

#### 4.10.5. Condition d'incubation

Respecter la température, l'atmosphère et la durée d'incubation recommandées pour chaque bactérie (pour les *entérobactéries*, 35 à 37 °C pendant 18h).

#### Lecture

- mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibitions à l'aide d'un pied à coulisse.
- pour les bactéries testées sur Mueller-Hinton simple, les mesures seront prises en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de pétri fermée.
- comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lectures correspondantes (tableau3).

Classer la bactérie dans l'une des catégories : S, R ou I.

#### 4.4.11. Méthode de détection d'entérobactéries productrices de bêta-Lactamase à spectre élargi (BLSE)

La recherche de la BLSE se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme en déposant un disque d'amoxicilline+acide clavulanique (AMC20/10 $\mu$ g) à 30mm centre à centre d'un disque de C3G (cefotaxime : CTX30  $\mu$ g ou ceftriaxone : CRO30 $\mu$ g).

Incuber 18H à 35 °C.

#### Lecture

La production d'enzyme peut se traduire par l'apparition d'une image de synergie en bouchon de champagne entre les disques :

- AMC et CTX
- AMC ET CAZ

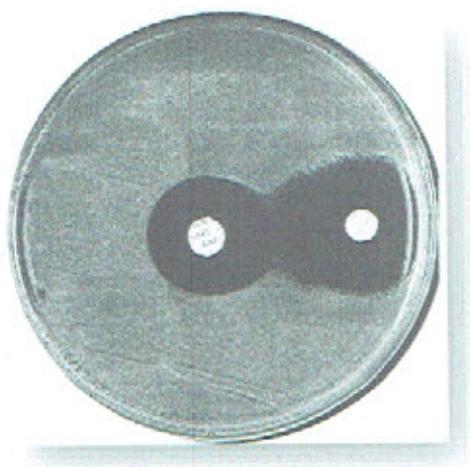


Figure N° 14: souche productrice de bêta -lactamase a spectre élargi (image de bouchon de champagne)



## 8. Souches d'entérobactéries BLSE

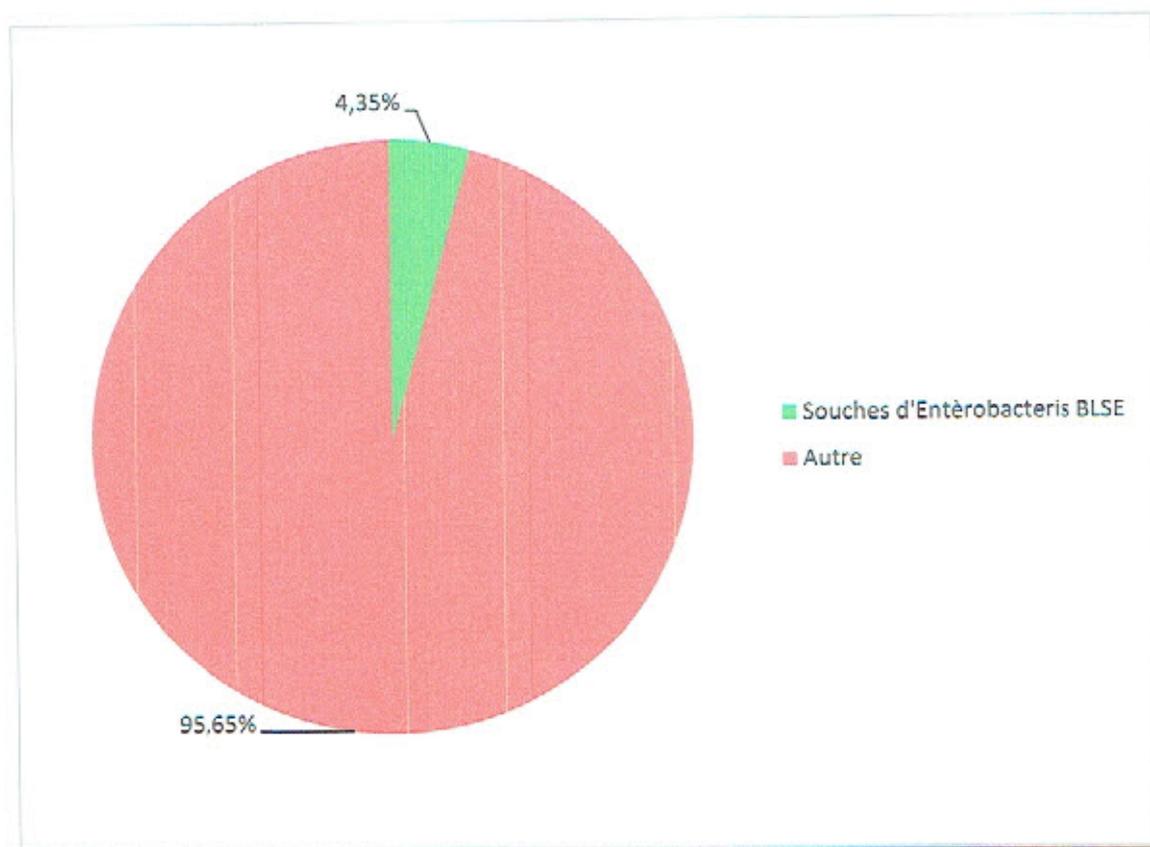


Figure N° 28 : Souches d'Entérobactéries BLSE.

Sur les 46 prélèvements nous avons colligé 2 souches productrices de Beta lactamase a spectre élargi (*Escherichia coli*, *klebsiella oxytoca*), soit (4,35%).

### 9. Répartition des patients infectés selon l'âge

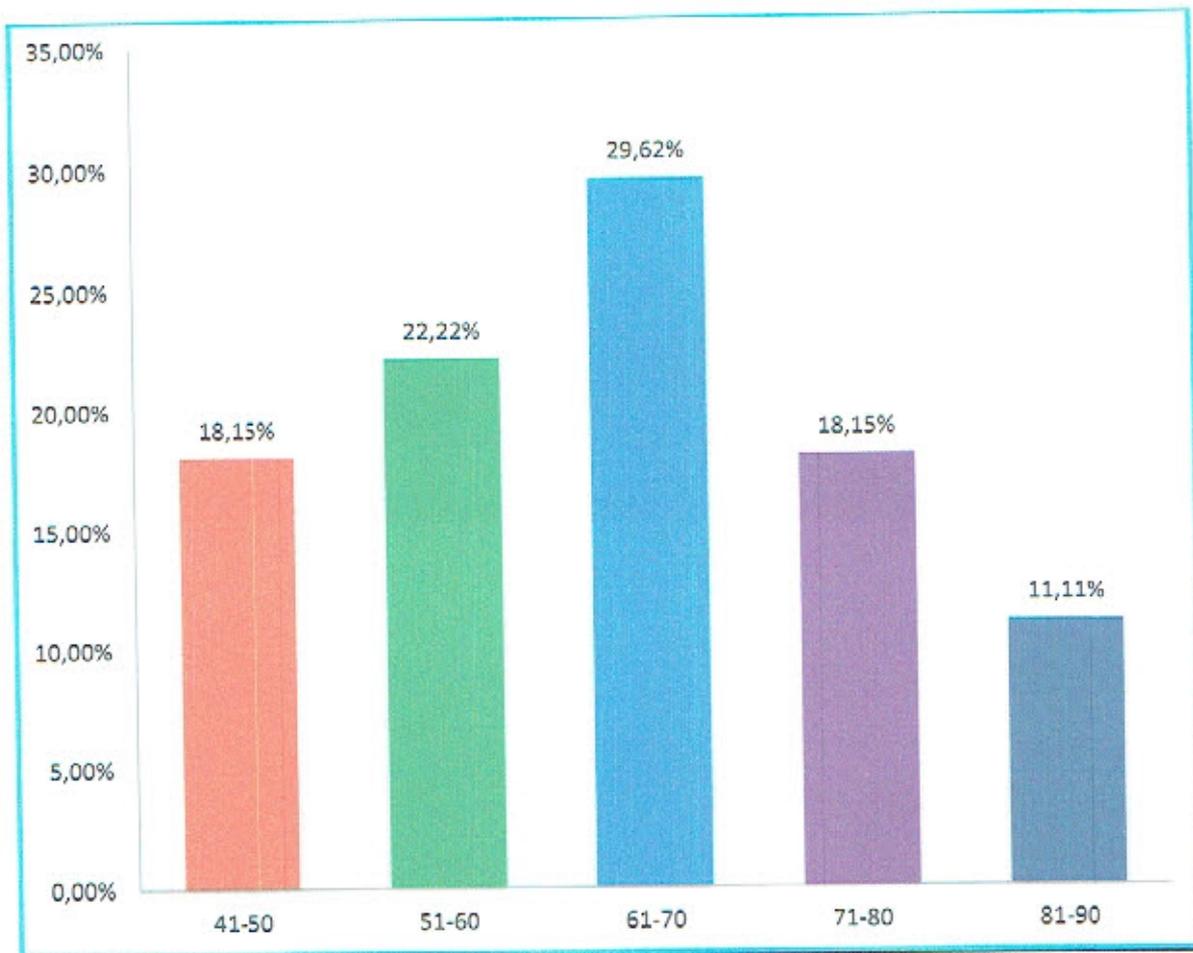


Figure N°29 : l'âges des patients infectés.

L'âge moyen de nos patients est de (63,64%). La tranche d'âge la plus représentative se situe entre 61 et 70 ans, avec (29,63%), suivie de la tranche d'âge comprise entre 51 et 60 ans avec (22,22%).

### 10. Répartition des patients infectés selon le sexe

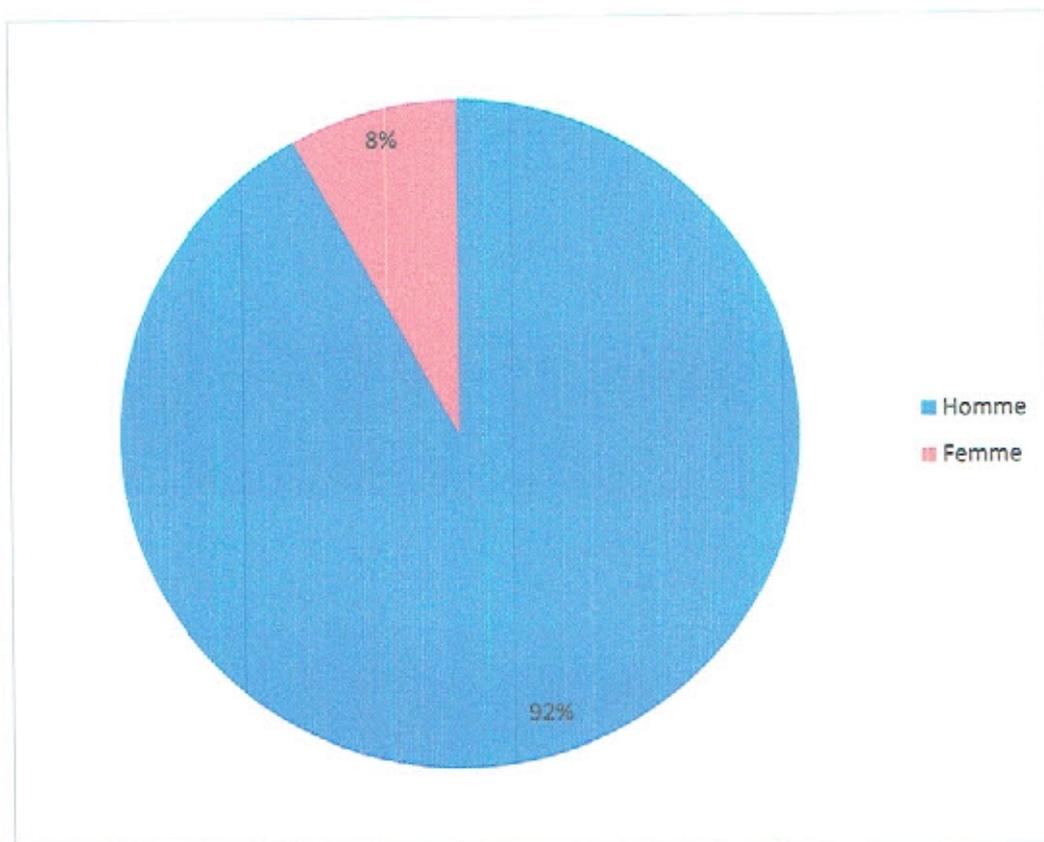


Figure N°30 : sexes des patients infectés .

