



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

**UNIVERSITE ABBES LAGHROUR KHENCHELA FACULTE
DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE**

MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme

de

MASTER

FILIERE : Biologie

OPTION: Microbiologie générale

Thème

*Microbiologie des lésions infectées du pied chez
des diabétiques de la wilaya de Khenchela*

Présenté par : LAHOUEL

Soumia ZEDIRA Zine El

Abidine

Encadré par :

CHORFI K.

Soutenu le 14/06/2015

Jury de soutenance :

Président : M^{me} BENDJEMANA K. (M.C)

Univ. Abbès Laghrouour – Khenchela

Encadreur : M^{elle} CHORFI K. (M.A.B)

Univ. Abbès Laghrouour – Khenchela

Examineur : M^{elle} YAKHLEF W. (M.A.B)

Univ. Abbès Laghrouour – Khenchela

Examineur : M^{elle} LABANI Fatima Z. (M.A.B)

Univ. Abbès Laghrouour – Khenchela

Promotion : juin 2015

**Le travail a été réalisé dans l'établissement public hospitalier Ahmed Ben Bella de la
wilaya de Khenchela**

Remerciements

Nous adressons en premier lieu notre reconnaissance à notre DIEU tout puissant, qui nous a aidé et nous a donné la patience et le courage durant ces longues années d'étude, car sans lui rien n'est possible.

*Nous adressons en premier nos remerciements à **M^{me} Bendjemana K.** Maître de conférences à l'université Abbes Laghrour, khenchela. Merci de nous avoir fait l'honneur d'être le président du jury de ce mémoire.*

*Nous adressons aussi nos remerciements à **M^{elle} Labani Fatima Zohra.** Maître assistante à l'université Abbes Laghrour, khenchela. On vous remercie de nous avoir honorés par votre présence en tant qu'examineur.*

*Nos remerciements s'adressent au **M^{elle} Yakhlef W.** Maître assistante à l'université Abbes Laghrour Khenchela. On vous remercie de nous avoir honorés par votre présence en tant qu'examineur.*

*Nous tenons à exprimer notre gratitude et nos vifs remerciements à **M^{elle} Chorfi K.** notre promoteur de thèse pour avoir proposé et diriger ce travail et pour son aide, avec bienveillance et compréhension. Flexibilité et disponibilité ont été les qualités les plus marquantes au cours de cette collaboration. Vos qualités humaines rares, vos qualités professionnelles ont été un enseignant complémentaire pour notre vie professionnelle et privée. Que Dieu vous récompense.*

*Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire central de l'E.P.H Ahmed Ben Bella de la wilaya de Khenchela, nous tenons à remercier **M^r Remadnia Rachid** (chef de service) du laboratoire et tout le personnel pour nous avoir accueillis avec chaleur et sympathie surtout **Noussaïba, Raouia, Chamia, Bahi, et Soumia** merci à tous et à toutes.*

Nos remerciements et notre sympathie vont également aux employés de l'E.P.H Kais surtout ceux du service endocrinologie et diabétologie.

*Nos remerciements vont à tous nos enseignants de la Faculté des Sciences de la nature et de la vie et en particulier **Mr Hamada Yousef** doyen de la faculté.*

Enfin, nous remercions nos amis et camarades de promotion pour ces cinq années passées ensemble, dans les meilleurs moments comme dans les pires.

Dédicaces

À mes chers parents,

À mes chères sœurs, ainsi qu'à leurs maris, et leurs enfants,

À mes chers frères, ainsi qu'à leurs épouses, et leurs enfants,

À la mémoire de mes grands-parents,

À toutes les personnes que je porte dans mon cœur et qui se reconnaîtront car elles en

font autant

*Je vous dédie cette thèse en guise de reconnaissance car vous m'êtes si chères que je ne peux
que vous offrir ce que j'ai appris de mieux dans ma vie*

Soumia

Dédicaces

À Mon père qui m'a toujours aidé et soutenu, vous m'avez transmis l'amour de la science et du savoir

À Ma mère, merci pour tous tes sacrifices. Que dieu le tout puissant te protège et te garde en bonne santé.

À Ma femme qui m'a toujours encouragé.

À Ma très chère fille Aline.

À mes chères frères et sœurs.

A tous mes autres proches.

Zine El Abidine

Table des matières

Liste des tableaux.....	i
Liste des figures.....	ii
Liste des photographies	iii
Liste des abréviations	iv
Liste des annexes.....	vi

Revu bibliographique

Introduction.....	2
-------------------	---

Chapitre I : Le diabète

I. Le diabète	5
I.1. Définition.....	5
I.2. Epidémiologie.....	5
I.3. Classification du diabète.....	5
I.3.1. Diabète de type 1.....	6
I.3.2. Diabète de type 2.....	7
I.3.2.1. Physiopathologie.....	7
I.3.2.2. Les facteurs de risque.....	8
I.3.2.3. Signes cliniques.....	8
I.3.2.4. Dépistage.....	8
I.3.2.5. Traitement.....	9
II. Les complications du diabète.....	9
II.1. Les complications aiguës du diabète.....	9
II.1.1. Coma hyperosmolaire.....	9
II.1.2. Coma acidocétosique.....	9
II.1.3. Coma hypoglycémique.....	9
II.2. Les complications chroniques.....	10
II.2.1. Micro-angiopathie.....	10

II.2.1.1. La rétinopathie diabétique.....	10
II.2.1.2. La néphropathie diabétique.....	11
II.2.1.3. La neuropathie périphérique.....	11
II.2.1.4. Sensibilité liée aux infections.....	11
II.2.2. Macro-angiopathie.....	11
II.2.3. Le pied diabétique.....	12

Chapitre II : Lésions et infections du pied diabétique

I. Lésions et infections du pied diabétique.....	14
I.1. Définition.....	14
I.2. Prevalence.....	14
I.3. Facteurs déclenchant.....	16
I.4. Physiopathologie.....	17
I.4.1. La neuropathie.....	17
I.4.2. L'atteinte vasculaire (artériopathie).....	17
I.4.3. La réponse immunologique.....	18
II. La plaie chez le diabétique.....	18
II.1. Définition de la plaie.....	18
II.2. Pathogénie de la plaie chez le diabétique.....	19
II.3. Ecosystème d'une plaie chez le diabétique.....	19
II.4. L'infection du pied diabétique.....	20
II.5. Microbiologie des infections du pied diabétique.....	20
II.6. Les mycoses du pied diabétique.....	21
II.7. Classifications des plaies du pied diabétique.....	21
II.8. Critères de classification d'infection du pied diabétique.....	23
III. Examens biologiques.....	24
III.1. Examen bactériologique.....	24
III.2. L'antibiogramme.....	25
III.3. Autres examens complémentaires.....	26
IV. Les moyens de prévention.....	26
V. Traitement curatif.....	27

Matériels et méthodes

I. Caractéristiques générales du site d'étude.....	29
II. Méthodologie.....	29
II.1. Période et type de l'étude.....	29
II.2. Le recueil des données.....	29
II.3. Le prélèvement.....	30
III. Les paramètres microbiologiques.....	31
III.1. Ensemencement des milieux de culture.....	31
III.2. Biodiversité morphologique des isolats.....	31
III.2.1. Etude l'aspect macroscopique.....	31
III.2.1.1. Le principe de lecture sur gélose Hektoen.....	32
III.2.1.2. Le principe de lecture sur gélose Chapman.....	32
III.2.1.3. La lecture sur gélose Sabouraud.....	33
III.2.2. Etude de l'aspect microscopique.....	33
III.2.2.1. Coloration de gram.....	33
III.3. Les tests enzymatiques.....	34
III.3.1. La catalase.....	35
III.3.2. La coagulase.....	35
III.3.3. L'oxydase.....	35
III.4. Identification biochimique par galeries miniaturisées (système API).....	36
IV. Détermination des profils de résistance aux antibiotiques.....	36

Résultats et discussions

I. Résultats descriptifs.....	41
I.1. Répartition selon l'âge.....	41
I.2. Répartition selon le sexe.....	41
I.3. Répartition selon le type du diabète.....	42
I.4. Répartition selon les circonstances de découverte du diabète.....	43
I.5. Répartition selon l'ancienneté du diabète.....	44
I.6. Mode de survenue de la plaie.....	44
II. Résultats cliniques.....	45
II.1. Répartition selon le grade de la plaie.....	45

II.2. Répartition selon les cas d'amputation.....	46
III. Résultats paracliniques.....	47
III.1. Glycémie à l'admission.....	47
IV. Résultats bactériologiques.....	48
IV.1. Biodiversité morphologique des isolats.....	48
IV.1.1. Aspect macroscopique et microscopique des isolats.....	48
IV.2. Identification biochimiques sur galeries API 20 E.....	51
IV.3. Répartition des espèces identifiées.....	51
IV.4. Caractéristiques multi ou uni bactérienne de la flore identifiée	53
V. Antibiorésistance des espèces identifiées.....	54
V.1. Antibiorésistance des Entérobactéries.....	55
V.1.1. Multirésistance des entérobactéries.....	56
V.2. Antibiorésistance de <i>Staphylococcus aureus</i>	57
V.2.1. Multirésistance de <i>Staphylococcus aureus</i>	59
V.3. Antibiorésistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	60

Liste des tableaux

Tableau I : les facteurs déclenchant du pied diabétique.....	16
Tableau II : Principaux microorganismes responsables en fonction de la situation clinique..	21
Tableau III : Classification UT (Université du Texas).....	22
Tableau IV : une corrélation clinicobactériologique entre les types de plaies et les germes impliqués et identifiés.....	23
Tableau V : Classification de l'infection et la sévérité des plaies du pied diabétique.....	24
Tableau VI : L'aspect des microorganismes sur gélose Hektoen	32
Tableau VII : L'aspect des microorganismes sur gélose Chapman.....	33
Tableau VIII : Liste des antibiotiques testés pour les entérobactéries, charge et classification des disques.....	38
Tableau IX : Liste des antibiotiques testés pour les Staphylocoques, charge et classification des disques.....	38
Tableau X : Liste des antibiotiques testés sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> charge des disques et classification.....	39
Tableau XI : Répartition des patients selon le type du diabète.....	42
Tableau XII : L'aspect des lésions des pieds diabétiques infectées.....	45
Tableau XIII : La répartition des pieds diabétiques infectés selon les grades de la plaie.....	46
Tableau XIV : la répartition des patients selon l'amputation.....	46
Tableau XV : Observation des caractères cultureux et morphologique des bactéries isolées sur gélose Chapman.....	48
Tableau XVI : Observation des caractères cultureux et morphologique des bactéries isolées sur gélose Hektoen.....	50
Tableau XVII : Résultats de l'identification sur galerie API 20 E.....	52
Tableau XVIII : Classes de résistance des Entérobactéries obtenues après lecture de l'antibiogramme.....	55
Tableau XIX : Les taux de résistance des Entérobactéries aux antibiotiques.....	55
Tableau XX : Classes de résistance de <i>Staphylococcus aureus</i>	57
Tableau XXI : Les taux de résistance de staphylocoque aux antibiotiques.....	58

Liste des figures

Figure 01: Mécanismes physiopathologiques du diabète type 1.....	07
Figure 02 : Les principales complications du diabète.....	12
Figure 03: la fréquence d'amputation du membre inférieur du corps chez les diabétiques.....	16
Figure 04: la physiopathologie du pied diabétique.....	18
Figure 05 : plaie colonisée et plaie infectée.....	20
Figure 06: Choix des prélèvements en fonction du type de plaie chez un sujet diabétique....	25
Figure 07: Chaussure Ortho Wedge Darco de décharge de l'avant-pied (A). Bottes en résine fenêtrée (B).....	27
Figure 08 : Répartition des patients selon l'âge.....	41
Figure 09: Répartition des patients selon le sexe.....	42
Figure 10 : Répartition des patients selon le type du diabète.....	43
Figure 11 : Répartition des patients selon circonstance de découverte du diabète.....	43
Figure 12 : Répartition des patients selon l'ancienneté du diabète.....	44
Figure 13 : Répartition de 20 pieds diabétiques selon les grades de la plaie.....	46
Figure 14 : Répartition des patients selon l'imputation.....	47
Figure 15 : Le pourcentage des cultures positives pour les mycètes.....	50
Figure 16: Pourcentage des espèces bactériennes identifiées.....	51
Figure 17 : la répartition selon le caractère Multi ou Uni bactérien de la flore identifiée.....	53
Figure 18: Pourcentage d'isolats des entérobactéries résistantes à divers antibiotiques.....	56
Figure 19: Pourcentage d'isolats des entérobactéries résistants à au moins 2, 3, 5 et 7 antibiotiques.....	57
Figure 20: Pourcentage d'isolats de <i>Staphylococcus aureus</i> résistantes à divers antibiotiques	58
Figure 21: Pourcentage d'isolats de <i>Staphylococcus aureus</i> résistants à au moins 2, 3 et 5 antibiotiques.....	59

Liste des photographies

Photographie 01 : Technique de prélèvement de pus.....	30
Photographie 02 : Microscope Trinoculaire.....	34
Photographie 03 : Aspect macroscopique des souches isolées sur gélose Chapman.....	48
Photographie 04 : Aspect macroscopique des souches isolées sur gélose Hektoen.....	49
Photographie 05 : Aspect macroscopique des souches isolées sur gélose Sabouraud.....	50
Photographie 06 : Aspect des antibiogrammes obtenus.....	56

Liste des abréviations

°C : Degré Celsius
µg : Microgramme
ADH : Arginine dehydrolase
ADO: Les antidiabétiques oraux
AK : Amikacine
AMP : Ampicilline
API 20 E : Appareillage et Procédés d'Identification des Entérobactéries
API: Appareillage et procédé d'identification
AUG : Amoxicilline + Acide Clavulanique
AZT : Aztreonam
C : Chloramphénicol
CAZ : Céfatazidime
CD: Clindamycine
CIT : Citrate de sodium
Cm²: Centimètre carrée
CN : Gentamicine
CRP: Protein C-Reactive
CXT : Céfotaxime
DID: Diabète Insulinodépendant
DNID: Diabètes Non Insulinodépendant
E: Erythromycine
F : Furane
FOS : Fosfomycine
g : Gramme
GEL : Gélatine de Kohn
h : Heure
H²O: l'eau
H²O²: le peroxyde d'hydrogène (eau oxygéné)
H₂S : Thiosulfate de sodium
HPO: Hyperglycémie Provoquée par voie orale
IMI : Imipenème
IWGDF: Le consensus international sur le pied diabétique
KZ : Cefazoline
L : Litre
LDC : Lysine décarboxylase
min : Minute
ml : Millilitre
mm : Millimètre
mm³: Millimètre cube
mmHg: Millimètre de mercure
mmol: Millimole
MODY: Maturity Onset Diabetes of the Young
O₂ : Oxygène
ODC: Ornithine décarboxylase
OFX : Ofloxacin
OMS : L'organisation mondiale de la santé.
OX: Oxacilline

P : Pénicilline
pH : Potentiel hydrogène
PI : Pipracilline
s : Seconde
SXT : Sulfaméthoxazole + Triméthoprim
TE : Tétracycline
TEC : Teicoplanine
TIC : Ticarcilline
TOB : Tobramycine
UREE : Urée
VA : Vancomycine
VP : Voges-Proskauer

Liste des annexes

Annexe 01. Le traitement.

Annexe 02. Quelques conseils pour réserver le pied du patient diabétique.

Annexe 03. Classification de WAGNER.

Annexe 04. Tableau de lecture de la galerie miniaturisée API 20 E.

Annexe 05. Interface du logiciel d'identification API Excel.

Annexe 06. Résistances naturelles aux β lactamines des espèces de bacilles non exigeants.

Annexe 07. Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour Entérobactéries.

Annexe 08. Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Pseudomonas aeruginosa*.

Annexe 09. Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Staphylococcus spp.*

Annexe 10. Composition des colorants de gram.

Annexe 11. Composition des milieux de culture.

Annexe 12. Composition des additifs.

Annexe 13. Matériel et réactifs utilisés.

Introduction

Introduction

Le diabète est une maladie métabolique chronique qui se caractérise par une augmentation de la concentration du sucre dans le sang, ou Hyperglycémie (glycémie à jeun supérieure à 1,26 g/l ou 7 mmol/l au moins à deux reprises ou une glycémie aléatoire supérieure à 2 g/l). Cette hyperglycémie est la conséquence soit d'un défaut de sécrétion de l'insuline (diabète type 1), soit d'une diminution de son action (diabète type 2), soit de ces deux anomalies associées, sous l'influence de facteurs génétiques ou environnementaux.

Un diabète mal contrôlé est un état qui prédispose à la survenue de nombreuses autres pathologies. En effet, il se complique tôt ou tard d'atteintes vasculaire (rétrécissement du diamètre des artères), entraînant des risques de trouble cardiovasculaire (cardiopathie ou accident vasculaire cérébral), trouble visuel (rétinopathie diabétique), d'insuffisance rénale nécessitant une dialyse ou une transplantation et d'ulcère du pied (pied diabétique) pouvant aller jusqu'à l'amputation du pied ou de la jambe (15 fois plus de risques qu'un non diabétique). Souvent, le diagnostic du diabète n'est posé que lorsque le membre atteint de plaies peut avoir déjà perdu ses fonctions de façon irréversible. Le diagnostic et le suivi du diabète peuvent se faire en consultation de ville, mais la prise en charge d'une plaie chez un diabétique doit se faire en milieu hospitalier.

Le pied diabétique, selon le consensus international de 2007, est défini comme étant : toute infection, ulcération ou destruction des tissus profonds du pied associées à une neuropathie et/ou une artériopathie périphérique des membres inférieurs chez le diabétique. Les lésions du pied chez les diabétiques sont très fréquentes, le plus fréquemment provoquées par des traumatismes, souvent très minimes.