Dans notre étude, 92% des patients sont de sexe masculin, avec une sex-ratio = 12, 5.

## 11. Cas de récurrences

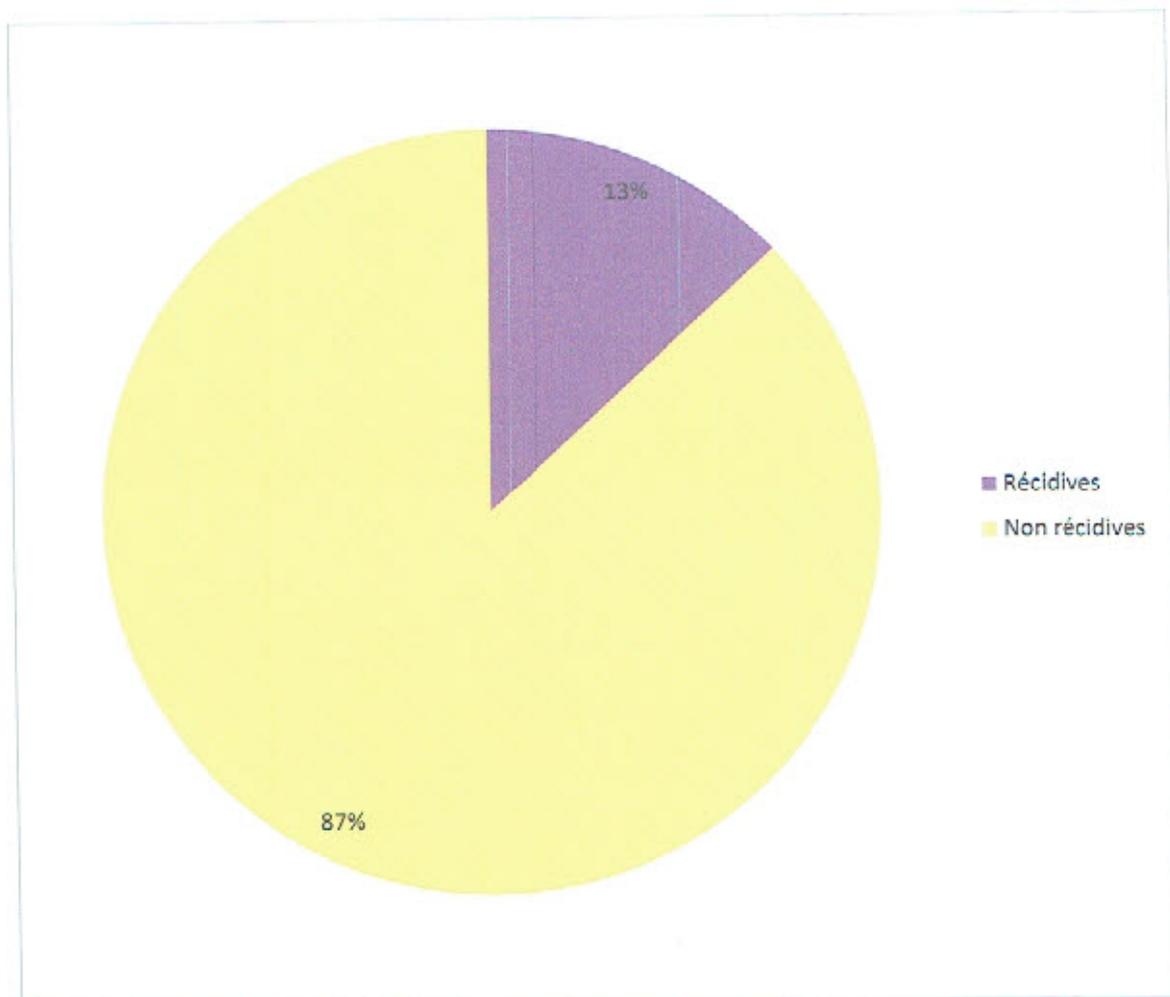


Figure N°31: cas de récurrences.

6 cas de récurrences, soit (13%), ont été enregistrés durant la période d'étude sur un total de 46 prélèvements du pied diabétique infecté colligés.

## 12. Cas d'amputation

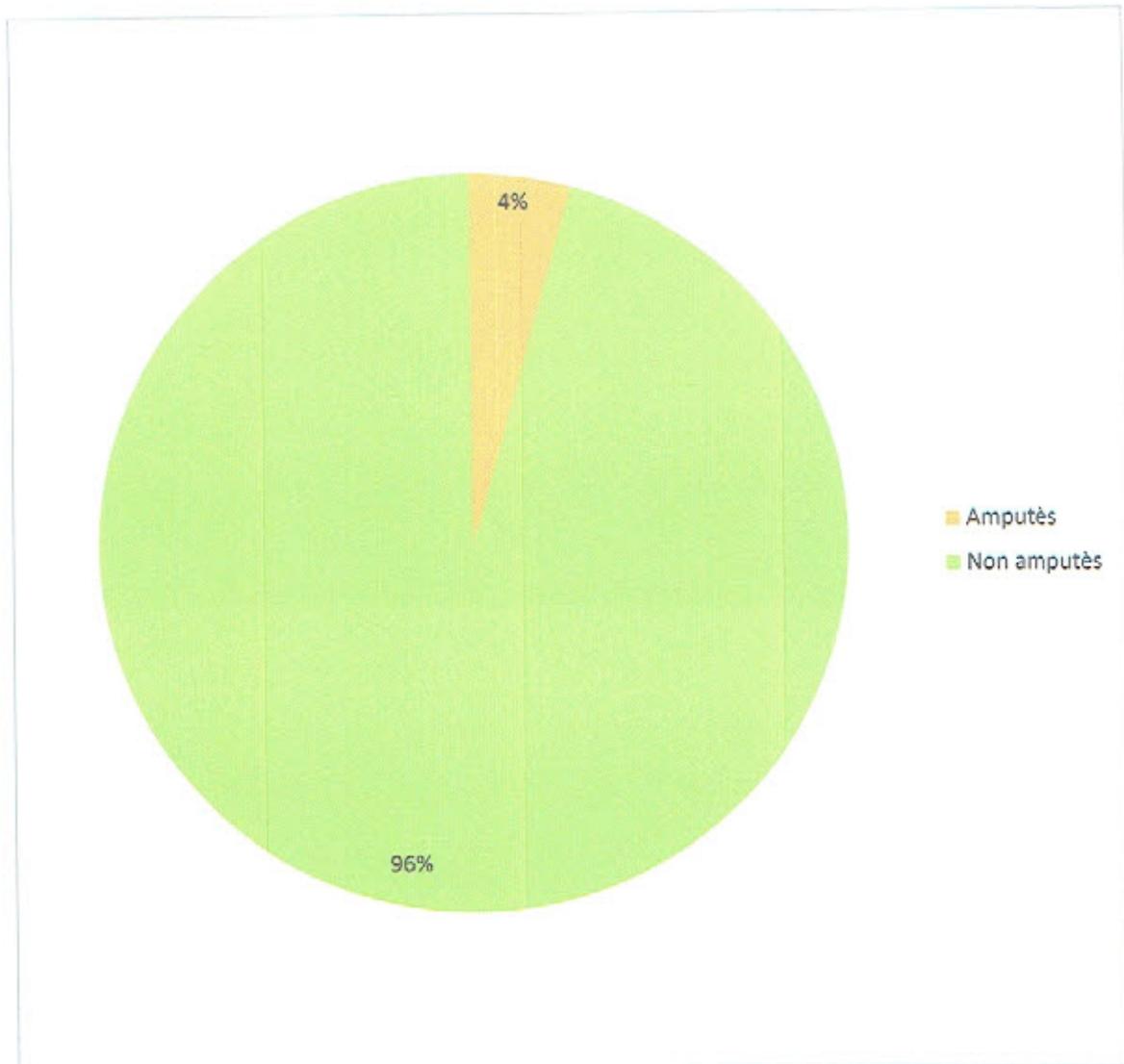


Figure N° 32 : cas d'amputation

2 cas d'amputation ont été enregistrés durant la période d'étude ce qui correspond à 4,35% des cas.

7. Profil antibiotique des entérobactéries isolées

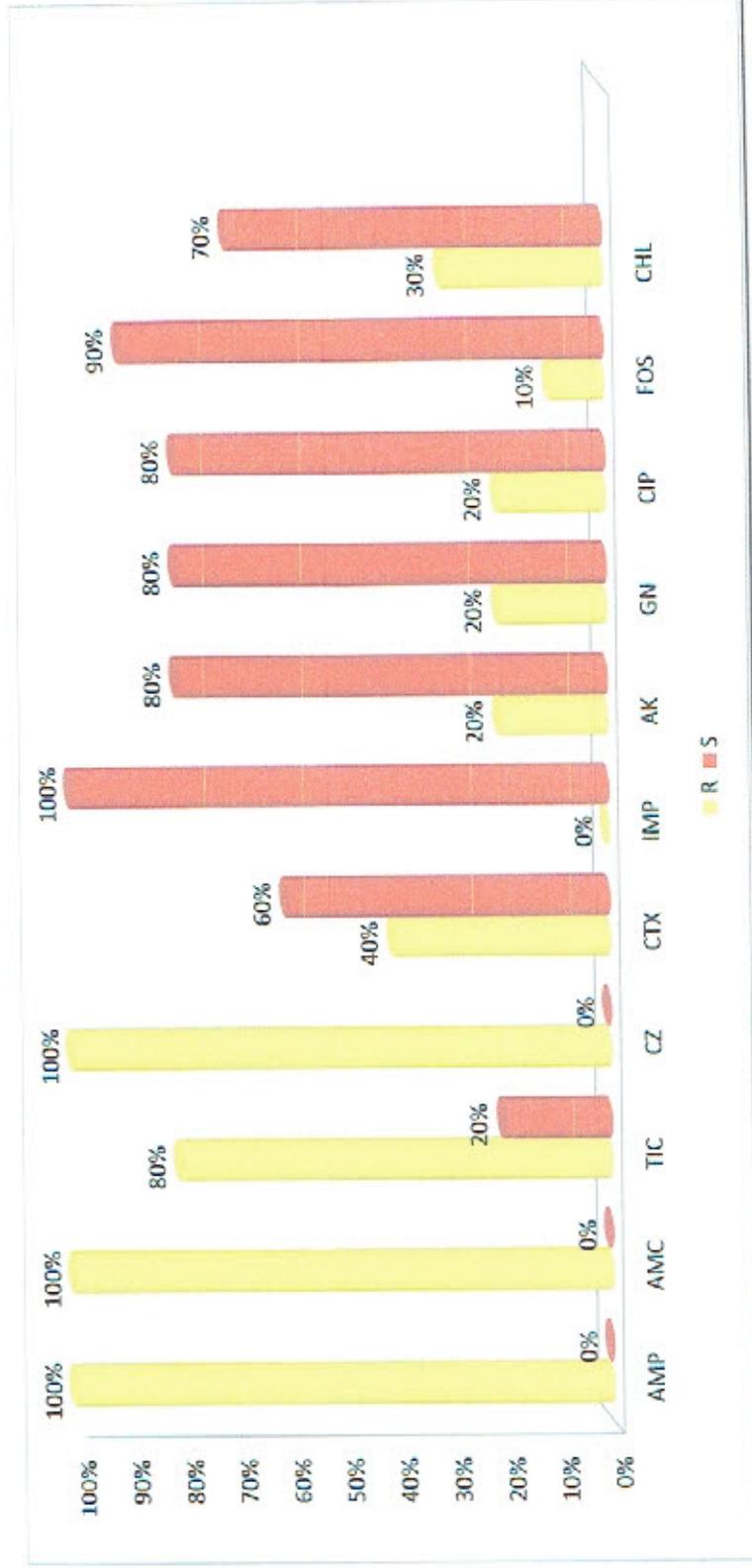
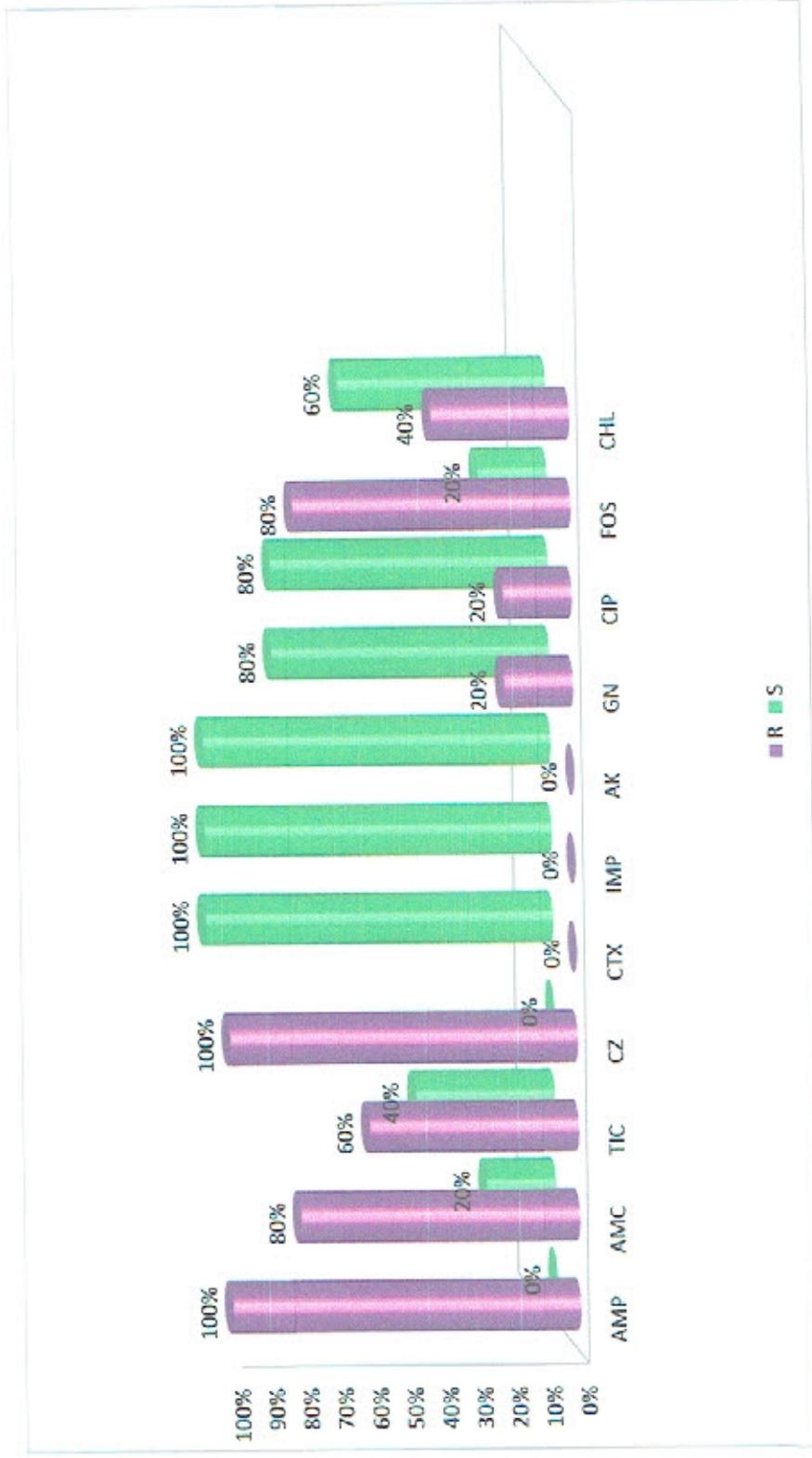
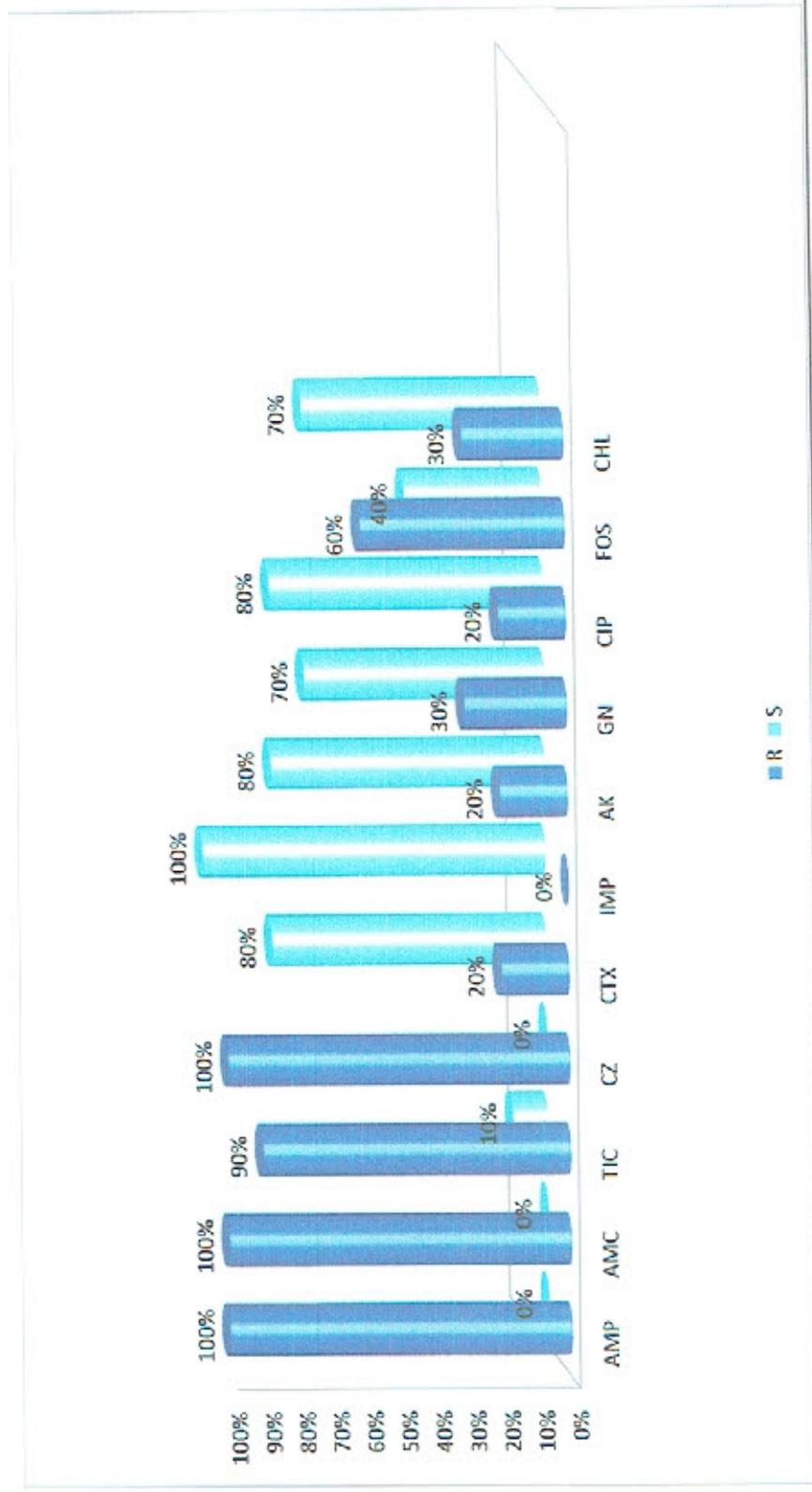


Figure N°21: Profil antibiotique des entérobactéries

- Nos isolats résistent à : l'ampicilline (100%), l'amoxicilline-ac-Clavulanique(100%), la ticarcilline(80%), et la céfazoline a(100%) .