La plaie chez le diabétique est un fléau car elle occasionne fréquemment arrêt de travail, reclassement professionnel, invalidité, mais aussi un handicap et une dégradation du niveau de vie, et de la vie sociale du malade. Elle devient alors un véritable problème de santé publique par sa fréquence et sa gravité. C'est aussi une cause de souffrance, de morbidité et de mortalité, surtout les plaies chroniques qui sont l'apanage du patient diabétique. (**Andriamiandrisoa, 2010**).

L'Organisation Mondiale de la Santé estime à plus de 170 millions le nombre de diabétiques dans le monde, chiffre qui devrait doubler d'ici 2030. Environ 15% des diabétiques feront une plaie au cours de leur vie et 15% de ces patients subiront une amputation. On estime qu'en assurant une prise en charge et des soins de base, jusqu'à 80 % des amputations du pied

peuvent être évitées chez les diabétiques. (Andriamiandrisoa, 2010 ; Yahia-Berrouiguet, 2008 ; Richard et Schuldiner, 2008).

La prise en charge du pied diabétique ne se conçoit que dans le cadre d'une équipe multidisciplinaire. En effet le dialogue entre les représentants des différentes disciplines médicales, chirurgicales, biologiques et d'imagerie permet d'enchaîner sans retard les différentes étapes de la prise en charge convenable à chaque patient.

Aussi, nous avons jugé intéressant d'effectuer une étude sur les plaies du diabétique en milieu hospitalier de la wilaya de Khenchela.

L'objectif principal de ce travail est de rapporter des cas de diabétiques connus ou de découverte à l'admission, qui ont présenté une ou plusieurs plaies et qui étaient pris en charge au sein des services médecine interne (hommes et femmes) de l'Etablissement public Hospitalier Ahmed Ben Bella de la wilaya de Khenchela ainsi que le service d'endocrinologie et de diabétologie de l'Etablissement public Hospitalier Kais.

Les objectifs spécifiques sont:

- D'observer les caractères du diabète chez ces patients.
- De recenser les germes les plus fréquemment retrouvés sur ces plaies.
- De préciser leur profil de résistance aux antibiotiques.

Pour ce faire, notre travail sera divisé en trois grandes parties : la première partie sera consacrée à la revue de la littérature (Le diabète et ses complications), la seconde à notre étude proprement dite, et la troisième constitue l'ossature principale de notre travail et sera réservée aux résultats et discussions. A la fin de ce travail, nous émettrons quelques perspectives et nous terminerons par une brève conclusion.

Chapitre 1

Le diabète

I. Le diabète

I.1. Définition

Le diabète sucré est défini par un désordre métabolique d'étiologies diverses; caractérisé par la présence d'une hyperglycémie chronique, accompagnée d'une perturbation des métabolismes glucidique, lipidique et protéique, résultant d'un défaut de la sécrétion d'insuline, de son activité ou des deux associées. **(Redouane, 2011).**

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS) le diabète sucré se définit comme un état d'hyperglycémie permanente avec une glycémie à jeun supérieure ou égale à 1,26 g/l (7mmol/l) à deux reprises et/ou supérieure ou égale à 2 g/l (11mmol/l) à n'importe quel moment de la journée. **(Youssof, 2007).**

I.2. Epidémiologie

Le diabète est considéré actuellement comme une véritable épidémie mondiale. On estime actuellement qu'il touche 285 millions de personnes dans le monde, 30 millions en Europe et 2,9 million en France. Celui de type 2 est de loin le plus fréquent car il représente environ 90% des cas de diabète. **(Thomas, 2012).**

La prévalence du diabète augmente parallèlement au vieillissement, à l'urbanisation, à la sédentarisation et au développement de l'obésité dans les populations des pays industrialisés. Cette maladie n'épargne pourtant pas les pays en voie de développement où le diabète non insulino-dépendant atteint parfois une prévalence de 20 à 30%, en raison d'une prédisposition génétique couplée à une modification rapide du mode de vie : urbanisation brutale, sédentarisation et alcoolisation des populations.

Le nombre de décès attribués au diabète a été estimé à un peu plus de 800 000, mais on sait depuis longtemps que ce chiffre a été largement sous-estimé. En réalité, il est plus probable qu'il se situe aux alentours de 4 millions de morts par an, soit 9% de la mortalité totale. En fait, le nombre des décès en relation avec le diabète est plus particulièrement dû à des complications cardiovasculaires. **(Allan, 2008).**

I.3. Classification du diabète

Le terme de diabète regroupe plusieurs maladies, ayant en commun l'hyperglycémie et les complications dégénératives, mais de pathogénie d'expression et de traitements différents. La nouvelle classification du diabète proposée par l'organisation mondiale de la santé (OMS) en 1997 distingue **quatre types de diabète** : le diabète de type 1 (anciennement diabète insulino-dépendant), le diabète de type 2 (qui regroupe la majorité des diabètes non insulino-dépendants), les « autres diabètes spécifiques » (ou diabètes secondaires) et le diabète gestationnel. **(Loyal, 2012).**

Le diabète gestationnel survient durant la grossesse et disparaît après l'accouchement. S'il est méconnu, il peut entraîner des complications pour l'enfant. Il faut donc rechercher ce diabète par des mesures de glycémie et des tests adéquats, particulièrement chez les femmes enceintes qui présentent un facteur de risque.

Les diabètes secondaires (spécifique) : apparaissent suite à une pancréatopathie (pancréatite chronique ou aiguë, tumeur, l'hémochromatose), à diverses endocrinopathies (phéochromocytomes, acromégalie, syndrome de Cushing, hyperthyroïdie, tumeurs endocrines pancréatiques et digestives) à des dysfonctionnements d'origine génétique des cellules β (diabète MODY [Maturity Onset Diabetes of the Young] et diabète mitochondrial).

Ils peuvent être aussi à l'origine des médicaments, des composés chimiques ou composés toxiques ou à des anomalies de l'insuline ou de ses récepteurs. (**ADA, 1997 ; Buyschaert et Hermans, 1998 ; OMS, 1999**).

I.3.1. Diabète de type 1

Autrefois appelé diabète insulino-dépendant (DID), cette maladie est une forme de diabète sucré qui apparaît le plus souvent de manière brutale chez l'enfant ou chez le jeune adulte. Il se caractérise par une émission d'urine excessive (polyurie), une soif intense (polydipsie) et un appétit anormalement augmenté (polyphagie). Il a aussi pour conséquence un amaigrissement malgré une prise de nourriture abondante, une hyperglycémie supérieure à 2 g/L (la limite supérieure étant de 1,26 g/L à jeun) avec parfois présence d'acétone dans les urines et d'une haleine «de pomme reinette» caractéristique. Le diabète de type 1 est dû à une destruction auto-immune des cellules insulino-sécrétrices dites cellules β . L'hyperglycémie apparaît lorsqu'il ne reste plus que 10 à 20% de cellules β fonctionnelles. Le processus auto-immun responsable d'une « insulite » pancréatique se déroule sur de nombreuses années (5 à 10 ans voire plus, avant l'apparition du diabète). Cette réaction auto-immune survient sur un terrain de susceptibilité génétique à la suite de facteurs déclenchant et peut être dépistée avant l'apparition de l'hyperglycémie par des dosages sanguins d'auto-anticorps. Cette forme de diabète est habituellement traitée par l'injection d'insuline de deux à cinq fois par jour. L'insuline ne guérit habituellement traitée par l'injection d'insuline de deux à cinq fois par jour. L'insuline ne guérit pas le diabète, mais peut en réduire les complications à long terme. (**Allan, 2008**).

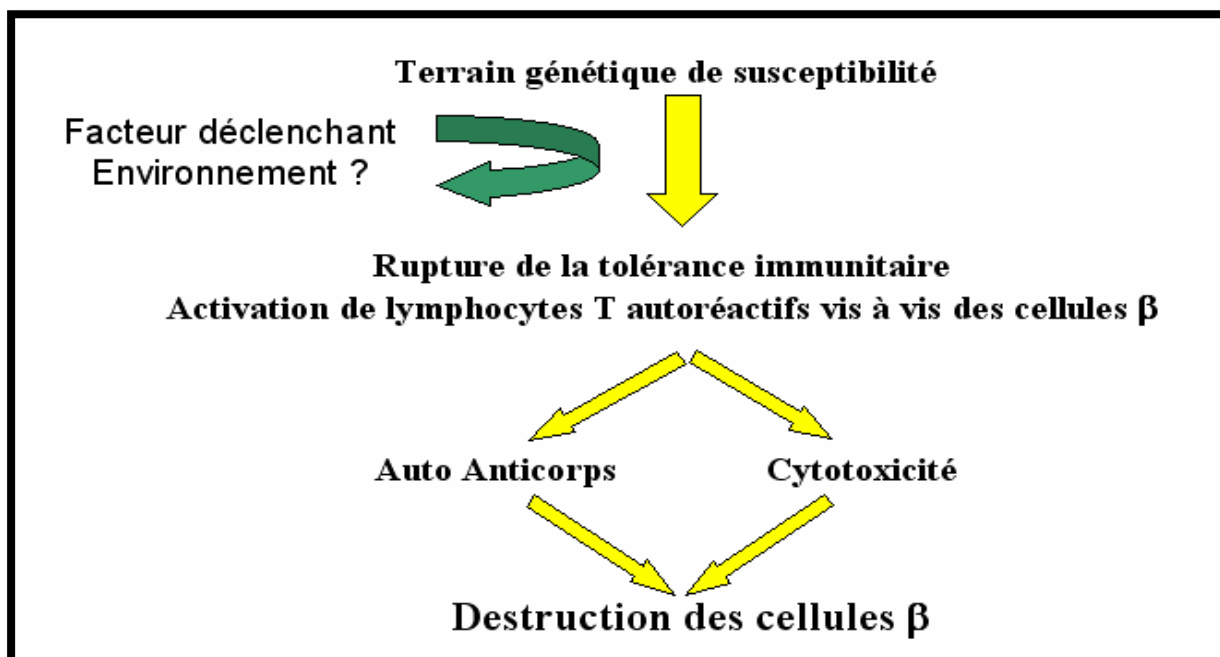


Figure 01: Mécanismes physiopathologiques du diabète type 1 (Maurice, 2008).

I.3.2. Diabète de type 2

Le diabète type 2, autrefois appelé diabète non insulino-dépendant (DNID) se manifeste chez l'adulte après 40 ans. Ce type de diabète touche essentiellement des adultes mais la maladie et en forte progression chez les enfants. Il très répandu et représente plus de 90% des cas de diabète.

I.3.2.1. Physiopathologie

Il existe deux phénomènes distincts qui expliquent l'apparition d'un diabète de type 2. Ils sont présents à des degrés variables :

- Tout d'abord, une **insulino-résistance** qui siège au niveau des tissus périphériques et du foie. Cette insulino-résistance se traduit dans les tissus périphériques par une diminution de la sensibilité des récepteurs à l'insuline et une diminution de la réponse de ces récepteurs une fois que l'insuline s'y est fixée. Puisque l'insuline permet de faire rentrer le glucose dans les cellules, cette insulino-résistance entraîne une augmentation de la concentration sanguine en glucose soit une hyperglycémie. Cette insulino-résistance n'est pas responsable du diabète si elle est isolée (pas de déficit d'insulino- sécrétions) comme c'est le cas chez de nombreux patients obèses qui présentent uniquement un hyperinsulinisme réactionnel témoignant de la compensation du pancréas. L'insulino-résistance serait due à priori à des causes essentiellement environnementales (alimentation et sédentarité) mais aussi génétiques.

- En parallèle, il existe un déficit de **l'insulino-sécrétion** lié à une atteinte des cellules β de Langerhans. Ces cellules, qui permettent la sécrétion d'insuline, ont perdu en moyenne 50% de

leur masse au moment du diagnostic du diabète. Cette destruction des cellules β serait liée à des phénomènes de glucotoxicité et de lipotoxicité. Ainsi, l'hyperglycémie étant toxique pour les cellules β , il existe un cercle vicieux : l'hyperglycémie majore la destruction des cellules β , ce qui diminue l'insulinémie et majore encore l'hyperglycémie.

- A ces deux premiers phénomènes se surajoute, après quelques années, une augmentation de la production hépatique de glucose. Cette dernière a aussi tendance à aggraver cette hyperglycémie. (Thomas, 2012).

I.3.2.2. Les facteurs de risque

- **Facteur de risque génétique** : La présence d'un diabétique de type 2 dans une famille augmente le risque de survenue du diabète chez les autres membres de cette famille, ce qui est en faveur d'une participation génétique dans l'apparition du diabète de type 2. (Lange, 2004).
- **Les facteurs environnementaux** : sont également extrêmement importants, dont : L'âge (40 ans et plus), L'excès de poids, La sédentarité, Certains médicaments (cortisone). (Stéphane, 2010).

I.3.2.3. Signes cliniques

Ils sont secondaires à l'hyperglycémie. Cette forme de diabète passe souvent inaperçue car l'hyperglycémie se développe graduellement, les patients bien qu'asymptomatiques sont à risque de développer des complications macro et micro-vasculaires. La décompensation sévère du diabète peut entraîner les symptômes suivants (CEEDMM, 2011) :

- Polyurie.
- Prurit vulvaire chez la femme; balanite chez l'homme.
- Polydipsie (soif).
- Amaigrissement.
- Infections récidivantes ou trainantes.

I.3.2.4. Dépistage

Le diabète type 2 souvent asymptomatique, reste longtemps méconnu. Sa prévalence élevée justifie systématiquement son dépistage, au moins une fois par an, chez tous les sujets à risque, en particulier au-delà de 45ans, surtout s'ils ont des antécédents familiaux de diabète et/ou des antécédents personnels d'obésité, d'altération de l'homéostasie glucidique, d'hypertension et/ou de dyslipidémie. On soupçonne également un diabète face à des complications chroniques artéritiques, micro-angiopathiques ou neuropathiques inexplicables.

Le dépistage le plus fiable repose sur une glycémie à jeun et/ou sur l'HPO. Un dépistage basé sur la glycosurie est obsolète. (Martin, 2006).

I.3.2.5. Traitement

Le traitement consiste à équilibrer le diabète par :

- **Conseil alimentaire :** (une limitation des calories en cas de surpoids, une alimentation équilibrée et variée suivant les règles de la pyramide alimentaire, limitation du sel, les produits diététiques pour diabétiques sont rarement à privilégier).

- **L'activité physique :** Le plus souvent, il est conseillé de pratiquer un type d'activité physique qui provoque une accélération du pouls et/ou un léger essoufflement (marcher rapidement, faire du vélo, du vélo d'appartement, etc.), et ce la plupart des jours de la semaine à raison de 30 à 45 minutes.

- **Les antidiabétiques oraux (ADO) :** Nous disposons de cinq classes d'antidiabétiques oraux, chacune ayant ses avantages et inconvénients spécifiques (les biguanides, les sulfamides hypoglycémiantes, les glinides, les glitazones, les inhibiteurs des alphaglucosidases).

(Johan *et al.*, 2007).

II . Les complications du diabète

II.1. Les complications aiguës du diabète

Parmi les complications aiguës du diabète sont observés : des comas hyperosmolaires, des comas acidocétosiques, des comas hypoglycémiques.

II.1.1. Coma hyperosmolaire

Ce coma associe une hyperglycémie majeure avec une déshydratation liée à une diurèse osmotique. L'hypovolémie induite peut être associée à une déshydratation intracellulaire, des troubles ioniques, une insuffisance rénale et une souffrance cérébrale. Ce coma survient habituellement chez le diabétique de type 2 ignorants sa pathologie. L'insulinémie est suffisante pour inhiber la lipolyse et la formation des corps cétoniques mais insuffisante pour permettre la pénétration cellulaire du glucose.

Le traitement consiste en une réhydratation intense et une surveillance de la glycémie.

II.1.2. Coma acidocétosique

Ce coma associe hyperglycémie avec polyurie, déshydratation, polydipsie et hypotension. En l'absence d'insuline, donc de glucose intracellulaire, la cellule privilégie l'utilisation des lipides, dont le métabolisme aboutit à la production de corps cétonique, provoquant cétose, voire acidose métabolique. Les signes cliniques sont : fatigue, crampes, polyurie, polydipsie, nausées, vomissements et douleurs abdominales violentes.

Le traitement consiste en un apport massif et rapide d'insuline IV et une réhydratation.

II.1.3. Coma hypoglycémique

L'hypoglycémie est fréquente au cours des traitements par insuline ou antidiabétiques oraux (sulfamides hypoglycémiantes, entre autre). Les signes cliniques de l'hypoglycémie sont

une agitation psychomotrice, des convulsions, voire un coma avec lésions cérébrales, pouvant conduire vers le décès.

Le traitement consiste en l'administration IV de glucose, pouvant être associé à du glucagon. **(Talbert-Willoquet-Gervas, 2011).**

II.2. Les complications chroniques

Les complications chroniques font suite à une hyperglycémie de longue date (de 5 à 15 ans). Elles se divisent en 2 groupes : les micro-angiopathies et les macro-angiopathies. Il s'agit de la traduction clinique de la souffrance vasculaire qui a lieu au cours du diabète. Cette souffrance concerne l'intégralité des vaisseaux de l'organisme, quels que soient leur taille et les tissus qu'ils irriguent. La micro-angiopathie touche la microcirculation tandis que la macro-angiopathie touche les gros vaisseaux allant de l'aorte jusqu'aux petites artères distales de diamètre supérieur à 200 μm . **(Layal, 2012).**

II.2.1. Micro-angiopathie

La micro-angiopathie diabétique est une anomalie de la paroi des petits vaisseaux (épaississement de la membrane basale). Elle est corrélée à l'ancienneté et à l'équilibre du diabète. Trois éléments sont menacés : l'œil, le rein et le système nerveux. **(Armand, 2007).**

Les lésions micro-angiopathiques sont caractérisées par l'épaississement de la membrane basale des capillaires sanguins, ce qui a pour conséquence :

- D'augmenter la perméabilité capillaire, ce qui provoque un exsudat (épanchement de liquide de nature séreuse).
- D'augmenter la fragilité du vaisseau et d'induire des hémorragies.
- D'obstruer les capillaires ce qui provoque des lésions ischémiques.

L'atteinte des petits vaisseaux est diffuse et elle aggrave les lésions causées par la macro-angiopathie.

II.2.1.1. La rétinopathie diabétique

La rétinopathie diabétique constitue la première cause de cécité dans les pays industrialisés avant l'âge de 65 ans 95% des diabétiques de type 1 présentent une rétinopathie au bout de 15 ans, contre 50% de patients diabétiques de type 2.

Le diabète provoque des occlusions des capillaires de la rétine, une ischémie de la rétine et des hémorragies par rupture de la barrière hémato-rétinienne. Les ions et protéines passent dans la rétine. Entraînant l'eau par osmose, à l'origine de la formation d'un œdème. Les lipides et les protéines peuvent également passer et former un exsudat. Cela peut entraîner une cataracte, un glaucome, des œdèmes maculaires voire une cécité totale. Détectés précocement par un examen de fond d'œil, ces troubles peuvent être bien traités par laser. Une fois les complications survenues, il est souvent trop tard d'où la nécessité d'un dépistage annuel. **(Nathalie, 2010).**

II.2.1.2. La néphropathie diabétique

La néphropathie diabétique peut évoluer jusqu'à l'insuffisance rénale. C'est la seule cause d'insuffisance rénale terminale conduisant à la dialyse. Celle-ci augmente actuellement dans tous les pays industrialisés. 30% des diabétiques de type 1 présentent une néphropathie diabétique au bout de 15 ans, contre seulement 15% des patients diabétiques de type 2. Le rein est un organe constitué d'un réseau important de micro-vaisseaux, qui forment un filtre pour éliminer les déchets et les toxines présents dans le sang. Dans la pathologie diabétique, la capacité de filtration du glomérule rénale est altérée, ce qui a pour conséquence une accumulation des déchets dans le sang. Cela peut conduire au stade d'insuffisance rénale chronique. Les deux seules solutions pour filtrer le rein et remédier à la néphropathie sont la dialyse et la transplantation rénale. (Nathalie, 2010).

II.2.1.3. La neuropathie périphérique

Elle constitue la première cause d'amputation non traumatique, car elle prédispose aux plaies des pieds en provoquant une perte de sensibilité. Le risque augmente avec la durée du diabète.

L'atteinte est essentiellement due à une ischémie. La neuropathie périphérique touche surtout les membres inférieurs et entraîne des douleurs, des crampes et une diminution de la sensibilité ainsi que des plaies pouvant conduire à des amputations, car le patient ne se rend pas compte qu'il a une blessure par l'absence de stimuli douloureux et laisse évoluer la blessure. La neuropathie peut aussi toucher le système nerveux autonome et provoque des troubles de la digestion (diarrhée), du rythme cardiaque (hypotension) et des troubles d'ordre mictionnel et sexuel (impuissance). L'atteinte peut également être due à une dégénérescence axonale avec une démyélinisation. (Nathalie, 2010).

II.2.1.4. Sensibilité liée aux infections

Un diabète mal équilibré favorise les infections bactériennes et mycosiques qui elles-mêmes déséquilibrent le diabète en retour. La fréquence des septicémies d'origine bactérienne est plus importante chez les patients diabétiques que dans la population non diabétique. La prolifération des germes est d'une part favorisée par leur appétence pour le sucre et d'autre part, par l'affaiblissement des défenses de l'organisme (globules blancs) sous l'effet de l'hyperglycémie. Les infections cutanées à staphylocoques, des mycoses et furonculoses. (Nathalie, 2010).

II.2.2. Macro-angiopathie

Touche toutes les artères de l'organisme mais s'exprime surtout au niveau des artères coronaires (infarctus du myocarde), cérébrales (accident vasculaire cérébral) et des membres inférieurs (artérite). Les grosses artères se bouchent. D'autres facteurs interviennent mais la

présence du diabète favorise ces maladies cardiovasculaires qui sont responsables de 70 à 80% des décès des diabétiques (contre 40% dans la population non diabétique). (Joséphine, 2013).

II.2.3. Le pied diabétique

Il s'agit d'une complication grave et fréquente du diabète puisqu'elle est une des premières causes d'hospitalisation prolongée. Les lésions du pied représentent un problème socio-économique important. Cette complication résulte de 3 facteurs : la diminution de la vascularisation, la présence de lésions neurologiques à l'origine d'une diminution de la sensibilité, et la déminéralisation des os du pied.

La surveillance de l'apparition des lésions est la mesure préventive la plus efficace. (Loyal, 2012).

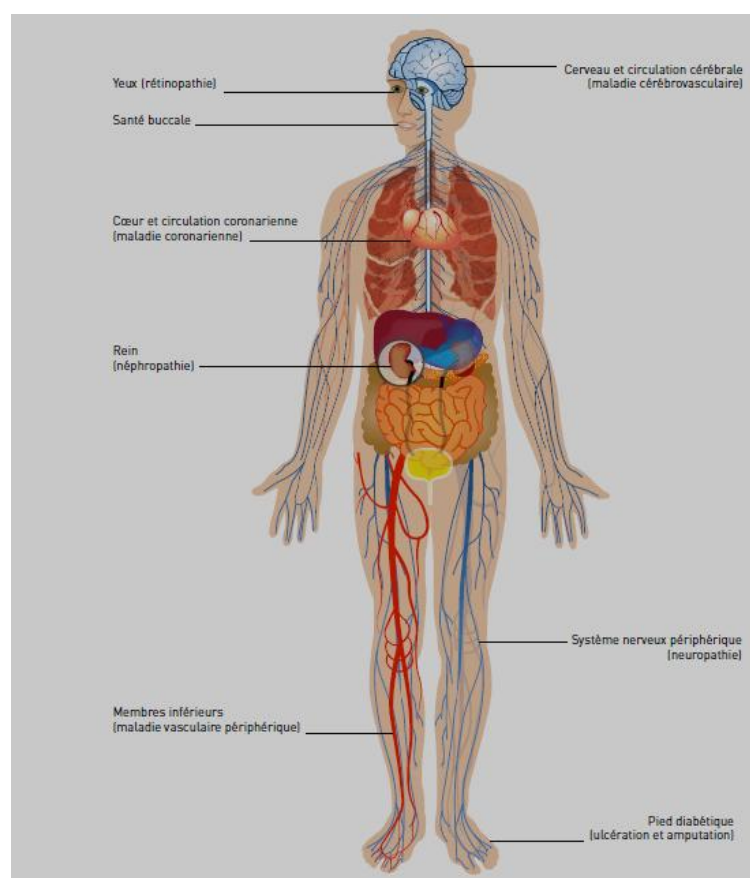


Figure 02 : Les principales complications du diabète. (Atlas du diabète de la FID).

Chapitre 2

Lésions et infections

du pied diabétique

I. Lésions et infections du pied diabétique

Par sa situation anatomique et sa fonction, le pied du diabétique est la cible des complications neurologiques, artérielles et infectieuses du diabète.

I.1. Définition

Le pied diabétique est une entité pathologique particulière du patient diabétique pouvant se définir comme l'ensemble des lésions ostéoarticulaires et/ou des parties molles du pied, liées à la neuropathie et à l'artériopathie, alors que l'infection intervient comme élément aggravant. **(Bah et al., 2015).**

C'est un problème de santé publique **(Besse et al., 2011)** par sa fréquence et sa gravité, mettant enjeu le pronostic fonctionnel (amputation de membre), voire vital, par ses complications notamment septiques. Sa prise en charge ne se conçoit que dans un cadre multidisciplinaire avec comme but commun l'obtention d'une cicatrisation et la restitution d'un pied fonctionnel. **(Bah et al., 2015).**

On estime que 15% des patients diabétiques développeront une plaie au pied nécessitant une hospitalisation prolongée. **(International working group on diabetic foot, 2007).**

Dans le cas du pied diabétique, l'infection est en règle générale secondaire à une plaie cutanée. **(Anonyme, 2007)** Toute plaie du pied chez un diabétique est une urgence médicale la prévention est essentielle pour éviter son apparition, mais aussi pour en limiter l'extension qui peut conduire à des décisions médicales souvent extrêmes. En effet, le diabète est la cause principale d'amputation dans le monde. **(Guy et Romain, 2003).**

Le diagnostic est clinique et l'infection doit absolument être distinguée de la colonisation.

La colonisation est un phénomène naturel, impliquant des bactéries commensales de la peau, peu virulentes. Quant à l'infection, c'est un phénomène pathologique qui suppose des bactéries virulentes, responsables du retard de cicatrisation et de l'extension de l'infection cutanée vers les tissus avoisinants y compris les structures ostéo-articulaires sous-jacentes **(Lavigne et Sotto, 2011)** Les facteurs favorisant le passage vers l'infection sont des facteurs locaux (exemple : une plaie) et des facteurs généraux (le déficit immunitaire du diabète).

I.2. Prevalence

Le pied diabétique est un vrai problème de santé publique par son poids économique et son retentissement grave sur les patients qui en sont atteints **(Ashford et al., 2000).**

Les lésions du pied diabétique constituent une pathologie de fréquence croissante et un des principaux motifs d'hospitalisation chez les diabétiques, comme l'attestent les données épidémiologiques **(Monabeka et Nsakala-Kibangou, 2001)**

La prévalence des lésions du pied diabétique varie de 1,8 % à 7,4 %, selon les études, et dépend de l'âge. Et la surinfection est la conséquence la plus fréquente et la plus grave des pieds

diabétiques, responsable de 50% des amputations. Une amputation au niveau du membre inférieur serait réalisée toutes les 30 secondes dans le monde chez un patient diabétique **(International working group on diabetic foot, 2007)**.

Une plaie mineure du pied est à l'origine de 85 % des amputations chez le diabétique et quatre plaies sur cinq ont une origine externe identifiable unique et à priori évitable **(International working group on diabetic foot, 2007)**.

5 à 10% des diabétiques seront un jour amputés : d'orteils dans 46%, d'un pied dans 17%, de jambe dans 20%, de cuisse dans 17% **(figure 01)**. Il est aussi considéré comme la complication la plus onéreuse, et principale cause d'hospitalisation de long séjour de ces patients.

A noter que dans la population général, entre 5 et 25 personnes sur 100000 subissent une amputation de la partie inférieure de la jambe pour des causes diverses, chez les personnes atteintes de diabète, ce chiffre se situe entre 600 et 800 personnes sur 100000. **(Hajjoubi, 2012)**

Les lésions des pieds (chez le patient diabétique) sont fréquentes, graves et coûteuses. Leur prévalence est estimée entre 1,5 et 4,5 % chez les patients diabétiques si l'on ne tient compte que des plaies non cicatrisées ; si l'on considère également les patients ayant eu un antécédent de plaie du pied, cette prévalence atteint 12 à 15 %. **(HAS, 2007)**

En conséquence les répercussions du pied diabétique en termes humains et économiques sont particulièrement lourdes.

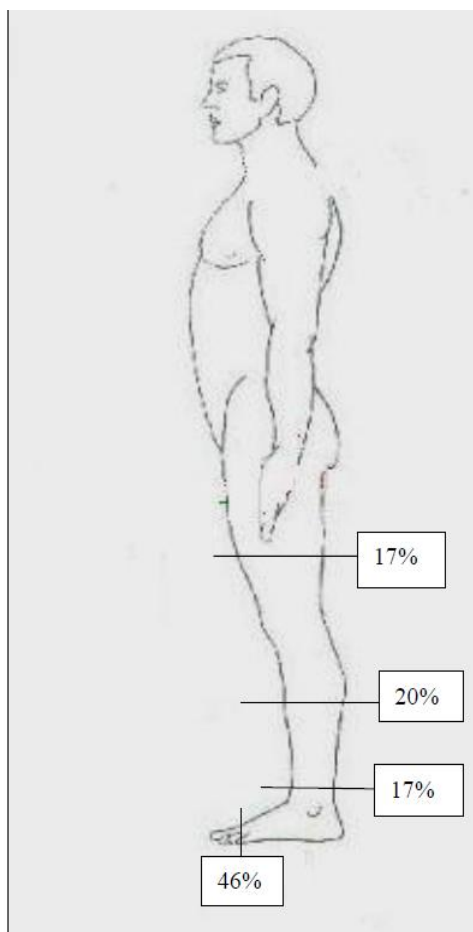


Figure 03: la fréquence d’amputation du membre inférieur du corps chez les diabétiques. (Benzidia, 2010)

I.3. Facteurs déclenchant

Les lésions du pied sont très souvent occasionnées par des traumatismes mineurs, un manque d’hygiène peut favoriser la macération, les fissures et les surinfections. La rapidité d’évolution peut être foudroyante : toute lésion du pied chez le diabétique doit être considérée comme une urgence thérapeutique. (Barbara, 2010)

Les facteurs déclenchant les plus fréquemment en cause sont résumés dans le **Tableau I** :

Tableau I : les facteurs déclenchant du pied diabétique. (Dupre)

Les facteurs déclenchant	3 études		
	1986	1990	1997
Chaussures	47%	39%	21%
Blessures mécaniques	5%		
Blessures accidentelles		12%	10%
Blessures induites		6%	4%
Décubitus	2%	4%	9%
Traumatismes thermiques	1%	1%	1%

I.4. Physiopathologie

Le pied diabétique est favorisé par les troubles neurologiques et/ou vasculaires des membres inférieurs. Une infection locale en est le facteur aggravant. Il s'agit d'une complication fréquente du diabète, qui reste une des premières causes d'hospitalisation prolongée.

Les lésions du pied représentent donc un problème socio-économique considérable. La prévention est la mesure thérapeutique la plus efficace. **(Martin, 2006)**

Les trois facteurs majeurs impliqués dans l'infection du pied diabétique sont:

- La neuropathie
- L'atteinte vasculaire ou artériopathie
- La réponse immunologique **(Lungu, 2012)**

A tous ces mécanismes physiopathologiques se rajoutent d'autres facteurs favorisant l'infection de la plaie :

- La chronicité de la lésion
- L'absence de mise en décharge
- La structure particulière du pied qui favorise l'extension rapide aux structures sous-jacentes. **(Lungu, 2012)**

I.4.1. La neuropathie

Du fait de la diminution de toutes les sensibilités et de l'altération de la réponse à la douleur, les patients sont plus vulnérables aux traumatismes, même mineurs. L'insensibilité à la douleur permet la formation de la corne cutanée qui favorise la formation du mal perforant plantaire. C'est le plus souvent l'insensibilité à la douleur qui conduit à un retard de prise en charge et secondairement à un retard de cicatrisation. **(Lungu, 2012)**

I.4.2. L'atteinte vasculaire (artériopathie)

L'artériopathie est 4 fois plus fréquent chez les diabétiques. C'est la cause la plus fréquente de mortalité et de morbidité chez le diabétique. **(Lungu, 2012)**. L'atteinte artérielle entraîne une diminution de l'irrigation au niveau de l'ulcère, conduisant à une hypoxie; celle-ci favorise l'apoptose cellulaire et la nécrose tissulaire créant un milieu propice à la prolifération microbienne.

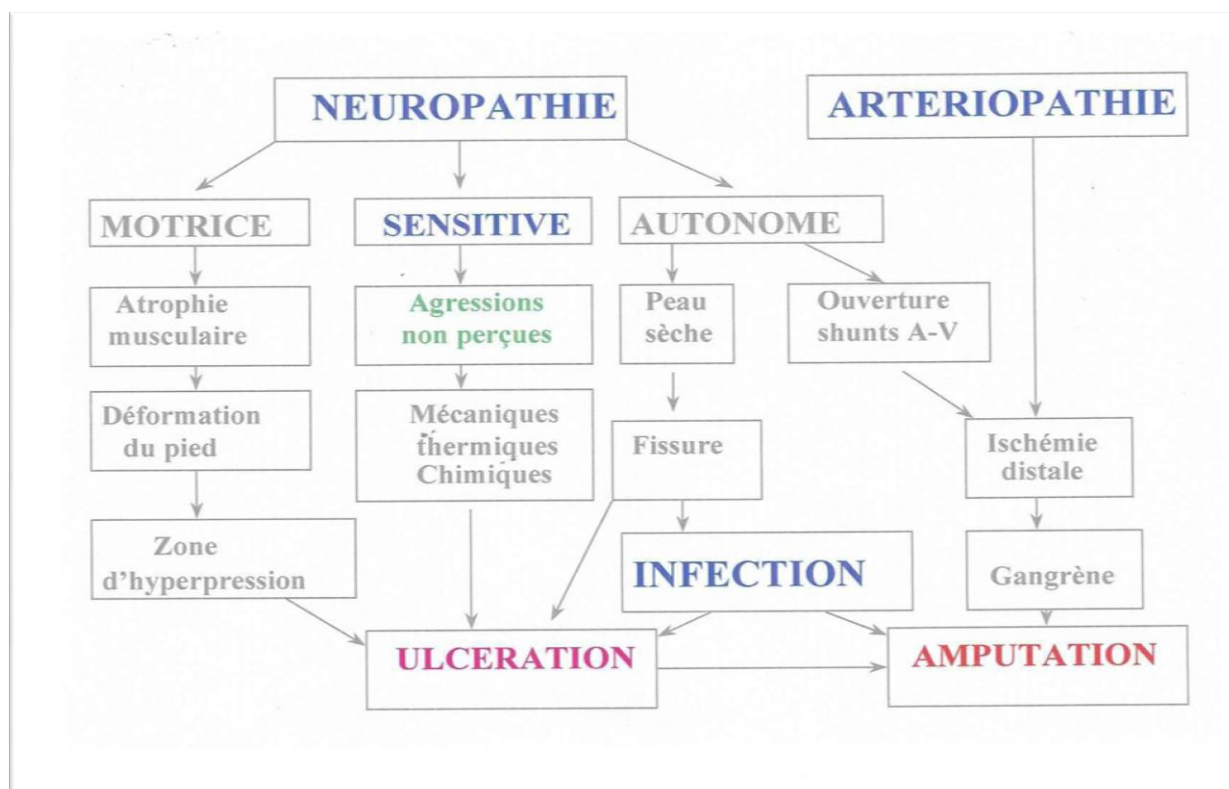


Figure 04: la physiopathologie du pied diabétique. (Dupre)