Figure N°22 : Profil antibiotiques de *Proteus mirabilis*

Figure N°23 : Profil antibiotiques de *Morganella morganii*

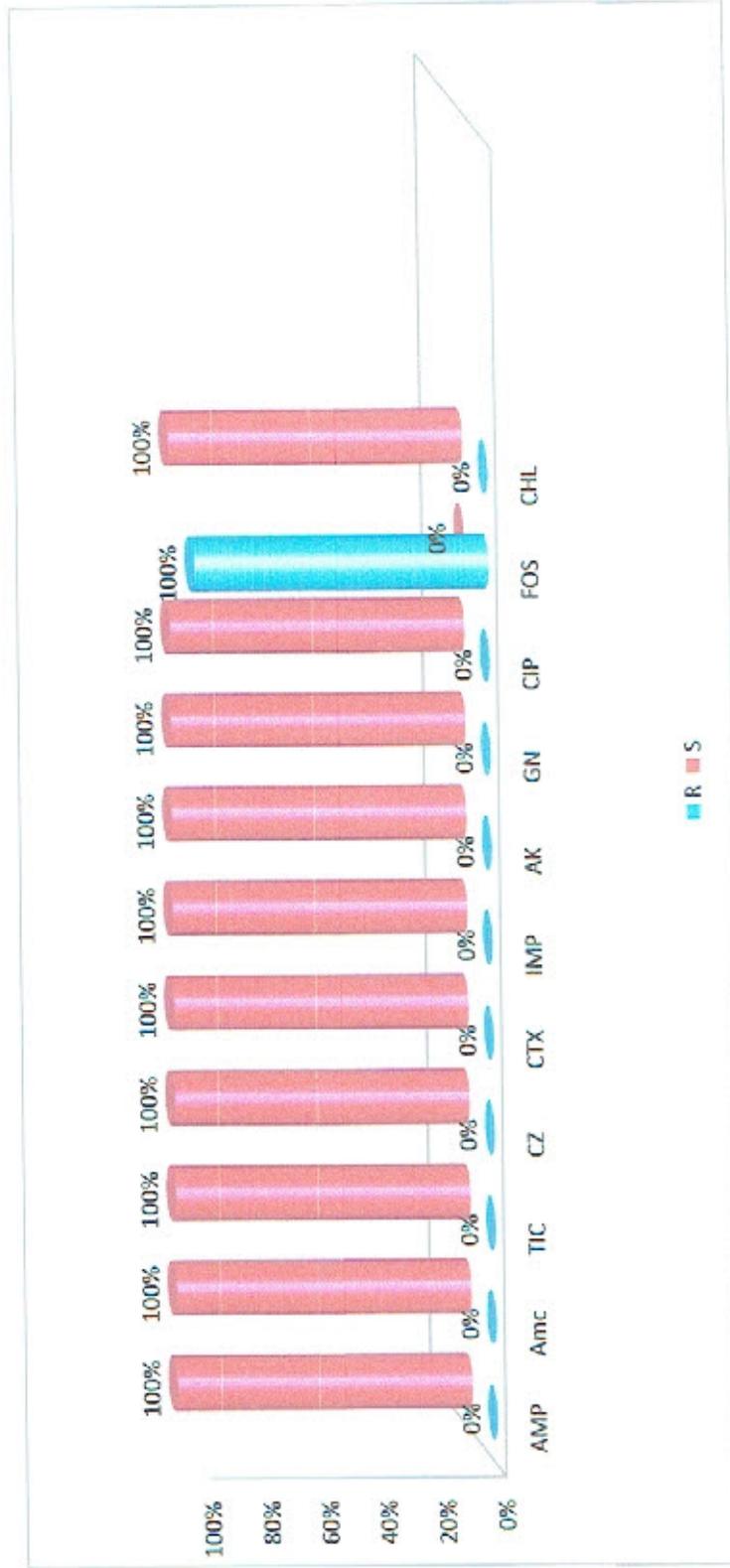


Figure N°24 : Profil antibiotique de *Klebsiella pneumoniae*



Figure N° 25: Profil antibiotiques de *Klebsiella oxytoca*

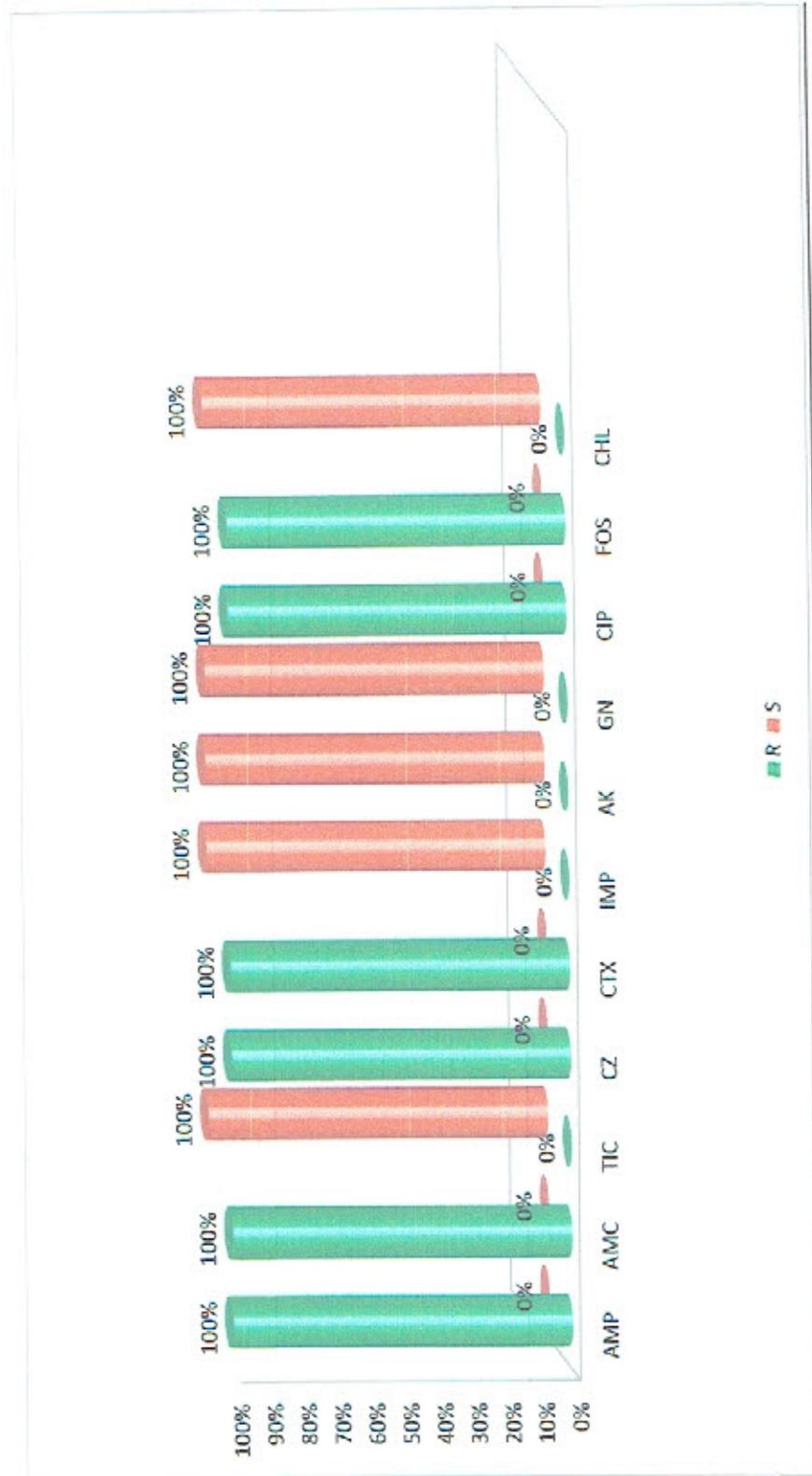


Figure N°26 : Profil antibiotiques d'Escherichia coli

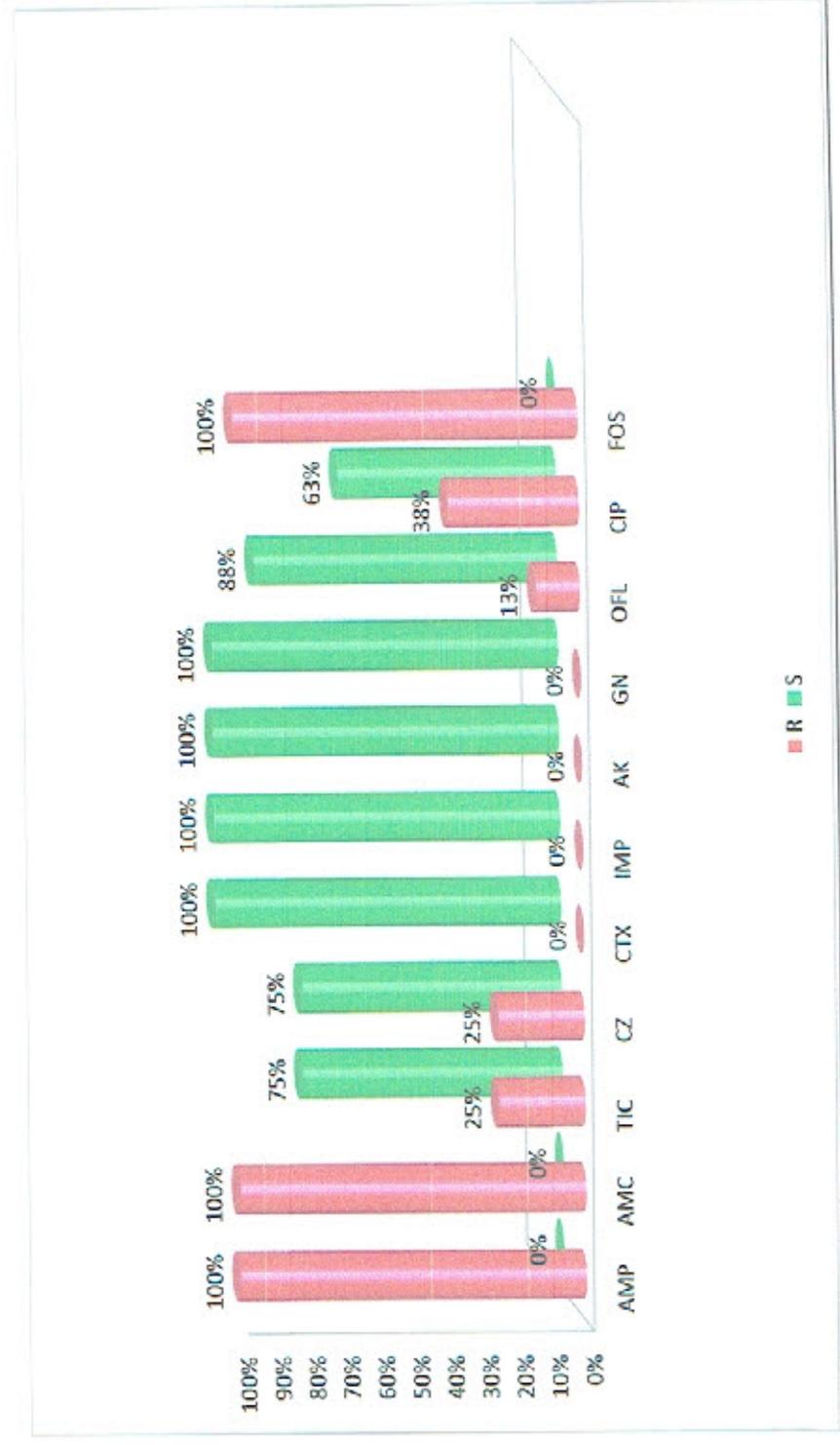


Figure N°27 : Profil antibiotique de *Proteus vulgaris*.

### 1. Prélèvements positifs

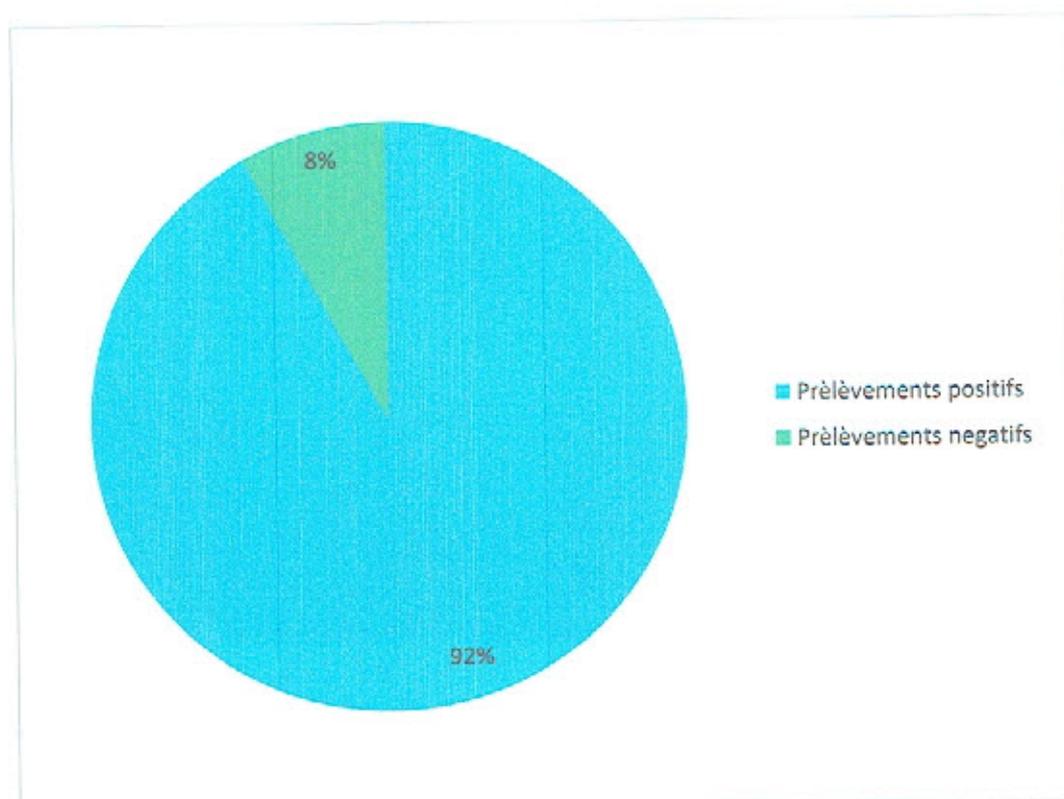


Figure N°15 : Pourcentage des prélèvements positifs.