I.4.3. La réponse immunologique

L'hyperglycémie entraîne des changements morphologiques sur les macrophages et altère leurs fonctions leucocytaires, ce qui conduit à une diminution de la réponse immune de l'hôte. (Lungu, 2012)

Le dysfonctionnement du système immunitaire associé à l'atteinte artérielle et à la neuropathie favorisent l'extension de l'infection et retardent la prise en charge, par la diminution de la réponse inflammatoire, par l'atteinte de la microcirculation et par la perte de la sensibilité. (Senneville, 2011)

II. La plaie chez le diabétique

II.1. Définition de la plaie

Une plaie est une partie du revêtement cutané-muqueux qui a perdu ses structures ayant une fonction de barrière physique vis-à-vis du milieu extérieur. Il y a lieu de faire la distinction entre les plaies aiguës et les plaies chroniques. Les plaies aiguës traversent spontanément les différentes étapes successives du processus de cicatrisation, ce qui n'est pas le cas des plaies chroniques qui sont l'apanage du patient diabétique. (Lachapelle, 2004)

II.2. Pathogénie de la plaie chez le diabétique

Chez le patient diabétique, la neuropathie et l'artériopathie interviennent dans le processus de la formation d'une plaie et dans l'entretien de celle-ci. Au niveau du pied, la neuropathie motrice entraîne une diminution de la force musculaire et une atrophie des petits muscles. La statique plantaire est modifiée et les orteils sont déformés. Des callosités et des cors apparaissent, témoins des pressions anormales qui s'exercent sur le pied et donc du risque de plaie. Les traumatismes sont mal perçus en raison de la neuropathie sensitive. De plus, la sécheresse cutanée liée à l'atteinte autonome favorise l'apparition de crevasses, porte d'entrée possible aux infections. (**Andriamiandrisoa, 2010**)

Les ulcérations du pied sont fréquentes chez les patients diabétiques : près de 25 % d'entre eux en feront une au cours de leur vie. Secondairement ces plaies s'infectent dans 40 à 80 % des cas augmentant significativement la morbidité et la mortalité des patients et induisant inévitablement un surcoût non négligeable. En effet, les ulcérations du pied sont la principale cause d'hospitalisation des patients diabétiques et représentent une des principales causes d'amputations des membres inférieurs. Une étude récente estimait que les risques d'hospitalisation et d'amputations étaient 56 et 155 fois plus élevés chez les diabétiques qui ont une plaie du pied par rapport à ceux qui n'en ont pas. (**Jean-Philippe et al., 2011**). (**Senneville, 2002**)

II.3. Ecosystème d'une plaie chez le diabétique

Lorsqu'il y a une plaie, l'équilibre de la flore cutanée normale est perdu. Les substrats biologiques exposés à l'environnement sont propices à l'accumulation de multiples microorganismes en provenance de la peau avoisinante, du tractus digestif, et de l'environnement. Cette flore bactérienne présente une grande variabilité interindividuelle et se modifie dans le temps sous l'influence de facteurs divers. Selon les circonstances, des germes aérobies et d'autres anaérobies peuvent proliférer en abondance. Le réservoir de ces microorganismes est représenté par les tissus nécrotiques séro-fibrineux et purulents accrochés au lit de l'ulcère.

La distinction entre une plaie contaminée, colonisée à un niveau critique ou infectée cliniquement prend ici toute son importance. Il existe 4 niveaux d'interaction entre plaie et bactéries :

- Contamination : Présence de bactéries non répliquatives et dont la présence est transitoire.
- Colonisation: Présence de bactéries répliquatives mais en quantité et/ou virulence insuffisante pour provoquer une infection
- Colonisation critique : Point où la charge bactérienne interfère avec la cicatrisation de la plaie

- Infection: Point où la charge bactérienne dépasse les capacités immunitaires de l'hôte et entraîne un défaut de cicatrisation par inflammation prolongée.

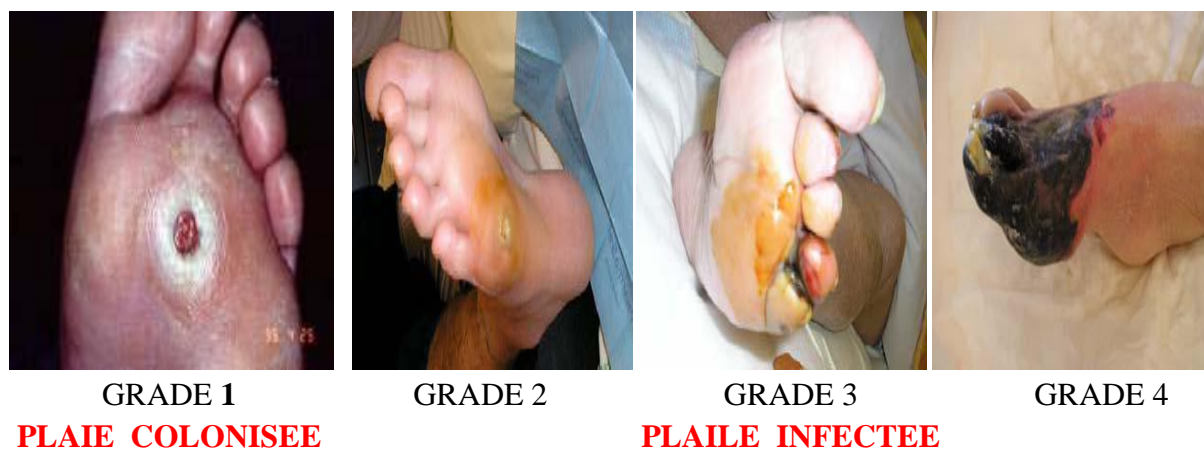


Figure 05 : plaie colonisée et plaie infectée. (Lavigne et Sotto, 2011)

II.4. L'infection du pied diabétique

L'infection est définie par une invasion 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 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. (Ibo Issa Maman, 2013)

II.5. Microbiologie des infections du pied diabétique

Les prélèvements bactériologiques ne sont indiqués qu'en cas d'infections établies cliniquement, à partir du grade 2 de la classification du Consensus. (International Working Group on the Diabetic Foot, 2003)

L'infection est très souvent polymicrobienne, aérobie et anaérobie. (Hartmann-Heurtier *et al.*, 2000). Le pathogène le plus fréquemment impliqué est le *Staphylococcus aureus*, suivi de *Staphylococcus epidermidis*, de l'*Enterococcus spp* et de *Streptococcus spp*. Parmi les bacilles à Gram négatif, les Entérobactéries sont les plus fréquentes (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus spp* et *Pseudomonas aeruginosa*). Les bactéries anaérobies strictes sont classiques et souvent associées aux bactéries aérobies, mais ils sont rares, ils peuvent être responsables des lésions extensives graves comme la gangrène gazeuse. (Maurice, 2004)

L'identification des bactéries anaérobies strictes est très dépendante des conditions de recueil du prélèvement et du mode de transport au laboratoire, ainsi que de la présence de l'ischémie et de la profondeur de la lésion. (Ibo Issa Maman, 2013)

Tableau II : Principaux microorganismes responsables en fonction de la situation clinique. (Anonyme, 2013).

	Cocci Gram +	Bacilles Gram - (entérobactéries)	Anaérobies stricts
Infection Superficielle	X		
Infection chronique ou déjà traitée	X	X	
Infection sévère et/ou nécrose	X	X	X

Les infections des pieds chez les diabétiques sont multiples, il faut différencier les infections cutanées superficielles, en particulier les mycoses, des complications bactériennes, responsables des surinfections voire de cellulites qui entraînent des infections profondes avec un risque général majeur.

II.6. Les mycoses du pied diabétique

Les mycoses du pied, très fréquentes dans la population générale sont considérées comme un facteur de gravité chez le diabétique. Elles trouvent sur ce terrain les conditions idéales à leur développement et exposent aux risques de surinfection bactérienne. (El Fékih *et al.*, 2009)

Les mycoses des pieds notamment l'atteinte des plis interorteils, peuvent être une source de surinfection bactérienne (Feuillade de Chauvin, 2000), qui peuvent s'étendre à l'ensemble du pied. Leur dépistage est donc impératif et leur traitement doit être bien conduit. (El Fékih *et al.*, 2009)

Elles sont fréquentes et dominées par les dermatophyties. On rencontre aussi des atteintes par levures et plus rarement par moisissures. Le diabète mal équilibré peut favoriser leur développement et leur extension rapide.

Le champignon peut coloniser les ongles. Tout aspect anormal, non expliqué de l'ongle, doit faire craindre une lésion tumorale, d'où l'importance de la biopsie.

II.7. Classifications des plaies du pied diabétique (Tsirisikolou, 2007)

Il existe plusieurs façons de classer les plaies : selon leur étiologie, selon leur aspect ou selon le stade de guérison.

Chez le diabétique, la classification étiologique distingue les plaies d'origine artérielle, veineuse, neuropathique ou infectieuse. (Andriamiandrisoa, 2010)

Il existe plusieurs classifications proposées, mais aucune n'est idéale. Une classification idéale pourrait en même temps évaluer la sévérité et le pronostic de l'infection. Les classifications les plus anciennes utilisent des paramètres comme la largeur et la profondeur de la plaie. Il n'existe que peu de classifications qui tiennent compte de la sévérité de l'infection, de l'ischémie ou de la neuropathie. (Lungu, 2012)

Une des classifications les plus anciennes est la classification de Wagner, basée sur les caractéristiques de la plaie, mais n'évaluant pas le pronostic et la sévérité; elle n'est quasiment plus utilisée actuellement. (Oyibo *et al.*, 2001)

Une des classifications facile à utiliser et utilisée comme classification de référence, est la classification de l'Université du Texas (UT) ; elle évalue la profondeur des plaies, la présence de l'infection et de l'artérite. Le désavantage de cette classification est l'absence de l'évaluation de la gravité de l'infection. (Lungu, 2012)

La classification de l'Université du Texas est utilisée comme classification de référence des plaies. Elle comporte quatre grades en fonction de la profondeur et quatre stades selon la présence ou non d'une infection et/ou d'une artériopathie (Tableau IV). Entre parenthèses sont indiqués les pourcentages des amputations selon la catégorie de la plaie. (Recommandations sur la prise en charge du pied diabétique infecté, 2006)

Tableau IV : Classification UT (Université du Texas) (Eric, 2013)

	Grade 0 Lésion épithélialisée	Grade 1 Plaie superficielle	Grade 2 Atteinte tendon ou 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%)

Il existerait une corrélation clinicobactériologique entre les types de plaies et les germes impliqués et identifiés .

Tableau V : une corrélation clinicobactériologique entre les types de plaies et les germes impliqués et identifiés.

TYPE DE PLAIE	PATHOGENES
Plaie superficielle récente sans antibiothérapie récente	<i>Staphylococcus aureus</i> Streptocoques β -hémolytiques
Plaie chronique (≥ 1 mois) ou antérieurement traitée par antibiotiques	<i>Staphylococcus aureus</i> Streptocoques hémolytiques entérobactéries
Plaie traitée par des céphalosporines d'évolution défavorable	Entérocoques
lésion macérée	<i>Pseudomonas spp</i> (en association avec d'autres micro-organismes)
plaie de longue durée (ulcère ≥ 6 mois), traitement antérieur par des antibiotiques a large spectre	Polymicrobisme : cocci à Gram positif aérobies (<i>Staphylococcus aureus</i> , Streptocoques β -hémolytiques, staphylocoque à coagulase négative, entérocoques), corynébactéries, Entérobactéries, <i>Pseudomonas spp</i> , bacilles à Gram négatif non fermentatifs \pm agents fongiques
odeur nauséabonde, nécrose gangrène	Cocci à Gram positif aérobies, Entérobactéries, <i>Pseudomonas spp</i> , bacilles à Gram négatif non fermentatifs, anaérobies stricts

II.8. Critères de classification d'infection du pied diabétique

Le Consensus International sur le pied diabétique (IWGDF) a établi une classification des plaies, donnant une indication précise sur les modalités de prise en charge. Il s'agit d'une classification complémentaire à la classification de l'Université du Texas, comprenant quatre grades, du grade 1 (absence d'infection) au grade 4 (sepsis sévère). (**International Working Group on the Diabetic Foot, 2003**)

Tableau VI : Classification de l'infection et la sévérité des plaies du pied diabétique. (Jean-Philippe *et al.*, 2011)

Grade	Aspects clinique et/ou biologique
Grade 1	Absence d'infection. Pas de symptôme, ni de signe d'infection en péri-lésionnel
Grade 2* (Infection légère)	Infection superficielle (atteinte cutanée uniquement sans atteinte des tissus sous-cutanés), avec au moins 2 des signes suivants : - chaleur locale - érythème < 2 cm de large autour de la plaie - douleur locale - tuméfaction ou induration locale - écoulement purulent (sécrétion épaisse, opaque à blanchâtre ou sanguinolente) et sans manifestation systémique (cf. grade 4)
Grade 3 (Infection modérée)	- Soit : érythème > 2 cm ET une des manifestations suivantes : - chaleur locale - douleur locale - tuméfaction ou induration locale - écoulement purulent (sécrétion épaisse, opaque à blanchâtre ou sanguinolente) - Soit : infection atteignant les structures au-delà de la peau et du tissu sous-cutané (abcès profond, lymphangite, ostéite, arthrite septique, fasciite...) et sans manifestation systémique (cf. grade 4)
Grade 4 (Infection sévère)	Quel que soit l'infection, si présence d'au moins 2 des manifestations systémiques suivantes : - température > 38°C ou < 36°C - fréquence cardiaque > 90 battements/minute - fréquence respiratoire > 20 cycles/minute - PaCO ₂ < 32 mmHg - Leucocytes > 12 000 ou < 4 000 / mm ³ OU 10% de formes leucocytaires Immatures

III. Examens biologiques

Les examens biologiques, comportant principalement la recherche d'un syndrome inflammatoire et les prélèvements pour cultures bactériologiques, confirment l'infection et orientent la thérapeutique. (Martin B, 2006)

III.1. Examen bactériologique

L'examen bactériologique d'une plaie est indiqué lors d'une suspicion d'infection localisée ou systémique. Le meilleur matériel clinique à cultiver pour le microbiologiste est constitué de liquide ou de tissu, le moins bon est représenté par des frottis à l'écouvillon lorsque la plaie produit un exsudat en quantité limitée.

Le prélèvement bactériologique doit être profond, afin de ne pas retrouver des germes de contamination dans le prélèvement. Il faut éviter de prélever sous antibiothérapie ou après

application locale de produits. Le microbiologiste procèdera à un examen microscopique après coloration de Gram. D'autres colorations ou préparations seront envisagées selon le contexte : auramine (mycobactéries), immuno-fluorescence (herpès, varicelle-zona), Giemsa (leishmania)

L'examen microscopique au Gram permet d'avoir une idée sur la présence de polynucléaires (reflet d'une infection aiguë, sur la présence ou non de bactéries (reflet de leur densité), sur le caractère mono ou polymicrobien de cette présence et sur un diagnostic présomptif des bactéries en cause. La culture aérobie doit toujours être demandée. (Andriamiandrisoa, 2010)

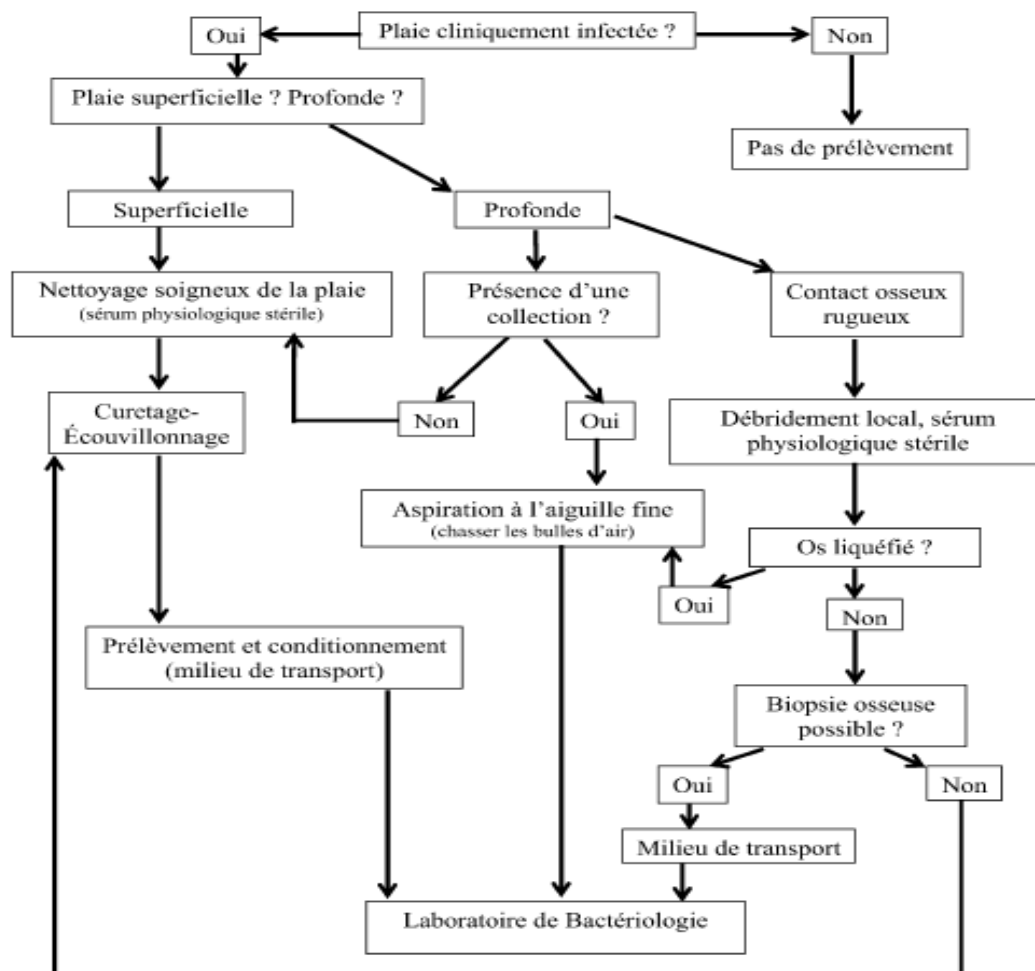


Figure 06: Choix des prélèvements en fonction du type de plaie chez un sujet diabétique. (Louis et Jean-Philippe, 2006)

III.2. L'antibiogramme

Un antibiogramme est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques supposés ou connus. Il permet le choix du bon antibiotique, ou de l'association d'antibiotiques permettant de traiter efficacement un patient.