Sur les 50 prélèvements colligés durant la période d'étude, 46, soit 92% se sont révélés positifs.

## 2. Le pourcentage d'entérobactéries

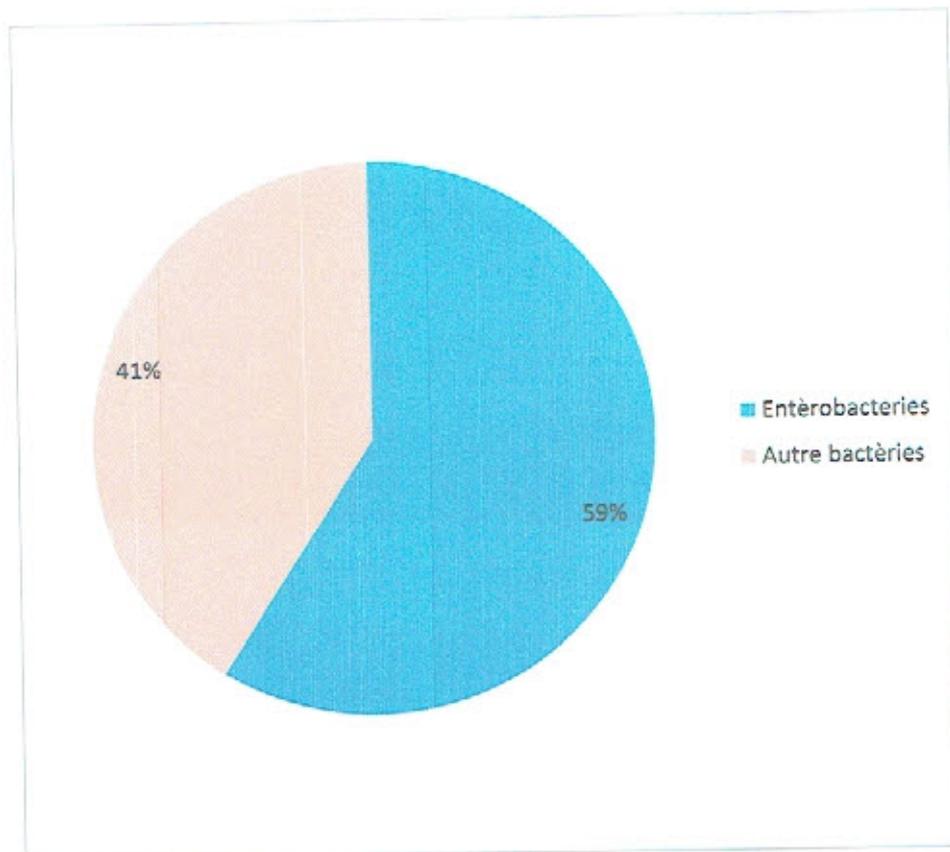


Figure N°16 :prelevements positifs à enterobacteries.

Sur le total de prélèvements positifs, les entérobactéries représentent 59% des isolats.

### 3 .Taux d'infections

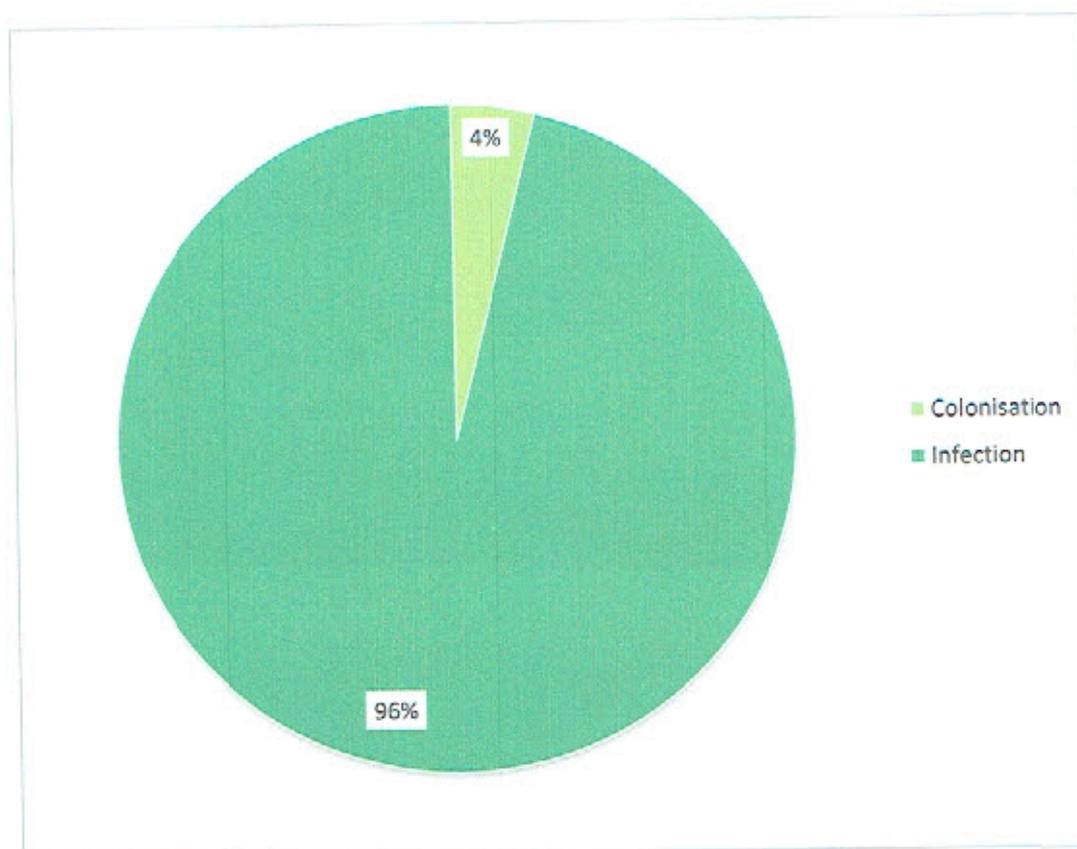


Figure N° 17 :cas d'infection.

Sur l'ensemble de prélèvements positifs, nous avons enregistré 46 cas d'infections, ce qui correspond à un pourcentage de 96% . Deux cas de colonisation , soit 4% ont été enregistrés , ces cas correspondent à une culture positive et un examen direct négatif.

## 4. Fréquence des genres d'enterobacteries

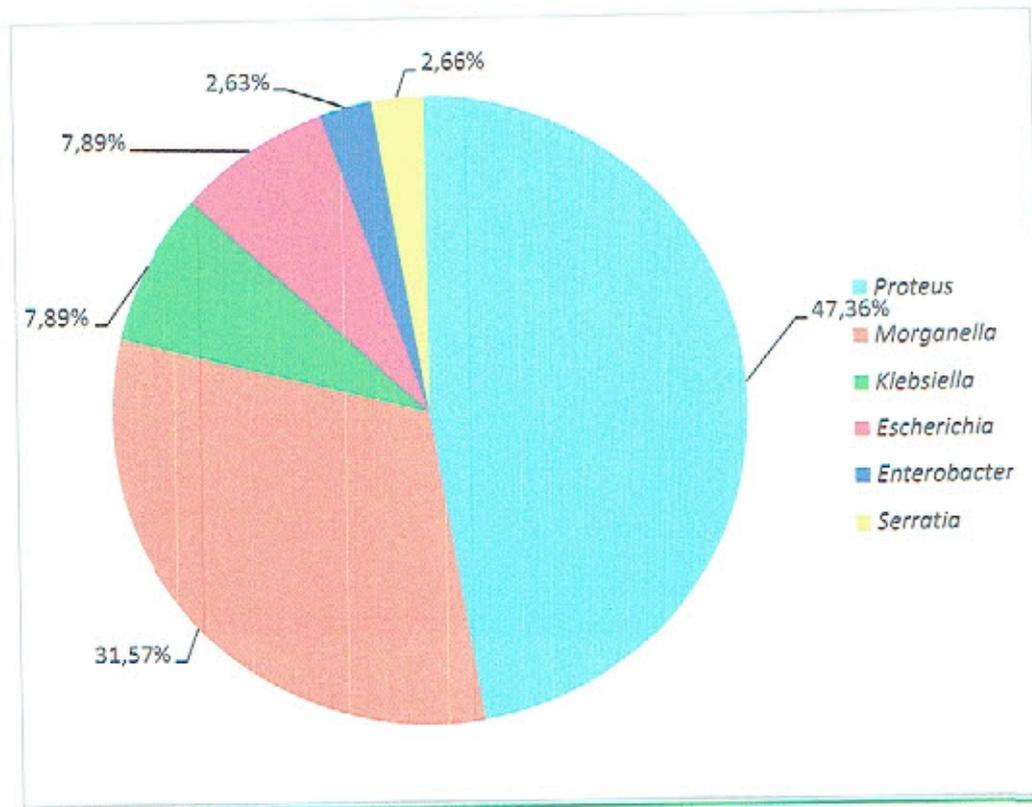


Figure N°18 : Fréquences des genres d'entérobactéries .

Sur les 46 prélèvements positifs, 5 genres d'entérobactéries ont été identifiés, il s'agit de :

*Proteus* (47,36%), *Morganella* (31,57%), *klebsiella* (7,89%), *Escherichia* (7,89%) et enfin *Enterobacter* et *Serratia* avec (2,63%) chacun.

## 5. Fréquence des espèces d'entérobactéries

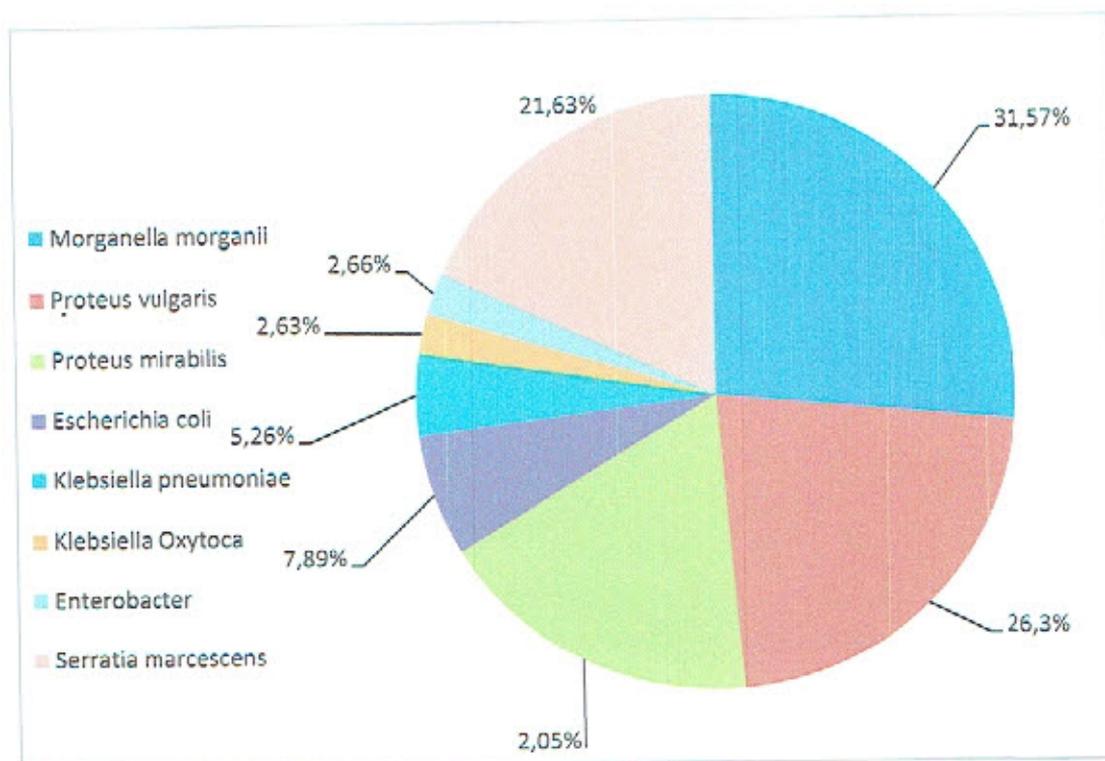


Figure N°19: Fréquences des espèces d'entérobactéries.

Dans notre étude, les espèces d'entérobactéries les plus souvent isolées sont par ordre de fréquence : *Morganella morganii* (31.57%), *Proteus vulgaris* (26,3 %), *Proteus mirabilis* (21,05%), *Escherichia coli* (7,89 %), *klebsilla pneumoniae* (5,26 %), *klebsilla oxytoca*, *Serratia marcescens* et *Enterobacter cloacae* avec le même pourcentage (2,63%).

## 6. Fréquence des infections mixtes:

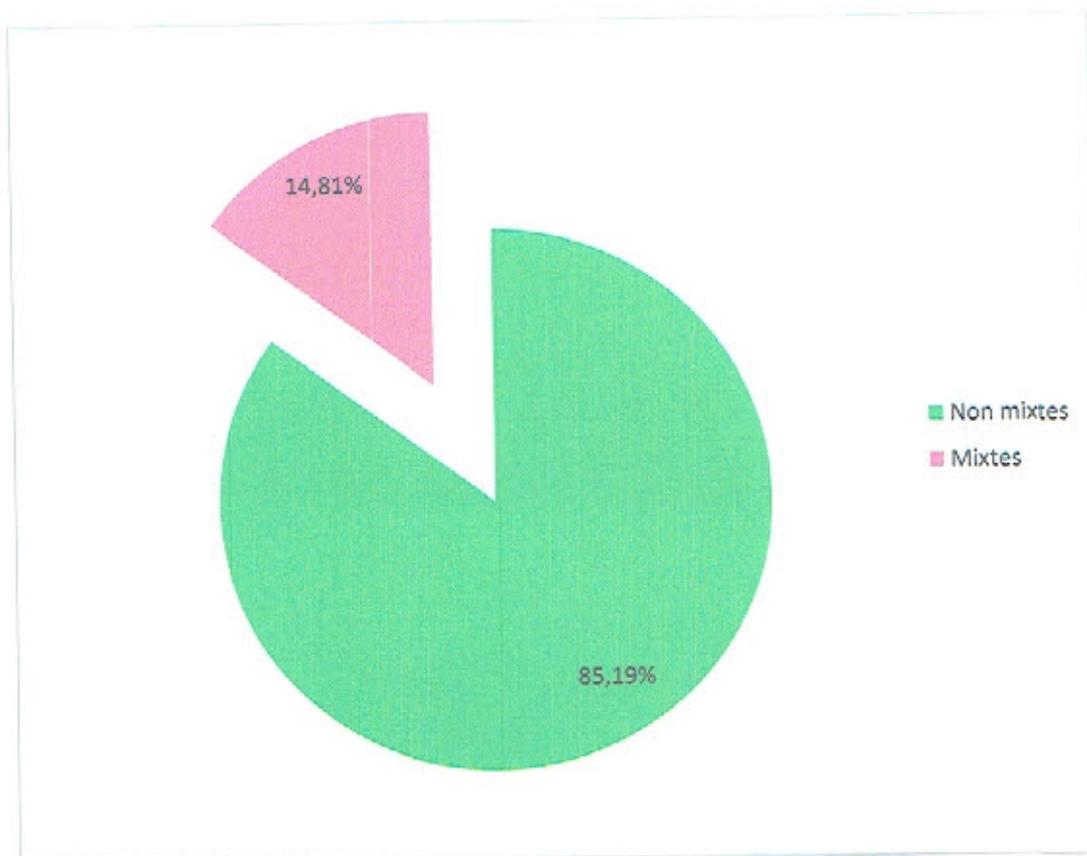


Figure N°20: Fréquences des infections mixtes.

Dans 14,81% des cas, l'infection du pied diabétique est mixte c.à.d. à 2 germes associés.

- *Citrobacter freundii* avec *Morganella morganii*.
- *Proteuse mirabilis* avec *Pseudomonas aerogenosa*.
- *Staphylococcus aureus* avec *Serratia marcescens*.
- *Morganella morganii* avec *Streptococcus sp*

# Discussion

# Références bibliographiques

### Discussion des résultats

Cette étude est réalisée pour déterminer la flore bactérienne responsable des infections du pied diabétique afin de déduire l'antibiothérapie adéquate de première intention adéquate ou rectifier celle en cours, et tout cela a pour but majeure la réduction de risque d'amputation.

L'ulcère du pied diabétique est une problématique fréquente dont la prévalence au cours de la vie est de 25 %. Une infection complique l'ulcère dans près de 50 % des cas. (51)

Dans notre étude étalée sur 6 mois réalisée à l' HMRUC, le taux d'infection du pied diabétique est de 46%. Cette infection est souvent le déclencheur d'une cascade menant à l'amputation, 2 cas d'amputations, soit 25% ont été enregistrés durant la période d'étude.

Ce taux est proche de celui de Larsson (52) et d'Uthner (53) en Suède avec respectivement 25,6 % et 27,6%, mais très inférieurs à celui d'Akanji (54) au Nigeria avec 50 % de patients amputés. Ces différences pourraient s'expliquer par l'état des lésions à l'admission des patients pour lesquels, l'amputation est la dernière alternative thérapeutique.

Ces infections surviennent sur un terrain de **poly neuropathie périphérique et d'insuffisance artérielle** impliquant une prise en charge difficile, multidisciplinaire.

La connaissance de la microbiologie de l'infection du pied diabétique est nécessaire à l'administration judicieuse d'une antibiothérapie empirique et ciblée. Les cocci à Gram positif sont le plus souvent en cause dans les infections communautaires avec *Staphylococcus aureus* comme chef de file, suivi par les streptocoques essentiellement *Streptococcus agalactiae* (*Streptocoque du groupe B*) (55).

Les infections modérées à sévères et les infections de plaies traumatiques sont souvent poly microbiennes, on y retrouve : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella sp*, *Pseudomonas aeruginosa*. Dans le cas de l'ostéomyélite, l'agent causal le plus fréquent reste *Staphylococcus aureus*, seul ou comme bactérie prédominante dans une infection poly microbienne (56).

Les résultats de notre étude montrent une légère discordance avec l'étude sus-citée avec une prédominance des entérobactéries :

*Morganella morganii*(31.57%),*Proteus vulgaris*(26.3%), *Proteus mirabilis*(21,05%),  
*Escherichia coli* (7,89%), *klebsiella pneumoniae*(5,26%), *klebsiella oxytoca*,  
*Serratia marcescens* et *Enterobacter cloacae* (2,63%) chacuns.

Nos données concordent parfaitement avec les études menées en Amérique du Nord et en Europe. En revanche, des études récemment réalisées dans des régions du globe à climat chaud (principalement en Inde, au Moyen-Orient et en Afrique montrent que *Staphylococcus aureus* est moins prévalent. (57)

Dans notre série, les infections mixtes représentent 14,81% des cas.

La prévalence d'isoler une bactérie multi résistante (BMR) a augmenté au niveau mondial au cours de la dernière décennie. (54)

Les infections à *Staphylococcus aureus* résistant à la meticilline (SARM), notamment communautaires, et celle à entérobactéries productrices de bêta lactamases à spectre élargi (EBLSE) ou de carbapénémases, sont un problème émergent et préoccupant (58).

Dans notre étude les EBLSE représentent 4,35%, elles gardent une sensibilité vis-vis des carbapénèmes dans 100% des cas.

Nos isolats résistent à l'ampicilline (100%), à l'amoxicilline-ac-Clavulanique (100%), a la ticarcilline (80%), et à la céfazoline (100%)

Les patients ayant un pied diabétique infecté sont de sexe masculin dans 92% des cas avec un sex-ratio de 12.5, ceci s'explique par le fait que la structure est militaire et que le recrutement est presque exclusivement masculin.

Le service pourvoyeur des souches isolées est la médecine interne renfermant l'unité du pied diabétique.

L'âge moyen de nos patients est de (63,64%).La tranche d'âge la plus représentative se situe entre 61 et 70 ans avec (29,63%), ceci est en rapport avec le profil de nos patients (jeunes militaires)

Le diabète de type 2 représente 63.62% des cas ceci est en total discordance avec les données de la littérature ou le diabète de type 2 prédomine nettement.



## Conclusion

L'infection du pied diabétique est une complication silencieuse du diabète mais grave. Sa prise en charge diagnostic et thérapeutique se fait souvent en retard justifiant encore le nombre important d'amputation chez des patients.

La prise en charge de cette infection est multidisciplinaire, selon plusieurs études, les microorganismes impliqués sont essentiellement ceux de la flore cutanée. D'après des études récentes les entérobactéries représentent l'étiologie la plus fréquente. Les résultats de notre étude montrent une légère discordance avec l'étude sus-citée avec une prédominance des entérobactéries : *Morganella morganii* (31,57%), *Proteus vulgaris* (26,3%), *Proteus mirabilis* (21,05%), *Escherichia coli* (7,89%), *klebsiella pneumoniae* (5,26%), *klebsiella oxytoca*, *Serratia marcescens* et *Enterobacter cloacae* (2,63%) chacuns.

La connaissance de la flore bactérienne de l'infection du pied diabétique permet des traitements ciblés et une meilleure prise en charge thérapeutique.

Pour protéger un pied diabétique potentiellement fragile, c'est d'abord le prendre en compte et l'évaluer dans sa réalité quotidienne, en ville comme en campagne, c'est également promouvoir des programmes d'éducation sanitaire concertés et évaluables, développer des unités de soins spécialisés dans le dépistage et le traitement des pieds diabétiques à risque, créer et encourager les patients à adhérer aux associations qui ont pour but d'informer, conseiller et responsabiliser le malade diabétique en insistant sur le point clé : le diabétique doit obligatoirement prendre ses pieds en main.

## Résumé

Parmi les complications du diabète, le pied diabétique infecté (PDI), est la conséquence la plus fréquente et la plus grave des pieds diabétiques, responsable de 50% des amputations.