L'antibiogramme a une grande valeur dans la mesure où il donne une précision dans le diagnostic d'un germe, surtout dans la prise en charge du choc septique et des infections nosocomiales, ou lorsque les antibiotiques choisis en probabiliste ne fonctionnent pas. Le principe consiste à placer la culture de bactéries en présence du ou des antibiotiques et à observer les conséquences sur le développement et la survie de celle-ci. On peut par exemple placer plusieurs pastilles imbibées d'antibiotiques sur une souche bactérienne déposée dans une boîte de Pétri.

Il existe trois types d'interprétation selon le diamètre du cercle qui entoure le disque d'antibiotique : souche ou bactérie sensible, intermédiaire ou résistante. **(Ibo Issa Maman, 2013)**

III.3. Autres examens complémentaires

Le bilan biologique comportera également la vitesse de sédimentation des hématies ou la CRP (Protéine C-Réactive), la glycémie à jeun, un hémogramme. Devant un diabète confirmé, un bilan rénal, un bilan cardio-vasculaire, un bilan de surcharge permettent de dépister d'autres complications. Lors de manifestations d'infection systémique, il faut ajouter aux prélèvements locaux les hémocultures. **(Andriamiandrisoa, 2010)**

IV. Les moyens de prévention

La gravité des lésions et les difficultés de leur prise en charge nécessitent la mise en place de moyens de prévention. Ces derniers ont fait preuve de leur efficacité sur la réduction du nombre et de la gravité des lésions et sur les conséquences qui en découlent (amputations, hospitalisations). Cette prévention nécessite de dépister préalablement les patients à risque podologique pour pouvoir initier des actions adaptées. **(Jean-Philippe et al., 2011)**

Le dépistage des patients diabétiques à risque podologique consiste à mettre en évidence les facteurs de risque que sont les antécédents d'ulcération ou d'amputation, la perte de sensibilité du pied, l'artériopathie des membres inférieurs et par les explorations vasculaires non invasives et les déformations des pieds exposant à des hyperappuis.

L'action de prévention concerne l'examen régulier des pieds et du chaussage par le patient, son entourage, Le dépistage de déformations doit être précoce. L'éducation est fondamentale. Elle doit s'adresser aux patients dès le grade 1 et à leur entourage avec des messages pratiques et adaptés, en tenant compte de certaines difficultés (âge, surdité, troubles visuels, impotence fonctionnelle...). Ces messages portent sur la prise de conscience de la perte de sensibilité et ses conséquences, la prise de conscience d'une mauvaise vascularisation et ses conséquences, les situations à risque, l'auto-examen des pieds, le chaussage non traumatisant et l'hygiène et l'entretien des pieds (ongles, hyperkératose, mycoses). Un appareillage adéquat (chaussures, semelles) doit éventuellement être proposé. **(Ha Van, 2014)**



Figure 07: Chaussure Ortho Wedge Darco de décharge de l'avant-pied (A). Bottes en résine fenêtrée (B). (Ha Van, 2014)

V. Traitement curatif

Le choix d'un traitement curatif est guidé par l'analyse des contributions respectives de la neuropathie, de l'artérite et de l'infection. Il faut appeler à une équipe multidisciplinaire dans un esprit médico-chirurgical.

L'approche médicale repose sur dix principes de base indiqués dans le tableau. Des traitements locaux, à base de facteurs de croissance, sont encore en essai clinique.

L'approche chirurgicale, essentielle, concerne davantage les lésions infectées (ostéite) ou ischémiques sévères. Il comporte un curetage s'il y a ostéite, une sympathectomie ou, mieux, une chirurgie de reconstruction (de type pontage distal fémoro-poplité), s'il y a artérite. Dans tous les cas, une revascularisation doit d'ailleurs être discutée afin d'éviter – ou de limiter – une amputation, qui sera toujours la plus conservatrice possible. (Hajjoubi, 2012)

Matériel et méthodes

I. Caractéristiques générales du site d'étude

Notre travail a été effectué au niveau de deux sites d'études différents.

Le premier site sélectionné pour cette étude est l'établissement public hospitalier Ahmed Ben Bella de la wilaya de Khenchela. Il dispose actuellement d'une capacité litière de 120 lits. C'est un hôpital de classe 4(AHA, 1986).Des travaux d'agrandissement de l'hôpital sont en cours.

C'est un établissement à prédominance chirurgicale dont l'activité recouvre des disciplines et services médicaux et médicotechniques variés ainsi que la prise en charge de pathologies très diverses.

Le deuxième site d'étude est l'établissement public hospitalier de Kais et plus particulièrement le service d'endocrinologie diabétologie.

II. Méthodologie

II.1. Période et type de l'étude

Nous avons réalisé une étude rétrospective, incluant tous les patients diabétiques présentant des ulcérations infectées au niveau du pied hospitalisés dans le service de médecine homme et de médecine femme de l'établissement public hospitalier Ahmed Ben Bella de la wilaya de Khenchela, et le service d'endocrinologie-diabétologie de l'établissement public hospitalier de Kais, durant les mois de mars et d'avril 2015.

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 patients admis la nuit, le weekend et les jours fériés ont été exclus de l'étude du fait de la difficulté d'accès.

II.2. Le recueil des données

Arrivés au niveau des services concernés nous avons tout d'abord pris contact avec l'équipe soignante habituelle, en particulier le médecin traitant et les infirmiers pour consulter les dossiers médicaux des patients inclus dans notre étude. Ces informations ont été complétées par un entretien direct avec les malades, à cet effet nous avons élaboré un questionnaire (**Annexes**) qui comporte les renseignements suivants :

- ✓ Des données générales (âge, sexe, date d'entrée)
- ✓ Des données cliniques (le type et la connaissance antérieure du diabète, l'existence d'antécédents de lésions du pied, et la durée d'évolution des lésions)
- ✓ Des données paracliniques (glycémie)
- ✓ Des données thérapeutiques (le traitement médical, les soins locaux et antécédent d'amputation)

II.3. Le prélèvement

Les prélèvements bactériologiques du pied diabétique ne sont indiqués qu'en cas d'infection établie cliniquement et sont effectués dès l'arrivée du patient dans le service.

(Hajjoubi, 2012)

Avant tout prélèvement, la plaie doit être préparée. Son débridement est indispensable au moyen d'une curette ou d'un scalpel stériles. Ensuite, un nettoyage doit être réalisé avec une gaze imbibée de sérum physiologique stérile. L'utilisation d'antiseptiques est possible, mais ceux-ci doivent être éliminés par du sérum physiologique stérile avant de réaliser le prélèvement

(Hajjoubi, 2012)

L'écouvillonnage superficiel de la plaie est la méthode utilisée car la plus facile **(Got, 2000)**. En effet, sa réalisation est simple, elle consiste le plus souvent à passer simplement un écouvillon de coton sur une surface de 1 cm² de la plaie dans un mouvement en zigzag combiné à une rotation **(Senneville, 2002 ; Clare, 2001)**. Il est préférable de ne pas prélever sur les bords de la plaie

Dans la mesure du possible, le prélèvement doit être fait en **l'absence d'antibiothérapie** (> 15 jours), sinon ne pas oublier de le prendre en compte dans l'interprétation. **(Senneville, 2002)**



Photographie 01 : Technique de prélèvement de pus

Une fois terminés les prélèvements ont été identifiés puis acheminés rapidement au laboratoire pour analyse microbiologique et ensemencement sur différents milieux de culture.

Au total, 20 prélèvements ont été effectués et autant de cultures bactériologiques pratiquées.

III. Les paramètres microbiologiques

La partie pratique de cette étude a été réalisé au sein de laboratoire central de l'établissement hospitalier au niveau de la paillasse de bactériologie, il a consisté :

- ✓ à effectuer un isolement sur milieux ordinaires et sélectifs appropriés au moyen des méthodes normalisées actuellement en vigueur,
- ✓ à purifier les différentes colonies présentes, au moyen de milieux de culture sélectifs, ceci à partir de repiquage sur les cultures de l'étape précédente,
- ✓ à identifier les souches correspondantes, au moyen de tests complémentaires et biochimiques spécifiques,
- ✓ à évaluer la résistance de ces souches vis à vis de différents antibiotiques.

III.1. Ensemencement des milieux de culture

A partir d'un écouvillon chargé de pus, on a fait un ensemencement épais en écouvillonnant toute la surface de la gélose par la technique de cadran et en imprimant à chaque fois un mouvement de rotation à l'écouvillon. Les stries d'ensemencement réalisées doivent être serrées. Les milieux de culture utilisés sont : une gélose nutritive ordinaire, un milieu sélectif pour l'isolement des bacilles à Gram négatif (Hektoen), un milieu sélectif pour l'isolement des *Staphylocoques* cocci Gram positif (Chapman) et un milieu d'isolement des levures et des champignons (Sabouraud).

Les écouvillons sont ensuite mis dans un bouillon d'enrichissement pour favoriser la croissance des bactéries.

Les boîtes de Pétri et les tubes de bouillons nutritif sont ensuite placés dans l'étuve couvercle en bas pour une incubation de 24 heures à 37°C.

L'identification des micro-organismes isolés a été réalisée par les méthodes de bactériologie classiques associant la coloration Gram à partir de la colonie, la présence d'une oxydase, d'une catalase, d'une coagulase pour les cocci gram positif ainsi que l'ensemencement d'une galerie d'identification galerie API (pour Appareillage et procédé d'identification). (**Ibo Issa Maman, 2013**)

III.2. Biodiversité morphologique des isolats

III.2.1. Etude l'aspect macroscopique

L'observation de l'aspect macroscopique des colonies permet d'effectuer une première caractérisation, avec une orientation possible des résultats au cours de l'identification. D'après (**Delarras, 2007**). les éléments importants de l'identification macroscopique sont:

- La forme des colonies: rondes, irrégulières, ondulées,...etc.
- La taille des colonies: par la mesure du diamètre.
- La chromogènes: la couleur de la colonie.
- L'élévation: convexe, légèrement convexe, plate....etc.
- L'opacité: opaque, translucide, transparente.
- La surface: lisse, rugueuse, sèche, dentelée,...etc.
- La consistance : les colonies grasses, crémeuse donnant facilement des suspensions homogènes, correspondent au type S (Smooth = lisse). Tandis que les colonies sèches correspondent au type R (Rough = rugueux) et les colonies muqueuses (filantes) correspondant au type M (Muqueux); elles donnent difficilement des suspensions homogènes.

III.2.1.1. Le principe de lecture sur gélose Hektoen

Le principe de lecture sur gélose Hektoen est fondé sur la fermentation éventuelle des 3 glucides présents dans le milieu (lactose, saccharose, salicine). Les microorganismes qui fermentent au moins l'un d'entre eux forment des colonies de couleur "saumon", les autres donnant des colonies vertes. En présence de thiosulfate de sodium, les microorganismes producteurs de sulfure d'hydrogène donnent, avec le citrate ferrique, des colonies à centre noir.

Deux indicateurs sont présents dans le milieu le bleu de bromothymol (indicateur de pH), la fuschine acide (qui se colore en présence d'aldéhyde. On observe alors une teinte saumonée si la souche utilise un ou plusieurs des glucides présents). (Delarras, 2007).

Tableau VI: L'aspect des microorganismes sur gélose Hektoen

Caractéristiques	Microorganismes
Colonies jaune saumon	<i>Escherichia coli, Klebsiella, Citrobacter sp, Enterobacter, Arizona, Serratia</i>
Colonies jaune saumon à centre noir	<i>Proteus vulgaris, Citrobacter freundii,</i>
Colonies vertes à centre noir	<i>Proteus mirabilis, Salmonella</i>
Colonie vertes ou bleuâtres	<i>Shigella, Salmonella, Providencia, Proteus morgani, Proteus rettgeri</i>
Petites colonies bleues ou brunâtres	<i>Pseudomonas (oxydase positive)</i>

III.2.1.2. Le principe de lecture sur gélose Chapman

Le milieu de Chapman est un milieu sélectif, surtout utilisé en microbiologie médicale, permettant la croissance des germes halophiles grâce à sa forte concentration en chlorure de sodium (75 g.L⁻¹). Parmi ces germes figurent au premier rang les bactéries du genre *Staphylococcus*. Ce milieu de culture permet aussi la mise en évidence de l'utilisation du mannitol grâce à la présence de rouge de phénol.

Tableau VII: L'aspect des microorganismes sur gélose Chapman

Observation	Interprétation	Conclusion
Colonies jaunes, entourées d'une auréole jaune	Virage de l'indicateur de pH à sa teinte acide dû à la production de composés acides par les bactéries	Utilisation du mannitol par les bactéries. Elles sont dites mannitol + <i>Staphylococcus aureus</i>
Colonies roses, entourées d'une zone rouge	Absence de virage de l'indicateur de Ph	Absence d'utilisation du mannitol par les bactéries. Elles sont dites mannitol - <i>Staphylococcus epidermidis</i>

III.2.1.3. La lecture sur gélose Sabouraud

Le milieu de Sabouraud (ou gélose de Sabouraud) est un milieu de culture acide favorisant la culture et l'isolement des champignons et des levures responsables de mycoses.

Sa lecture se fait après 24 à 48 heures (pour les levures) à plusieurs jours (champignons filamenteux), à 37°C ou à 30°C en aérobiose

III.2.2. Etude de l'aspect microscopique

III.2.2.1. Coloration de gram

La coloration de Gram est une coloration différentielle qui permet la distinction des bactéries Gram (+) et Gram (-) sur la base de différence de composition chimique et d'ultrastructure des parois cellulaires. Cette méthode permet aussi d'observer :

- La morphologie des bactéries
- Leur mode de regroupement

1- Réalisation du frottis

Fixer le frottis par la chaleur

Passer la lame lentement au-dessus de bec bunsen et laisser refroidir.

2- Coloration par le violet de gentiane

Recouvrir la lame par violet de gentiane

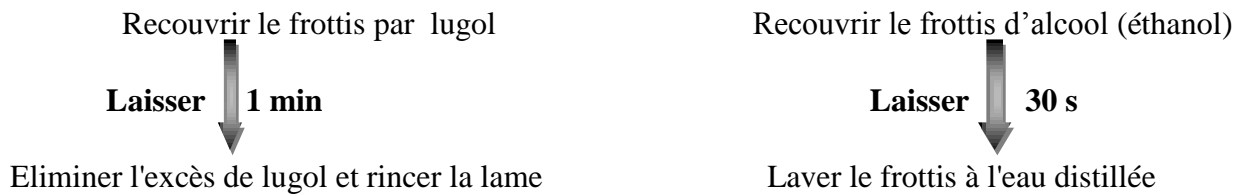


Laisser 1 min.

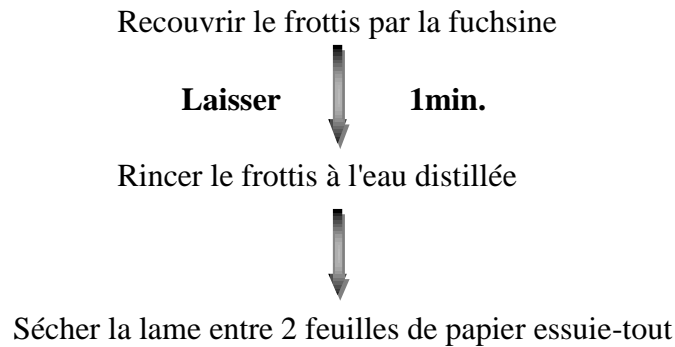
Rincer à l'eau distillée

3- Mordantage par le lugol

4- Décoloration par l'alcool



5- Recoloration par la fuchsine



Une fois séchés, les lames ont été examinées sous microscope optique à l'aide de l'objectif à immersion (x100). Des microphotographies sont réalisées à l'aide d'un microscope trinoculaire doté d'un appareil photographique numérique.

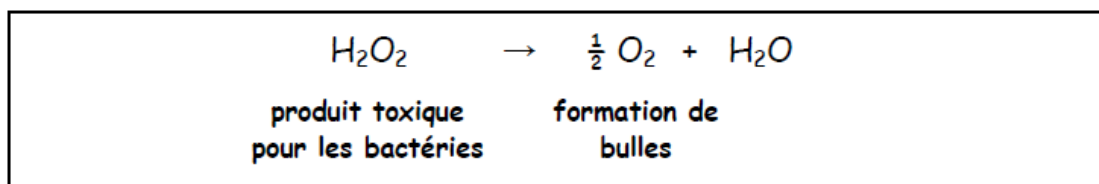


Photographie 02: Microscope Trinoculaire

III.3. Les tests enzymatiques

III.3.1. La catalase

La recherche de la catalase présente un **intérêt taxonomique** en ce qui concerne **les bactéries à Gram +**. Le test consiste à mettre des bactéries en quantité suffisante en contact de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Si elles possèdent la catalase, elles dégradent le peroxyde d'hydrogène en eau et dioxygène visible par la **formation de bulles**.