Notre étude perspective et prospective s'est intéressée aux cas d'infections du pied diabétique.

Nous avons colligé 27 patients avec pied diabétique infecté, le nombre d'isolat est de 46. Les enterobacteries représentent 59% des isolats. La répartition par espèce montre la prédominance de *Morganella morganii* (31,57%), suivie par *Proteus vulgaris* (26,3%), *Proteus mirabilis* (21,05%), *Escherichia coli* (7,89%), *klebsilla pneumoniae* (5,26%), *klebsilla oxytoca*, *Serratia marcescens* et *Enterobacter cloacae* avec le même pourcentage qui est de 2,63%.

La résistance des entérobactéries à l'Amoxicilline était de 100%, à l'amoxicilline-ac-Clavulanique 100%, à la ticarcilline (80%) et a la céfazoline à (100%).

من بين مضاعفات مرض السكري نجد القدم السكري المتعفن وهو النتيجة الأكثر شيوعا و الاخطر بالنسبة للرجل السكري و المسؤول عن 50 بالمئة من عمليات البتر.  
تهدف دراستنا الى البحث عن اهم أنواع البكتيريا ( انتيرو بكتيريا ) تواجدا بالقدم السكري ومدى حساسيتها للمضادات الحيوية من اجل وصف مضادات حيوية فعالة وتفاذي خطر البتر .  
يتعلق الامر بدراسة استطلاعية التي تهتم بالرجل السكري المتعفن.  
قمنا بجمع 27 مريضا يعانون من القدم السكري المتعفن. عدد البكتيريا المعزولة هو 46. تمثل انتيرو بكتيريا 59 بالمئة و اظهر التوزيع حسب الانواع غلبة مورغانيللا مرغاني 31.57 بالمئة وتليها بروتيوس فولغاغيس 26.3 بالمئة بروتيوس ميغابليس 21.05 بالمئة اشيريشيا كوللي 7.89 بالمئة كليسيلا بنوموني 5.26 بالمئة كليسيلا اغسطلوكا سيغاليا مرسيسونص و انتيروباكتار بنفس النسبة 2.63 بالمئة.

**Abstract**

Among the complications of diabetes, diabetic foot infection (PDI) is the most common consequence and most severe diabetic foot, responsible for 50% of amputations.

Our perspective and prospective study examined the cases of diabetic foot infections.

We collected 27 patients with infected diabetic foot, the number of isolates of enterobacteria 46. 59% of the isolates. The breakdown by species shows the predominance of *Morganella morganii* (31.57%), followed by *Proteus vulgaris* (26.3%), *Proteus mirabilis* (21.05%), *Escherichia coli* (7.89%), *klebsilla pneumoniae* (5.26 %), *klebsilla oxytoca*, *Serratia marcescens* and *Enterobacter cloacae* with the same percentage is 2.63%.

The resistance of the enteric Amoxicillin was 100%, amoxicillin-clavulanic ac-100%), ticarcillin (80%) and to cefazolin (100%).



**Annexe 3 : Table de lecture 9 : valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Entérobactéries*.**

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critique (µg/ml)			Commentaire
		R	I	S	R	I	S	
Ampicilline	10 µg	≤ 13	14-16	≥ 17	≥ 32	16	≤ 8	La réponse à l'ampicilline est valable pour l'amoxicilline.
Amoxicilline-ac-Clavulanique	20/10 µg	≤ 13	14-17	≥ 18	≥ 32/16	16/8	≤ 8/4	Les break point des céphalosporines et de l'Aztreonam ont été révisés en fonction des propriétés PK-PD et des données clinique .Ainsi, l'application de ces break point dépend du respect de posologie précises : cefazoline (2g toutes les 8h), cefotaxime (1g toutes les 8h),ceftriaxone (1g toutes les 24h)....
Céfazoline	30 µg	≤ 19	20-22	≥ 23	≥ 8	4	≤ 2	Suite à la révision des break points des céphalosporines, la lecture interprétative anciennement basée sur la détection ou non d'une EBLSE, n'est plus nécessaire.
Céfalexime	30 µg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	La repense R , I ou S se fait en se référant aux seuls diamètres mesures. A souligner cependant que la détection phénotypique de la BLSE garde toute son intérêt dans les études épidémiologiques et en hygiène hospitalière
Céfoxitine	30 µg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critique (µg/ml)			Commentaire
		R	I	S	R	I	S	
Céfotaxime	30 µg	≤ 22	23-25	≥ 26	≥ 4	2	≤ 1	
Céftriaxone	30 µg	≤ 19	20-22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1	
Imipénème	10 µg	≤ 19	20-22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1	Les break point des carbapénèmes ont été révisés en fonction des propriétés PK-PD et des données cliniques. L'application de ces break point dépend du respect des posologies suivantes : Imipénème : 500 mg toutes les 6h ou 1 g toutes les 8h . Ertapénème : 1 g toutes les 24h ,Méropénème : 1g toutes les 8h.
Ertapénème	10 µg	≤ 19	20-22	≥ 23	≥ 1	0,5	≤ 0,25	La détection phénotypique d'une carbapénémase par le test MHT est réservée aux études épidémiologiques .
Amikacine	30 µg	≤ 14	15-16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16	
Gentamicine	10 µg	≤ 12	13-14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)				CMI critique (µg/ml)				Commentaire
		R	I	S	R	I	S	R	I	
Acide nalidixique	30 µg	≤ 13	14-18	≥ 19	≥ 32	.....	≤ 16	La sensibilité diminuée aux fluoroquinolone est détectée chez les salmonelles isolées d'infections extra-intestinales en testant l'Acide nalidixique a l'antibiogramme.		
Ciprofloxacine	5 µg	≤ 15	16-20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1			
Chloramphénicol	30 µg	≤ 12	13-17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	Ne pas tester en routine sauf pour les salmonelles.		
Colistine	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....			
Furants	300 µg	≤ 14	15-16	≥ 17	≥ 128	64	≤ 32	Ne tester a l'antibiogramme que pour le but diagnostique.(résistance si culture au contact du disque ou présence d'une cocarde).		
Fosfomycine	200 µg	≤ 12	13-15	≥ 16	≥ 256	128	≤ 64			
Triméthoprime-Sulfaméthoxazoc	1,25/3 ;75µg	≤ 10	11-15	≥ 16	≥ 476	.....	≤ 2/38	Indique uniquement pour les souches d'E. coli isolées d'infections urinaires. La CMI est déterminer par la technique de dilution en gélose supplémentée de 25 µg/mlde glucose- 6-phosphate		

Souche de contrôle de qualité (Entérobactérie) : *Escherichia coli* ATCC25922.

## Annexes 1 :Fiche de renseignement clinique

fiche de renseignement pour les sujets présentant un pied diabétique

NOM: .....

PRENOM : .....

IPP: .....

NUMERO DE DEMANDE:.....

NUMERO DE DOSSIER:.....

AGE: .....

SEXE: M  F

ETAT MATRIMONIAL: .....

PROFESSION: .....

NIVEAU SOCIO-ECONOMIQUE: .....

NIVEAU SOCIO-CULTUREL: .....

ATCD : PERSONNEL

Médicaux:.....

Chirurgicaux:.....

FAMILIAUX:.....

TYPE DE DIABETE: .....

DATE DE DECOUVERTE DE DIABETE: .....

TARES ASSOCIEES:.....

TRAITEMENT-DIABETE (DATE DE DEBUT): .....

Régime alimentaire  antidiabétiques oraux  insuline

MOTIF D'HOSPITALISATION: .....

SYMPTOMATOLOGIE: .....

COMPLICATIONS DE DIABETE: NEUROPATHIE

MACROANGIOPATHIE

NEPHROPATHIE

RETINOPATHIE

ACTEURS DE RISQUE

HTA

TABAGISME

DYSLIPEDIMIE

ALCOOLISME

HYPERCHOLESTEROLEMIE

EXAMEN A L'ADMISSION:

Délai de consultation (jours): .....

Statut infectieux : .....

Score de Wagner : .....

EXAMENS COMPLEMENTAIRES:

Biochimie

Glycémie (g/l): .....

CRP : .....

Hémoglobine

Hb glyquée : .....

Imagerie : .....

Bactériologie

Bactérie1 : .....

Identification 1 : .....

Antibiogramme 1 : .....

Bactérie2 : .....

Identification 2 : .....

Antibiogramme 2 : .....

Bactérie 3 : .....

Identification 3 : .....

Antibiogramme 3 : .....

TRAITEMENT:

Médical: .....

Chirurgical: .....

DUREE D'HOSPITALISATION (jours): .....

Annexe 2 : Exemple de Résultats des lectures des antibiogrammes

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
 MINISTÈRE DE LA DÉFENSE NATIONALE  
 5<sup>e</sup> RÉGION MILITAIRE  
 HOPITAL MILITAIRE REGIONAL UNIVERSITAIRE  
 BENBAATOUCHE ABDELALI DE CONSTANTINE  
 LABORATOIRE CENTRAL - UNITÉ DE MICROBIOLOGIE  
 Poste : 50-449

Nom : *Benouir* Prénom : *Mohamed* Age :  
 Nature du Prélèvement : *Pus diabétique* Service : *MI* N° : *1681*  
 DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE : *Morganella morganii*  
 Phénotype de résistance :

**ANTIBIOGRAMME POUR ENTEROBACTERIES**

PENICILLINES		AMINOSIDES	
Ampicilline		Amikacine	<i>(non testé)</i>
Amoxicilline	<i>12 R</i>	Gentamicine	<i>30 S</i>
Amoxicilline - ac. clavulanique	<i>23 R</i>	Tobramycine	
Ticarcilline	<i>28 S</i>	QUINOLONES / FLUOROQUINOLONES	
Pipéracilline		Acide nalidixique	
CEPHALOSPORINES		Norfloxacine	
Céfazoline		Ofloxacine	
Céfalotine/Céfalexine	<i>6 R</i>	Ciprofloxacine	<i>27 S</i>
Cefoxitine		DIVERS	
Céfotaxime		Colistine	
Ceftriaxone	<i>30 S</i>	Triméthoprim- Sulfaméthoxazole	<i>6 R</i>
Céfixime	<i>30 S</i>	Furanes	
Céfépime		Fosfomycine	<i>21 S</i>
Cefpirome		Chloramphénicol	
CARBAPENEMES			
Imipénème			
Ertapénème	<i>26 S</i>		

S : Sensible, I : Intermédiaire, R : Résistant

Constantine le : *26 . M . 017*

**LE MEDECIN**  
*[Signature]*

## Bibliographie

1. **Froguel P ;Passa P** ;Diabète et hérédité. Rev Med Interne 1991;12:123-127.
2. **King H, Rewers M**;Diabetes in adults is now a Third World problem;Bull World Health Oman 1991 ;69(6):643-648.
- 3.**Monabeka H.G** ;Nsakala-kibangouAspects épidémiologiques et cliniques du pieddiabétique au CHU de Brazzaville ;Bull Soc Pathol Exot 2001; 94n°3:246-248.
4. **Ball G.J, Harding K.G;LipskyB.A**.Foot infections in diabetic patients: an overview of the problem;Clinical infectious Diseases 2004; 39: s71-s73.
5. **ASHFORD RL, MC GEE P;KINMOND K**;Perception of quality of life by patients with diabetic foot ulcers.The diabetic foot 2000, 3: 150-155.
6. Organisation Mondiale de la Santé ;2013.  
[http://www.who.int/topics/diabetes\\_mellitus/fr/](http://www.who.int/topics/diabetes_mellitus/fr/)
7. **Dr. Malgrange** ;Physiopathologie du pied diabétique ; Servie de Médecine interne, ;CHU Reims.  
La revue de médecine interne 29 (2015) S231-S237.
8. **Gin H** ;Infection et diabète ;*Rev Med Inteme* 1993;14(1):32-38.
- 9.**P Vexiau et D Acker** ;guide pratique de podologie ; denispothier,ISBN2-7605-1202-9\*D1202N 2013.

## Références bibliographiques

---

10. **J-C Chanussot**;Le pied diabétique infecté; (P 1; 2) ; Ed. Masson 2006.
11. **Dr. Malgrange** ;Physiopathologie du pied diabétique ;Servie de Médecine interne, CHU Reims.  
La revue de médecine interne 29 (2008) S231-S237.
12. [http://sante-medecine.journaldesfemmes.com/faq/42617-pied-de-charcot-definition#simili\\_main](http://sante-medecine.journaldesfemmes.com/faq/42617-pied-de-charcot-definition#simili_main).
13. **Akanji AO, Famuyiwa , Adetuyibi A.Q J Mec** ;Factors influencing the outcome of treatment of les ions in nigerian patients with diabetes mellitus ;1999; 73(271): 1 005-1 014.
14. **Leutenegger M, Pasqual C** ;les lésions des pieds chez les diabétiques. Dans:Tchobroutsky G et al, eds ;Traité de diabétologie ;Editions Pradel ;1990:581-587.
15. **Lipsky BA, Berendt AR, Embil J, De Lalla F**;Diagnosing and treating diabetic foot infections;Diabetes Metab Res Rev 2004;20:S56–64.
16. **Ha van G** ;infection du pied diabetique ;in le pied diabetique .2008, Elsevier masson :paris ;P128-145.
17. **Senne ville E** ;infection et pied diabetique ;la revue de médecine interne ;2008.29 :P.S243-S248.
18. **Meyer R,Kessler** ;le pied diabetique .la lettre du rhumatologue ; 2000.264 :.24-35.
19. **Boutoille D,Leautez S, Maulaz.D,Krempf M,Raffi F** ;les ulceres du pied diabetique :epidemiologie te physiopathologie ;La press medical ; 2000 .29(7) :p389-92.

## Références bibliographiques

---

20. **Pin C, Peter R.B, Philip J** ;Evaluation et prise en charge du pied diabétique ;Revue Medicale Suisse ,2002.560.
21. **Van Acker K .Vandeleene B.Vermassen F.Leemrjis T** ;infection ,in prise en charge du pied diabétique dans un centre specialise ; A.D.Coker ; Editor.2008.P.50-62.
- 22.**Edmonds, M. et al**;A Practical Manual of Diabetic Foot Care, Blackwell Science, Oxford 2004. -Registered Nurses' Association of Ontario 2005. Assessment and management of foot ulcers for people with diabetes;Toronto, Canada: Registered, Nurses' Association of Ontario.
- 23.**Eneroth M, Apelqvist J, Stenstrom A**;Clinical characteristics and outcome in 223 diabetic patients with deep foot infections;Foot Ankle Int1997;18:716–22.
24. **Med Mal Infect** ;2000;Conférence de consensus ; Érysipèle et fasciite nécrosante 30: 241–5.
25. **DR Bouzid Madani** ; journee de UMA ;2016.
- 26.International Working Group on the Diabetic Foot;Progress Report: Diabetic Foot Ulcer Classification System for Research Purpose. In: International Consensus on the Diabetic Foot, Noordwijkerhout, June 2003.
- 27.International Working Group on the Diabetic Foot;International consensus on the diabetic foot [CD-ROM];2003. In: International Diabetes Foundation; Brussels. <http://www.iwgdf.org>.

## Références bibliographiques

---

28. **Ha van G** ; infection du pied diabetique ; in le pied diabetique ;2008 Elsevier masson ;paris .P128-145.
29. **Senne ville E** ;infection et pied diabetique.la revue de médecine interne ; 2008.29 :P.S243-S248.
30. **Rev Med Brux** ;Dumont, the diabetic foot : the Cinderella of complications ;2010.31;P3917.
31. **Meyer R,Kessler** , le pied diabetique .la lettre du rhumatologue ,2000.264 :.24-35.
32. **Boutoille D,Leautez S, Maulaz.D,Krempf M,Raffi F** ;les ulceres du pied diabetique :epidemiologie te physiopathologie.La press medical ; 2000.29(7) :P389-92.
33. **O ,Debure .C** ;pied diabetique, in EMC(Elsevier masson SAS, Paris),Dermatologie2011.
34. **Pin C, Peter R.B,Philip J** ;Evaluation et prise en charge du pied diabetique ;Revue Medicale Suisse ,2002.560.
35. **Van Acker K .Vandeleene B.Vermassen F ;Leemrjis T** ;infection ,in prise en charge du pied diabetique dans un centre specialise ; A.D ; Coker,Editor 2008.P.50-62.

## Références bibliographiques

---

36. LIPSKY BA, DEERY HG, EMBIL JM, JOSEPH WS, KARCH-MER AW, LEFROCK JL, LEW DP, MADER JT, NORDEN C, TAN JS; Diagnosis and treatment of diabetic foot infections, *Clin.Infect;Dis.*, 2004, 39, 885-910 .
37. *Rev Med Brux* ;Dumont, the diabetic foot : the Cinderella of complications .,2010.31;P45,47.
- 38.Ha Van G ;Infection du pied diabetique. In Ha Van G ;Le pied diabetique. Abrege ;Elsevier Masson SAS Ed. 2008 p : 129-145.
- 39.BAKHOUM I ;Contrôle de qualité et validation de différente microméthodes d'identification bactérienne. *Thèse Pharm* ;2004. n° 8.
- 40.BOSSERT I. D., YOUNG L.Y;Anaerobic oxidation of paracresol by a denitrifying bacterium.*Applied and environmental Microbiology*;1986, 52 (5): 1117-1122.
41. DRAME B ;Microméthode d'identification et d'étude de la sensibilité des entérobactéries: Intérêts thérapeutiques. *Thèse Pharm.*, Dakar, 2001 ; n° 86.
42. LE MINOR L.VERON N ;Bactériologie Médicale *Flam Med. Science*, Paris, 1989 : 333-318 ; 773-823.
43. Eisenstein B, Zaleznif D;Enterobacteriaceae. In : Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, Vol 2. 5<sup>th</sup> edition, Churchill Livingstone. 2000 : 2294-2310.

## Références bibliographiques

---

44. **CARBONNELLE B., DENIS F., MARMONIER A., PINON G, VARGUES R** ;Bactériologie Médicale : Techniques usuelles. *SIMEP SA*, Paris, 1987 : 121-137 ; 146-155.
45. **PILET C., BOURDON J.L., TOMA B., MARCHAL N., BALBASTRE C** ;Les entérobactéries. Bactériologie médicale et vétérinaire : systématique bactérienne ;*Doins*, Paris, 1979: 109-187.
46. **P.R. Murray, E.J. Baron, M.A.Pfatter, Tenoven F.C. and R.H. Yolken (eds)***FARMER Enterobacteriaceae* : Introduction and identification In : Manual of clinical Microbiology.
47. *American Society for Microbiology*, Washington DC, 1999:442-458.
48. **JANDA J. M. and ABBOTT S. L.** Historical perspectives on the family *Enterobacteriaceae*. In the *Enterobacteriaceae Lippincott Raven Publishers*, Philadelphia 1998 : 1-7.
49. **Livermore DM, Yuan M.** Antibiotic resistance and production of extended-spectrum beta-lactamases amongst *Klebsiella* spp. from intensive care units in Europe. *J Antimicrob Chemother.* 1996 Sep;38(3):409-24.
50. **Turco V.J;**Surgical correction of the resistant;Congenital clubfoot, one stage poster medial release with internal fixation A follow-up report of a fifteen year experience. *J. Bone joint surg*, 1979, 61-A: 80514.
51. **A l-Mayahi M, Cian A, Kressmann B, etal** ; Associations of diabetes mellitus with orthopaedic infections ; *Infect Dis (Lond)* 2016;48:70-3

## Références bibliographiques

---

52. **Iarsson J, Apelqvist J, Castenfors J, Agardh C-D, Stenstrom A** ;Distal blood pressure as a predictor for the level of amputation in diabetic patients with foot ulcer ; *Foot Ankle* 1993;14(5):247-253.
53. **Lithner FI Tombiom N** ;Gangrene localized to the feet in diabetic patients ; *Acta Med Scand* 1984;215(1):75-79.
54. **Akanji AO, Famuyiwa OO, Adetuyibi A** ;Factors influencing the outcome of treatment of lesions in Nigerian patients with diabetes mellitus ; *Q J Med* 1989; 73(271): 1 005-1 014.
55. **Darbelay P, Uçkay I, Dominguez D, et al** ;Traitement du pied diabétique infecté : une approche multidisciplinaire par excellence. *Rev Med Suisse* 2011;7:894-7.
56. **Lipsky BA, Berendt AR, Cornia PB, et al**. 2012 Infectious Diseases Society of America clinical practice guideline for the diagnosis and treatment of diabetic foot infections. *Clin Infect Dis* 2012;54:132-73.
57. **araiya AY , Dogra JD, Kulkarni MH, et al** ;Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in diabetic foot infections. *Indian J Pathol Microbiol* 2008;51:370-2.
58. **S hanmugam P, Susan SL** ;The bacteriology of diabetic foot ulcers, with a special reference to multidrug resistant strains ;*J Clin Diagn Res* 2013;7:441-5.

Année universitaire : 2015/2016

Présenté par : Berrahma Racha  
Mouellef Amel  
Derici Selma

## La flore bactérienne (Entérobactéries) du pied diabétique infecté.

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en : Ecologie Microbienne

Parmi les complications du diabète, le pied diabétique infecté (PDI), est la conséquence la plus fréquente et la plus grave des pieds diabétiques, responsable de 50% des amputations.

Notre étude perspective et prospective s'est intéressée aux cas d'infections du pied diabétique.

Nous avons colligé 27 patients avec pied diabétique infecté, le nombre d'isolat est de 46. Les enterobacteries représentent 59% des isolats. La répartition par espèce montre la prédominance de *Morganella morganii* (31,57%), suivie par *Proteus vulgaris* (26,3 %), *Proteus mirabilis* (21,05%), *Escherichia coli* (7,89 %), *klebsilla pneumoniae* (5,26 %), *klebsilla oxytoca*, *Serratia marcescens* et *Enterobacter cloacae* avec le même pourcentage qui est de 2,63%.

La résistance des entérobactéries à l'Amoxicilline était de 100%, à l'amoxicilline-ac-Clavulanique 100%), à la ticarcilline (80%) et a la céfazoline à (100%).

**Mots clés :** Diabète, Pied Diabétique, L'infection du pied diabétique, La Microbiologie du pied diabétique infecté.

**Laboratoire de recherche :** L'hôpital militaire de Constantine.

Jury d'évaluation :

Président du jury :	Mr S.Hanniche	(M.A.A UFM Constantine)
Rapporteuse :	Mme M.Benkahoul	(M.A.A UFM Constantine)
Examinatrice :	Melle I.Merian	(M.C.B UFM Constantine)
Co-encadreur :	Mme Ouchnane	(Prof UFM Constantine)