III.3.2. La coagulase

La coagulase libre (exo-enzyme) est une enzyme libérée dans le milieu par *Staphylococcus aureus*, mais aussi peut être produite par *Staphylococcus intermedius* ou *Staphylococcus hyicus*. Ce test consiste à mettre en évidence la coagulase libérée dans le milieu extérieur.



La détection de cette coagulase s'effectue en ajoutant dans un tube à hémolyse 0.5 ml de plasma humain héparine et quelques colonies d'une culture de staphylocoques de 24 h. Le mélange est placé à l'étuve à 37°C et est incubé pendant 24 heures. Les souches de *Staphylococcus aureus* provoquant la coagulation du plasma le plus souvent les trois premières heures, Un test positif se traduit par la formation d'un coagulum.

III.3.3. L'oxydase

Le terme exact est « recherche du cytochrome oxydase ». Les cytochromes sont des protéines qui appartiennent à la chaîne respiratoire, composée d'une succession de transporteurs d'électrons, en particulier les cytochromes. En fait, ce test recherche le cytochrome c-oxydase.

Depuis plusieurs décennies, et bien avant que ne soit connu dans le détail le rôle des cytochromes, la recherche de l'oxydase est un des critères le plus discriminatif et le plus employé pour l'identification des bactéries, surtout celles des bactéries à Gram négatif.

Cette recherche consiste à mettre en évidence la capacité de la bactérie testée, à oxyder la forme réduite incolore de dérivés N-méthylé du paraphénylène diamine, en leurs formes oxydées semi-quinoniques rose-violacées.

Les techniques possibles utilisent de préférence le réactif sous forme d'oxalate plus stable. On utilise pour cela des disques pré-imprégnés du réactif sur lesquels on écrase avec une effilure de pipette Pasteur une colonie de germes à étudier.

Une **réaction positive** se traduit par un **virage rapide du réactif de l'incolore au violet**. Sinon il reste incolore.

III.4. Identification biochimique par galeries miniaturisées (système API)

Les galeries API est une miniaturisation des tests biochimiques classiques destinés à l'identification bactérienne. Le système de base se présente généralement sous la forme d'une plaque rectangulaire de 10 à 32 microtubes en plastique ayant la forme soit d'un simple puits, soit d'un sabot permettant de mélanger une partie anaérobie (tube) et une partie aérobie (cupule). Chaque tube contient, sous forme déshydratée, des substrats et, éventuellement un réactif permettant de révéler l'activité recherchée. Selon les tests, soit on ensemence tout le microtube (tube et cupule) soit uniquement le tube. Dans ce dernier cas, la cupule est remplie d'huile de paraffine pour créer l'anaérobiose et empêcher les échanges gazeux pendant l'incubation (**Bio-Mérieux, 2009**) Les galeries API qu'on a utilisée sont l'API 20E (pour identification des entérobactéries) :

- **Préparation de l'inoculum** : On fait une suspension bactérienne, dans un tube d'eau distillée stérile, d'opacité légère avec une seule colonie prélevée sur un milieu gélosé.
- **Inoculation de la galerie** : Introduire la suspension bactérienne dans chaque tube à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, pointe appuyée à l'intérieur et sur le côté pour éviter la formation de bulles. Pour les tests CIT, VP et GEL, on remplit tout le microtube (tube et cupule) alors pour le reste, uniquement les tubes. Puis, on ajoute d'huile de paraffine dans les cupules des tests suivants : ADH, LDC, ODC, H₂S et URE pour créer une anaérobiose. On incube par la suite la galerie à 37°C pendant 24 heures.
- **Lecture et identification**: Après l'addition des réactifs nécessaire, on se réfère au tableau de lecture (**Annexe 04**). Dans une fiche de résultats, on note les réactions par (+) ou (-) et on identifie l'espèce à l'aide d'un logiciel d'identification (**API Excel annexes 05**).

IV. Détermination des profils de résistance aux antibiotiques

Le but de la réalisation d'un antibiogramme est de prédire la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques dans une optique essentiellement thérapeutique. (**Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS, 2008**)

Un antibiogramme permet de tester sur milieu de culture, l'action de molécules antibiotiques sur une souche bactérienne. Il donnera donc des indications sur l'efficacité *in vitro* de ces antibiotiques.

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a été réalisée par la méthode de diffusion des disques imprégnés d'antibiotiques en milieu Mueller-Hinton, Les antibiotiques testés sont représentés dans le **tableau III** et **IV**. Le mode opératoire est pratiqué selon la Standardisation de

l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS.

- La gélose Mueller-Hinton fondue au bain-marie a été coulée en boîte de Pétri en respectant une épaisseur d'environ 4 mm.
- On prépare la suspension à partir d'une souche bactérienne de 18 heures. On prélève des colonies de la bactérie à étudier avec la pipette pasteur qu'on introduit dans un tube contenant 10 ml d'eau physiologique.
- On fait l'ensemencement à l'aide d'un écouvillon trempé dans la suspension, on ensemence par stries serrées toute la surface du milieu en 3 reprises en changeant l'angle à chaque fois (60°). Enfin, on laisse sécher les boîtes de Pétri pendant quelques minutes à température ambiante.
- Après le séchage, on dépose les disques sur la gélose à l'aide d'une pince en appuyant doucement sur chaque disque pour assurer un contact uniforme avec le milieu. Ensuite, on laisse les boîtes à la température ambiante pendant 30 minutes sur la pailasse pour permettre la diffusion de l'antibiotique dans la gélose.

Pendant l'incubation à 37°C pendant 18 à 24 heures, les antibiotiques diffusent hors du disque dans la gélose, créant un gradient de concentration décroissante. Une fois la période d'incubation écoulée, on a retiré les boîtes de pétri de l'étuve pour commencer la lecture, la zone entourant le disque où aucune croissance bactérienne n'est visible détermine la zone d'inhibition. Son diamètre est mesuré à l'aide d'une règle ordinaire et comparé aux diamètres critiques figurant dans les tables de lecture (**Annexe 07, 08, 09**). La souche est ainsi classée sensible (S), intermédiaire (I) ou résistante (R) à l'antibiotique, les souches I étant ensuite incluses dans la catégorie R. (**Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS, 2008**)

Tableau VIII : Liste des antibiotiques testés pour les entérobactéries, charge et classification des disques. (Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS, 2008)

Antibiotique	Symbole	Charge du disque	Classe
Ampicilline	AMP	10 µg	β-lactames (famille des pénicillines)
Amoxicilline + acide clavulanique	AUG	30 µg	β-lactames (famille des pénicillines et des clavames)
Céphazoline	KZ	30 µg	β-lactames (famille des céphalosporines 1 ^{ère} génération)
Céphotaxime	CXT	30 µg	β-lactames (famille des céphalosporines 3 ^{ème} génération)
Imipenème	IMP	10 µg	β-lactames (famille des carbapénèmes)
Fosfomycine	FO	200µg	Acides phosphoniques
Ofloxacin	OFX	5 µg	Fluoroquinolones
Chloramphenicol	C	30 µg	Phénicolés
Amikacine	AK	30 µg	Aminoside
Gentamicine	CN	10 µg	Aminosides
Triméthoprime+sulfaméthoxazole	SXT	25 µg	Sulfamides

Tableau IX : Liste des antibiotiques testés pour les Staphylocoques, charge et classification des disques. (Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS, 2008)

Antibiotiques testés	Symbole	Charge du disque	Classe
Pénicilline	P	6µg	Bétalactamines
Oxacilline	OX	5µg	
Gentamicine	GN	15µg	Aminosides
Amikacine	AN	30µg	
Erythromycine	E	15µg	Macrolides
Clindamycine	L	15 µg	
Vancomycine	VA	30µg	Glycopéptides
Chloramhénicol	C	30µg	Autres
Fosfomycine	FOS	50µg	
Triméthoprime+sulfaméthoxazole	SXT	1,25/23,75 µg	

Tableau X : Liste des antibiotiques testés sur *Pseudomonas aeruginosa* charge des disques et classification. (Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS, 2008)

Antibiotiques	Abréviation	Charge du disque	Classe
Ceftazidime	CAZ	30 µg	β-lactames (famille des céphalosporines 3ème génération)
Amikacine	AK	30 µg	Amikacine
Gentamicine	CN	10 µg	Aminosides
Tobramycine	TOB	10 µg	Aminosides
Ticarcilline	TIC	75µg	β-lactames
Pipercilline	PI	100µg	β-lactames
Aztreonam	AZT	10µg	β-lactames

Résultats et discussions

Au cours de la période de notre étude prospective, nous avons colligé 20 patients qui ont été admis pour un pied diabétique infecté.

L'analyse des résultats a été effectuée par le logiciel Excel 2007. Les variables quantitatives ont été exprimées en effectif et en pourcentage et représentées par des graphiques.

I. Résultats descriptifs

I.1. Répartition selon l'âge

La répartition des cas en classes d'âge est représentée dans la **Figure 08**, l'âge de notre population d'étude s'échelonnait de 24 ans à 86 ans. Nous avons noté une survenue plus fréquente des plaies chez les sujets diabétiques âgés de plus de 40 ans, et on remarque une prédominance des classes d'âge de 40 - 60 ans et 60 - 80 ans avec un pourcentage de **45 %**.

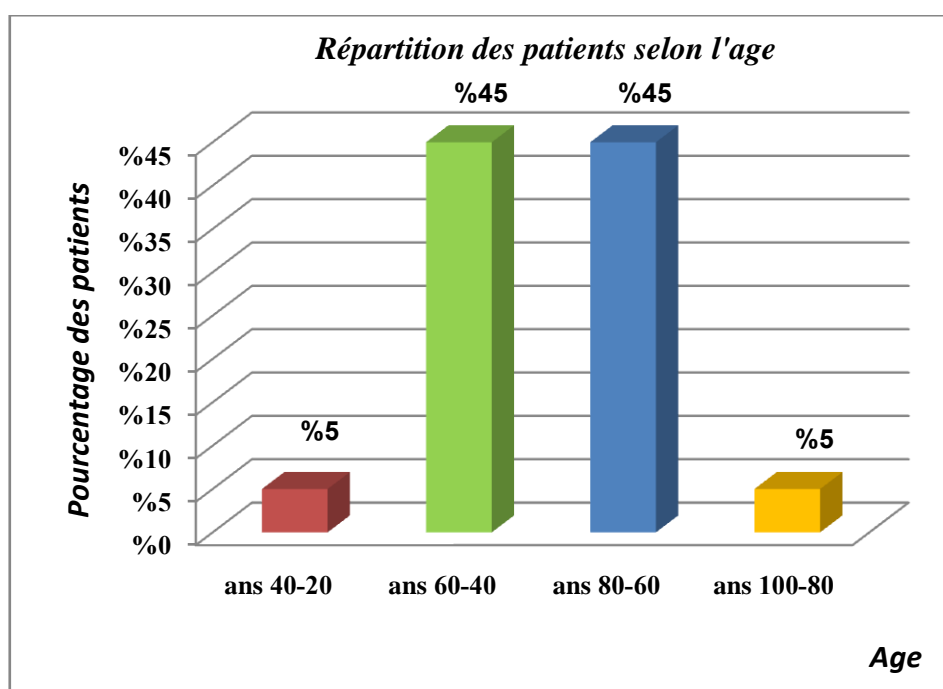


Figure 08 : Répartition des patients selon l'âge.

L'âge moyen de nos patients : **58 ans** concordait avec celui retrouvé dans la littérature générale (**El allali, 2015**). L'âge avancé est un critère de vulnérabilité du pied chez le diabétique. Il est par lui-même un facteur classique de risque vasculaire, et la longue durée d'évolution du diabète conduit aux complications dégénératives.

Quelques auteurs rapportent des moyennes d'âge plus inférieures. (**Sano et al., 1999**), (**Tieno, 1997**) et (**Kabre, 2001**) obtiennent respectivement des moyennes d'âge de 53 ans, 52.7 ans et 49,3 ans.

I.2. Répartition selon le sexe

Les résultats de la répartition des cas selon leur sexe est représentée dans la (**Figure 9**) et montre que 85 % des patients (17) sont des hommes et 15 % (03) sont des femmes On

remarque donc une prédominance du sexe masculin. Quelques auteurs (**Lokrou et al., 2013 ; Sano et al., 1999 ; El allali, 2015 ; Kabre, 2001**), retrouvent aussi cette prédominance masculine.

Le sexe masculin a été décrit dans d'autres études, comme étant un facteur de risque de survenue d'ulcération des pieds, avec un taux d'amputation trois fois supérieur par rapport aux femmes (**Oberlin et al., 2006**). Ceci pourrait être expliqué par le fait que les femmes sont plus assidues et minutieuses dans les soins. De plus, les hommes ont une activité quotidienne particulière favorisant des micro- traumatismes (activité physique régulière).

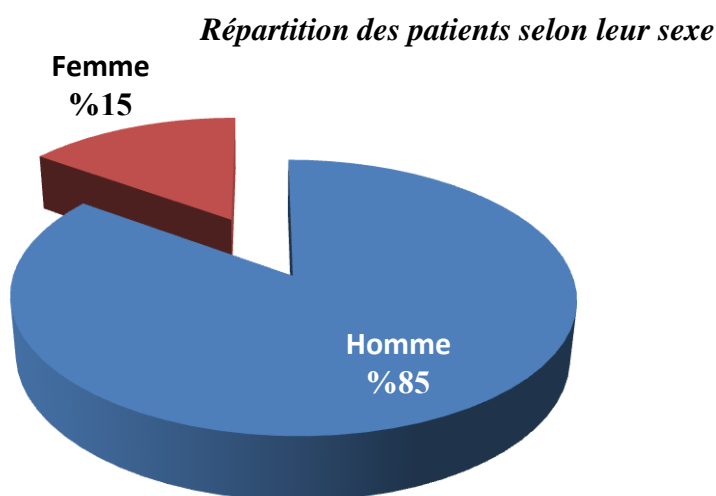


Figure 09: Répartition des patients selon le sexe.

I.3. Répartition selon le type du diabète

La consultation des dossiers médicaux et l'entretien avec les patients montrent que 14 patients ont un diabète de type 1, soit 70 % des cas, alors que 6 patients ont un diabète de type 2, soit 30% des cas. (**Tableau XI**)

Tableau XI : Répartition des patients selon le type du diabète.

	Type de diabète	
	Type 1	Type 2
Le nombre	14	6
Le pourcentage	70%	30%

Les résultats ont montré une prédominance du type 1 (**Figure 10**). A noter qu'une étude similaire menée au CHU M^{ed} VI Marrakech (**Bertal et al**) montre que le diabète de type I était le prédominant d'un taux de 65 %. C'est ce type de diabète qui cause des complications à long terme. Celles-ci sont liées aux effets néfastes d'une glycémie trop élevée sur le cœur et les

vaisseaux sanguins. Elles se traduisent par des troubles rénaux, visuels, cardiovasculaires, cérébraux et artériels.

Répartition des patients selon le type de diabète

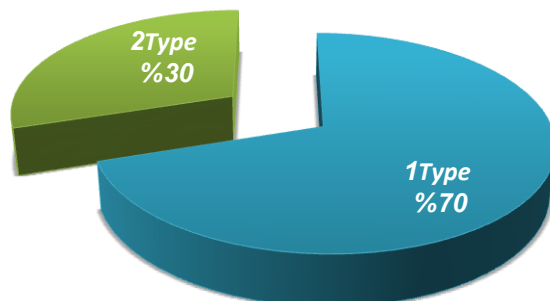
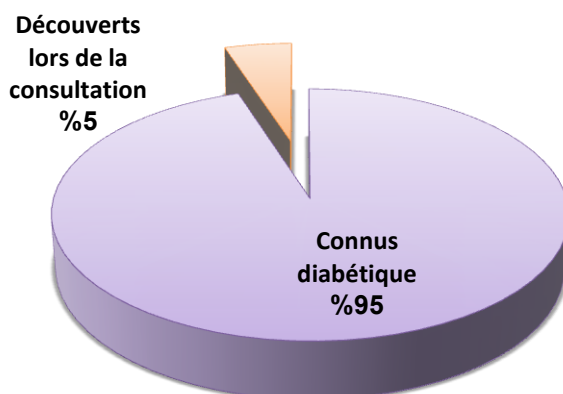


Figure 10 : Répartition des patients selon le type du diabète.

Selon le Docteur **Loghmassi Farid**, président de l’association des diabétiques de la wilaya de Khenchela « EL BASAIR », actuellement la wilaya de Khenchela compte plus de 36000 malades atteints du diabète de type 1 et quelques 1000 cas de type 2. Ces chiffres peuvent en partie expliquer la prédominance du diabète de type 1 chez notre population d’étude.

I.4. Répartition selon les circonstances de découverte du diabète

1 seul de nos patients (5%) n’était pas au courant de son diabète et a découvert sa pathologie lors de son hospitalisation pour une prise en charge des lésions du pied contre 19 (95%) qui étaient connus comme diabétiques (**Figure 11**). Mais lorsqu'on considère la population diabétique globale, les lésions du pied sont loin d’être une circonstance de découverte fréquente du diabète.



Répartition des patients selon les circonstances de découverte du diabète

Figure 11 : Répartition des patients selon circonstance de découverte du diabète.

I.5. Répartition selon l'ancienneté du diabète

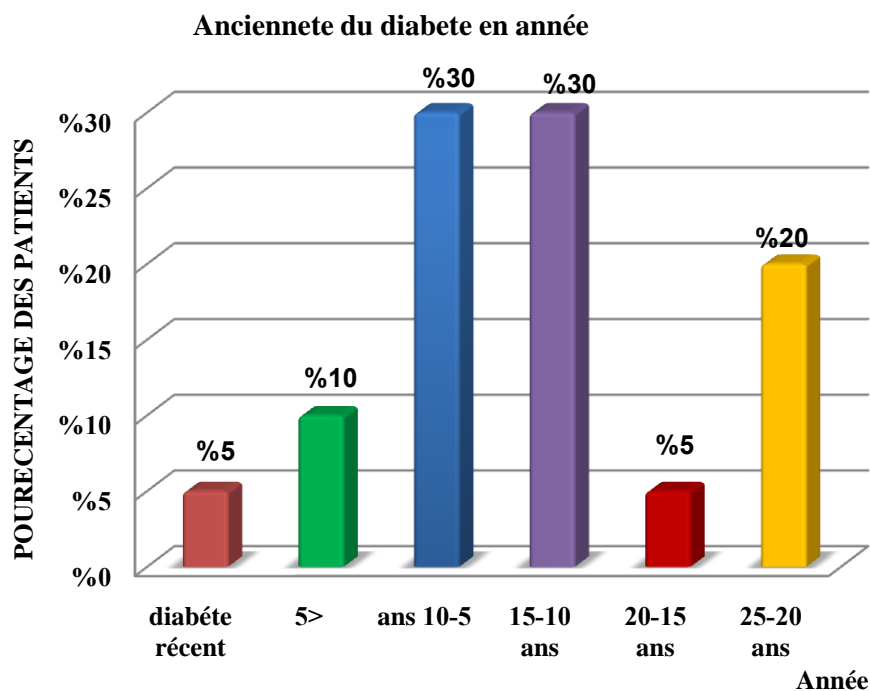


Figure 12 : Répartition des patients selon l'ancienneté du diabète.

La moyenne de l'ancienneté du diabète de nos patients était de 10,18 années. Ceci expliquait l'apparition de pied diabétique chez ces patients. Les complications dégénératives du diabète constituent souvent la gravité de cette maladie et elles relèvent surtout d'une évolution prolongée de celle-ci. L'ancienneté du diabète joue un rôle dans l'apparition des plaies. Dans notre étude, 10 % avaient un diabète connu depuis 1 à 5 ans d'évolution. En effet, 5 années d'hyperglycémie chronique suffisent à altérer les vaisseaux. Pour la plupart des patients, le traitement a été irrégulier, mal compris, mal conduit ou tout simplement inexistant faute de moyens financiers, ce qui explique le déséquilibre du diabète.

I.6. Mode de survenue de la plaie

La consultation des dossiers médicaux et l'entretien avec les patients montrent que la plaie était survenue silencieusement et avait progressé de façon insidieuse. Dans ces cas là, le patient n'avait mentionné aucun facteur qui aurait pu être la cause évidente de l'apparition de la plaie. De manière générale les causes les plus probables sont :

- Le tabagisme: c'est un facteur de risque vasculaire important car au niveau des artères, et pas uniquement celles des membres inférieurs, le tabac entraîne une artériopathie oblitérante, par durcissement des parois, rétrécissement de la lumière, responsable à la longue d'une ischémie et de l'apparition d'un ulcère.

- L'obésité : entraînent une athérosclérose, si bien que le danger est doublé lorsqu'elles sont associées à l'hypertension artérielle et le tabagisme.




- Le manque d'hygiène (hyperkératose non-traitée).
- Chaussage inadapté (chaussures serrée)
- L'extraction des puces
- La marche nu-pieds.

II. Résultats cliniques

II.1. Répartition selon le grade de la plaie

La classification clinique de Wagner a été utilisée pour décrire les lésions. L'aspect clinique des lésions des pieds diabétiques est représenté dans le tableau IV.

Tableau XII: L'aspect des lésions des pieds diabétiques infectées.

<p>Grade 2</p>		
<p>Grade 3</p>		
<p>Grade 4</p>		

50 % de nos patients présentaient des plaies de grade 2 alors que 35 % des cas, étaient admis à un stade où l'évolution des lésions rend impossible le sauvetage du membre. Une prise en charge plus précoce aurait permis d'éviter l'amputation car le malade se serait présenté avec des lésions de moindre gravité. 15 % des cas avaient des plaies de grade 3. Les résultats sont résumés dans le (Tableau XIII) (Figure 13).

Tableau XIII : La répartition des pieds diabétiques infectés selon les grades de la plaie.

Grade	Grade 1	Grade 2	Grade 3	Grade 4
Nombre	0	10	3	7
Pourcentage	0%	50%	15%	35%

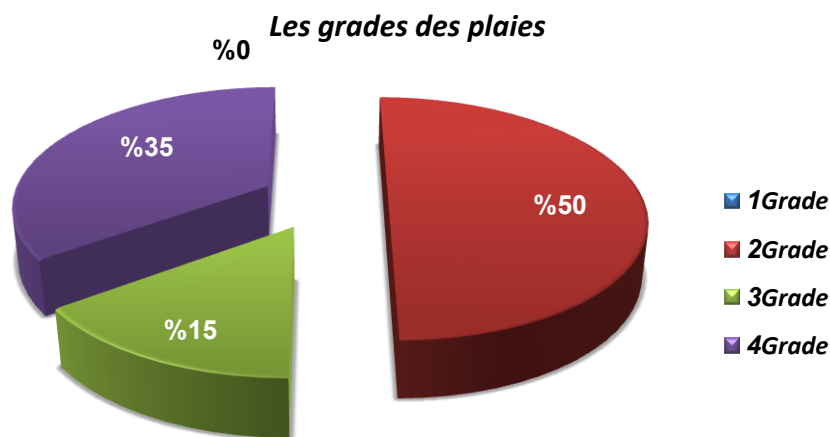


Figure 13 : Répartition de 20 pieds diabétiques selon les grades de la plaie.

II.2. Répartition selon les cas d'amputation

En littérature générale, les chiffres concernant les taux d'amputation sont particulièrement variables selon les publications, non seulement en raison des facteurs de risque mais également du manque d'homogénéité de l'expression des résultats (Richard et Schuldiner, 2008). Les résultats de notre étude sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau XIV : la répartition des patients selon l'amputation.

l'imputation	Nombre	Pourcentage (%)
Pied	03	13.63
Un orteil	01	4.54
Deux orteils	02	9.09
Cinq orteils	03	13.63
Absence d'amputation	13	59.09

Durant notre étude, une amputation majeure (au-dessus du pied) a été réalisée chez 13,63 % de malades amputés. Les amputations mineures étaient de 13,63% pour les patients amputés de leurs cinq orteils, 9,09 % amputés de deux orteils et finalement 4,54 % avaient perdu un orteil. 59,09 % des patients ne présentaient aucune amputation.

Dans la région Méditerranée, les amputations majeures étaient deux fois plus fréquentes que les amputations mineures (**Oberlin, 2006**), cette différence pourrait être liée à des habitudes de vie différentes, notamment de chaussage, liées au climat, et par une prise en charge thérapeutique préventive moins développée. Plus généralement, dans le monde entier, on estime qu'une amputation des membres inférieurs est réalisée toutes les 30 secondes dans la population diabétique (**Bakker et Riley, 2005**).

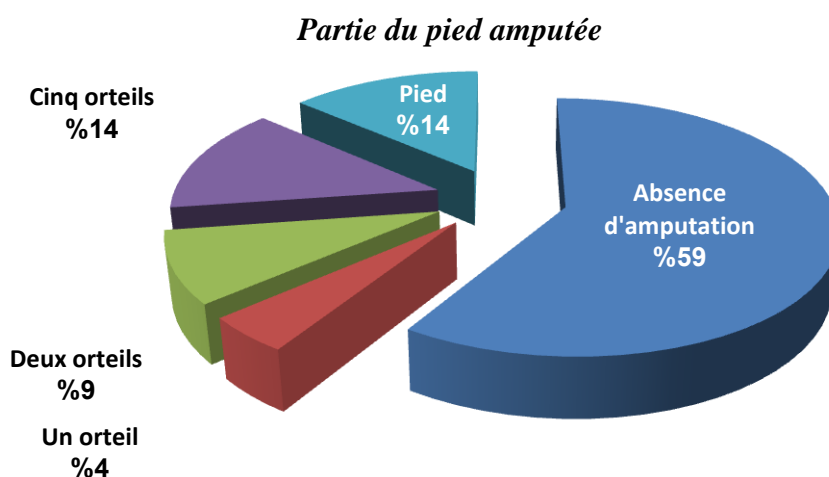


Figure 14 : Répartition des patients selon l'imputation

III. Résultats paracliniques

III.1. Glycémie à l'admission

La glycémie a été pratiquée chez tous nos malades, la moyenne de glycémie mesurée était de 3,36 g/l avec des valeurs minimales et maximales de glycémie respectivement de 1,70 et 6 g/l. La fréquence et la sévérité des infections du pied diabétique trouvent leur origine dans l'altération des fonctions des polynucléaires neutrophiles, particulièrement marquée en cas d'hyperglycémie prolongée, dans l'anatomie particulière du pied qui favorise la dissémination de l'infection et dans la neuropathie qui rend la plaie du pied non douloureuse (**Senneville, 2002**) Nos données confirment le fait que l'infection en général, le pied diabétique en particulier, est un facteur de déséquilibre du diabète. (**Ahroni, 1991**)

IV. Résultats bactériologiques

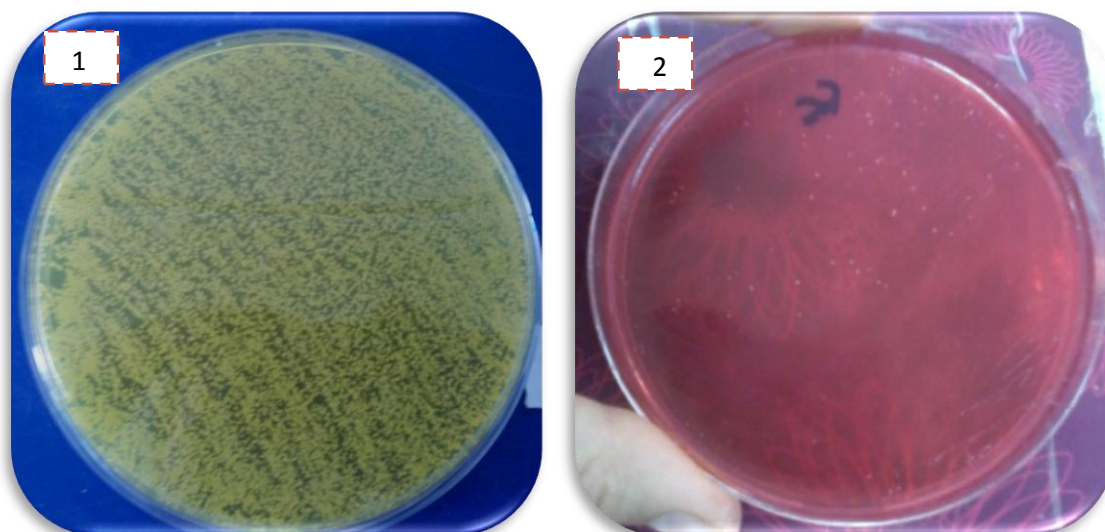
IV.1. Biodiversité morphologique des isolats

IV.1.1. Aspect macroscopique et microscopique des isolats

Après incubation, on remarqué l'apparition de plusieurs types de colonies à la surface des milieux ensemencés. Les photographies 01, 02 et 03 montrent les résultats de l'isolement des prélèvements de pus sur la gélose Hektoen, Chapman et Sabouraud. Une coloration de Gram a été pratiquée sur quelques colonies prises au hasard.

Pour les colonies apparues sur gélose Chapman (**Photographie 03**) on a pratiqué un test de catalase qui a été positif et un test de staphylocoagulase pour les colonies d'aspect doré.

En se basant sur le résultat de la coloration de Gram : cocci en grappe de raisin Gram positif, du test catalase : positif et du test staphylocoagulase : positive on peut conclure que notre espèce est *Staphylococcus Aureus* (**boîte 1**), les colonies appartenant à cette espèce ont été retenues pour connaître leur profil de résistance aux antibiotiques par la réalisation d'un antibiogramme.

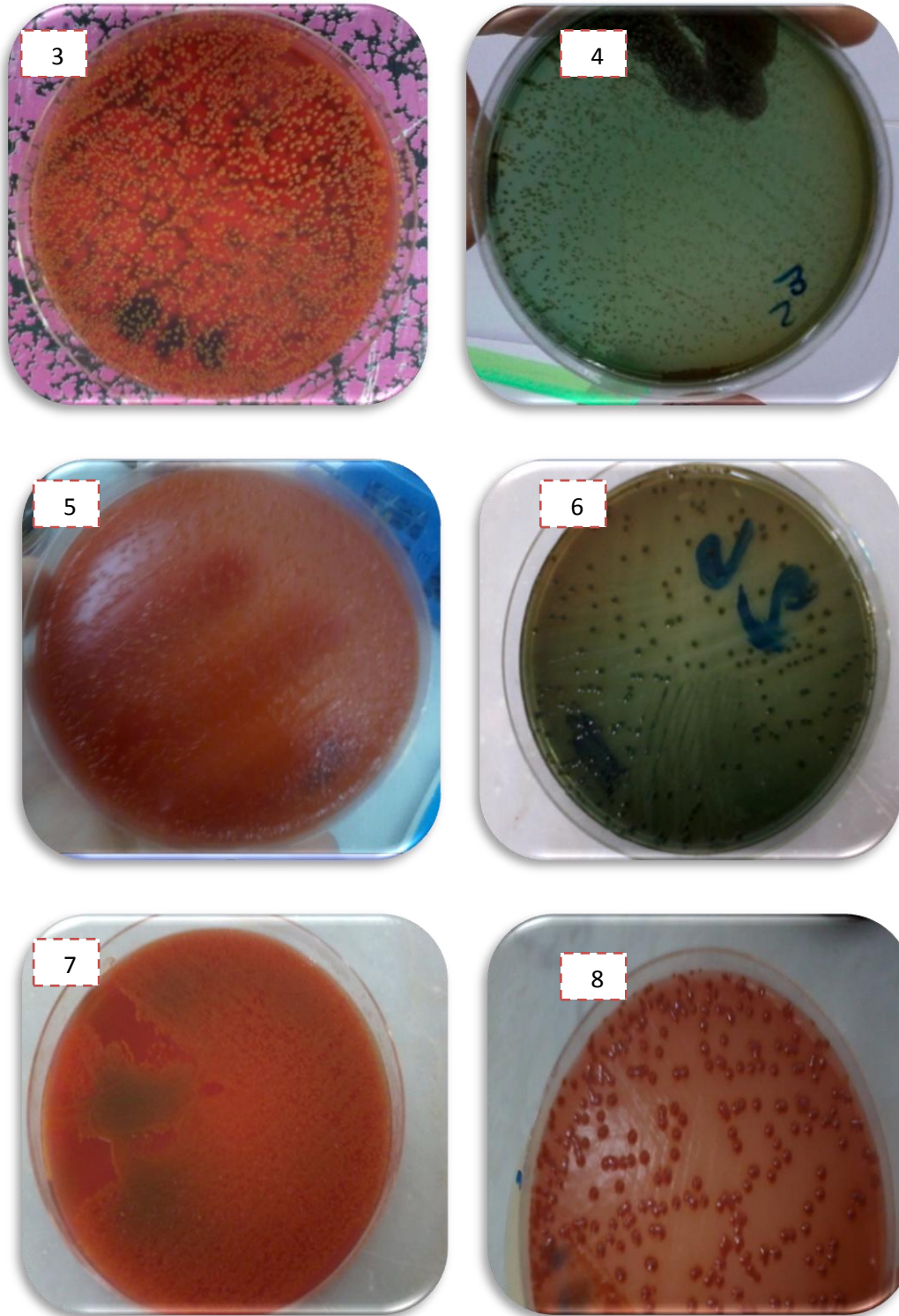


Photographie 03 : Aspect macroscopique des souches isolées sur gélose Chapman.

Tableau XV : Observation des caractères cultureux et morphologique des bactéries isolées sur gélose Chapman.

Milieu de culture	Caractères cultureux	Caractères microscopiques
Gélose Chapman	<ul style="list-style-type: none"> - Colonies pigmentées jaunes d'or. - Colonies non pigmentées, brillantes, crémeuses, blanches et de 1-2 mm. 	

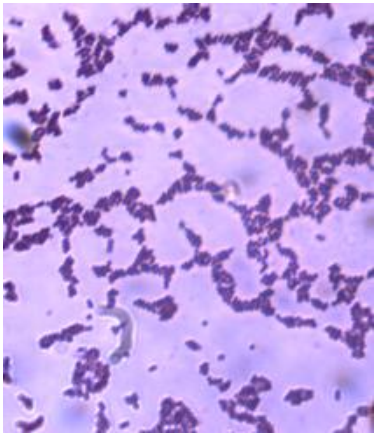
Pour les colonies apparues sur gélose Hektoen (**Photographie 03**) on a fait une purification des colonies par repiquage successifs sur le même milieu, sur les colonies apparues sur les boîtes 4 et 6 on a pratiqué un test d'oxydase. Une fois purifiées les colonies ont été identifiées par l'utilisation des galeries API 20 E.

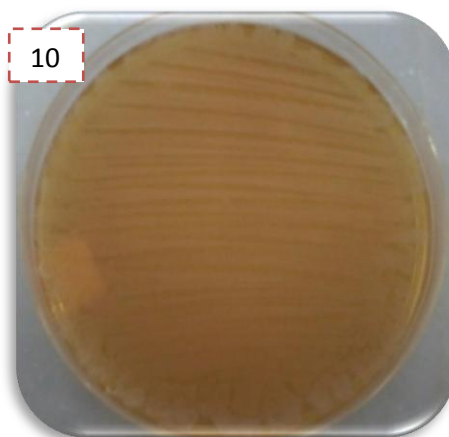


Photographie 04 : Aspect macroscopique des souches isolées sur gélose Hektoen

Les résultats de l'étude des différents caractères macroscopiques et microscopiques des colonies sont représentés dans le **Tableau XVI**.

Tableau XVI: Observation des caractères culturaux et morphologique des bactéries isolées sur gélose Hektoen.

Milieu de culture	Caractères culturaux	Caractères microscopiques
Gélose Hektoen	<ul style="list-style-type: none"> - Petites colonies saumon, rondes, lisses, A bords réguliers, bombées, brillantes. - Colonies moyennes saumon irrégulières, plates et rugueuses. - Grandes colonies muqueuse saumon irrégulières, brillantes, lisses. - Colonie vertes rondes, lisses, à bords réguliers, plat brillante, sèche. 	



Photographie 05 : Aspect macroscopique des souches isolées sur gélose Sabouraud.

Les mycoses des pieds étaient fréquentes chez nos patients puisqu'elles étaient retrouvées chez 65 % des patients. Cette fréquence élevée est retrouvée dans une étude tunisienne. (El Fékih *et al.*, 2009)

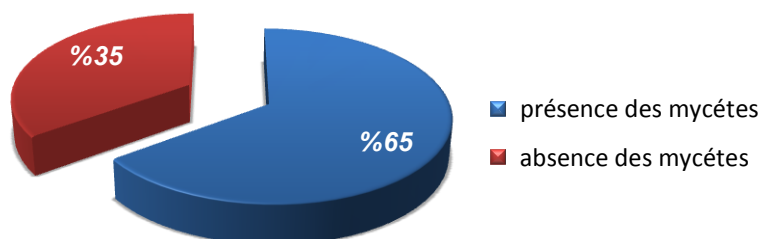


Figure 15 : Le pourcentage des cultures positives pour les mycètes.

En effet, Les mycoses du pied, très fréquentes dans la population générale sont considérées comme un facteur de gravité chez le diabétique. Elles trouvent sur ce terrain les conditions idéales à leur développement et exposent aux risques de surinfection bactérienne.

IV.2. Identification biochimiques sur galeries API 20 E

En utilisant le tableau de lecture et le logiciel API Excel (**Annexe 04**) des galeries API 20 E, on a pu identifier huit espèces bactériennes différentes dont l'aspect figure sur le **Tableau XVII**. Il s'agit de: *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter gergovia*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia rubidaea*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Pseudomonas aeruginosa est un bacille gram négatif non fermentaire son identification sur galerie API 20 a donné le résultat suivant :



IV.3. Répartition des espèces identifiées

Les résultats obtenus ont montré que la flore bactérienne identifiée est constituée à 50% de bacilles Gram négatif et à 50% des Cocci Gram positif. La **figure 16** présente la répartition des germes identifiés selon leurs familles et espèces d'appartenance.

La majorité des souches isolées appartiennent à l'espèce *Staphylococcus aureus* avec un pourcentage de 50%. *Escherichia coli* était présente dans 13.63% des cultures bactériennes suivi par l'espèce *Enterobacter cloacae* avec 9,09 % puis les espèces *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter gergovia*, *Klebsiella oxytoca*, *Serratia rubidaea*, *Pseudomonas aeruginosa* avec un pourcentage de 4,54% chacune. (**Figure 16**)

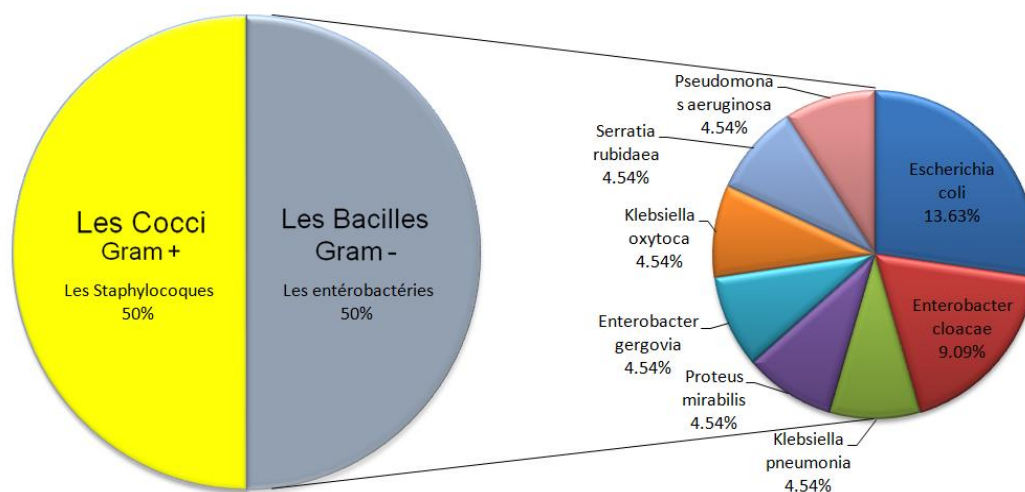


Figure 16: Pourcentage des espèces bactériennes identifiées.

Tableau XVII : Résultats de l'identification sur galerie API 20 E

	Identifications des espèces avec les galeries biochimiques API 20 E																			
	ONPG	ADH	LDC	ODC	CT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
<i>Enterobacter cloacae</i>	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Escherichia Coli</i>	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+
<i>Proteus mirabilis</i>	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>Enterobacter gergovia</i>	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+
<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+
<i>Serratia rubidaea</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+

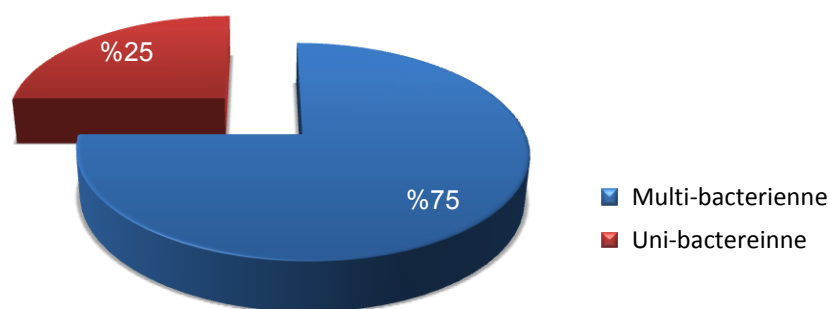
La microbiologie des infections du pied diabétique est particulière. Il existe une corrélation entre les bactéries isolées et le tableau clinique (Tableau XVII). Les bactéries aérobies à Gram positif sont les plus fréquentes ; dans ce groupe, *Staphylococcus aureus* est la bactérie le plus souvent mise en évidence, de façon isolée ou au sein d'une population polymicrobienne (El Tahawy, 2000), lors d'infections qu'elles soient superficielles ou profondes.

Les bacilles aérobies à Gram négatif, essentiellement de la famille des entérobactéries, se rencontrent généralement, en cas d'infections chroniques ou déjà traitées (Pathare *et al.*, 1998). *Pseudomonas aeruginosa* est volontiers isolé après des hospitalisations de longue durée, l'application de pansements humides, des bains de pieds ou le port de bottes en caoutchouc (El-Tahawy, 2000).

La plus part des plaies infectées de nos patients étaient de grade 02 (50 %) et d'une durée supérieure à 01 mois; elles sont causées par les espèces citées précédemment. Ce résultat concordait avec celui d'une étude relativement importante réalisée dans 90 centres médicaux aux Etats Unis qui a montré que les cocci gram positif étaient les plus répandus et dominés par *Staphylococcus aureus* et dont les patients avaient des lésions évoluées de grade 1,2 ou 3 (Benzidia, 2010)

IV.4. Caractéristiques multi ou uni bactérienne de la flore identifiée

La majorité des infections du pied diabétique sont polymicrobiennes. Le nombre d'agents pathogènes isolés varie selon les études, avec une moyenne de 2 à 5 isolats par épisode d'infection. L'évolution d'un pied diabétique infecté est influencée par les bactéries responsables de l'infection, elle est plus favorable quand les gram positifs prédominent, alors qu'elle est plus compliquée lorsqu'il s'agit des gram négatifs (*Proteus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*), alors que les anaérobies sont responsables de gangrène gazeuse mortelle, le plus souvent (Got, 2000).



Caractéristique de la flore bactérienne trouvée

Figure 17 : la répartition selon le caractère Multi ou Uni bactérien de la flore identifiée.

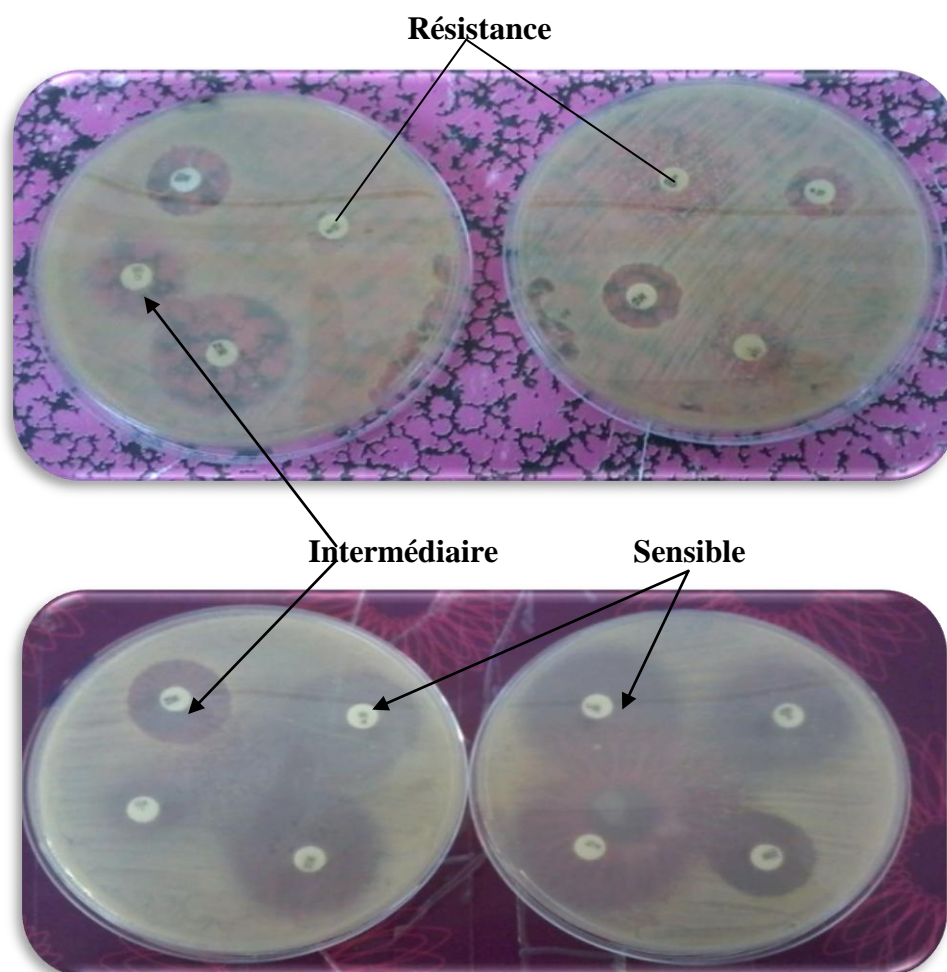
75% de nos prélèvements (15) étaient à flore multi-bactérienne, alors que seulement 25% (5) étaient à flore uni-bactérienne avec une prédominance de l'espèce *Staphylococcus aureus*. En effet plusieurs de nos patients étaient en bonne évolution surtout ceux hospitalisés à l'EPH Kais dont la plus part quittaient l'hôpital avec une plaie cicatrisée, résultat d'une prise en charge du pied diabétique optimale dans une équipe multidisciplinaire.

V. Antibiorésistance des espèces identifiées

Le profil de résistance a été déterminé par la méthode de diffusion sur milieu Mueller Hinton.

La résistance aux antibiotiques a été testée pour chacune des bactéries identifiées vis-à-vis d'antibiotiques couramment utilisés en thérapie clinique. Les résistances naturelles des souches isolées n'ont pas été prises en considération. (**Annexe 06**)

La **photographie 06** montre les antibiogrammes obtenus, les valeurs des diamètres d'inhibitions sont comparées aux valeurs du tableau de lecture (**Annexe 07,08,09**). Les valeurs obtenues nous ont permis de classer les bactéries en sensible (S), intermédiaire (I) ou résistante (R) à chaque antibiotique.



Photographie 06 : Aspect des antibiogrammes obtenus.

V.1. Antibiorésistance des Entérobactéries

La résistance aux antibiotiques à été testée pour chacune des bactéries identifiées vis-à-vis de 12 antibiotiques.

Tableau XVIII : Classes de résistance des Entérobactéries obtenues après lecture de l'antibiogramme.

Malades	AMP	AUG	KZ	CTX	IMI	AK	CN	OFX	C	FOS	SXT	F
S2	I	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S
S5	S	I	R	S	S	S	R	I	S	R	R	R
S6	R	R	R	S	S	S	S	I	S	S	S	S
S10	R	R	R	R	S	S	S	R	S	R	R	S
S13	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S14	R	R	R	R	S	S	R	I	S	R	R	S
S15	R	S	I	S	S	R	I	I	S	R	S	S
S16	R	I	R	I	S	R	S	S	S	R	S	S
S19	R	R	R	I	R	R	I	I	S	R	S	R
S20	R	R	R	R	S	S	R	S	R	S	R	S

R : Résistance

S : Sensible

I : Intermédiaire

Les taux de résistance pour chaque antibiotique sont calculés. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau XIX.

Tableau XIX : Les taux de résistance des Entérobactéries aux antibiotiques.

Profil de résistance ATB	% de sensibilité des bactéries	% d'intermédiaire des bactéries	% de résistance des bactéries
AMP	10	10	80
AUG	10	20	70
KZ	10	10	80
CTX	50	20	30
IMI	90	0	10
AK	70	0	30
CN	50	20	30
OFX	40	50	10
C	90	0	10
FOS	30	0	70
SXT	60	0	40
F	80	0	20

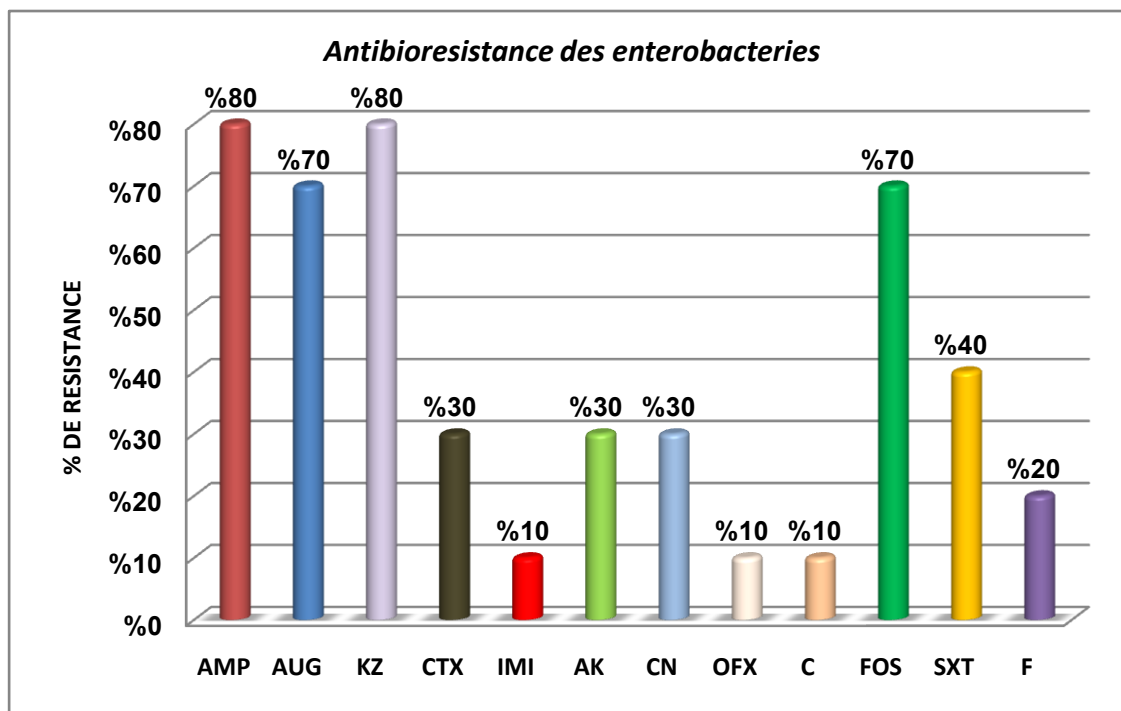


Figure 18: Pourcentage d'isolats des entérobactéries résistantes à divers antibiotiques.

On observe que les taux de résistance varient nettement d'un antibiotique à l'autre. La fréquence élevée de résistance des entérobactéries aux ampicillines, amoxicilline-acide clavulanique et céphalosporines de première génération est en rapport avec la présence des bactéries ayant un phénotype de céphalosporinase naturelle (*Enterobacter*, *Serratia*, *Klebsiella*). Ces antibiotiques sont aussi les plus anciens et les plus utilisés. La résistance au Cefotaxime (céphalosporine de troisième génération) est en rapport avec le phénotype bêtalactamase à spectre élargi, phénotype exclusivement hospitalier. Dans notre étude, L'imipénème exprime une bonne activité vis-à-vis des isolats d'entérobactéries seulement 10 % de résistance. On note également une sensibilité élevée au chloramphénicol (90%), à l'ofloxacine (90%), et aux furanes (80 %).

Les taux de résistance obtenus pour les antibiotiques appartenant à la classe des aminosides sont également faibles avec 30% pour l'Amikacine (AK) et la Gentamicine (CN).

Pour les autres antibiotiques, la Fosfomycine (FOS) présente un taux de résistance élevé 70%, l'association Sulfaméthoxazole+Triméthoprime (SXT) 40%,

V.1.1. Multirésistance des entérobactéries

Notre travail a également permis d'étudier le phénomène de multirésistance. Les pourcentages de souches résistantes à au moins deux, à au moins trois, à au moins cinq et à au moins 7 antibiotiques ont été calculés et rapportés dans la figure 6. Cette analyse montre que la totalité (100%) des isolats résiste à au moins deux antibiotiques, suivi par les isolats qui résistent

à au moins trois antibiotiques avec 90%, 50% des isolats résistent à au moins cinq antibiotiques et 40% des isolats résistent à au moins sept antibiotiques.

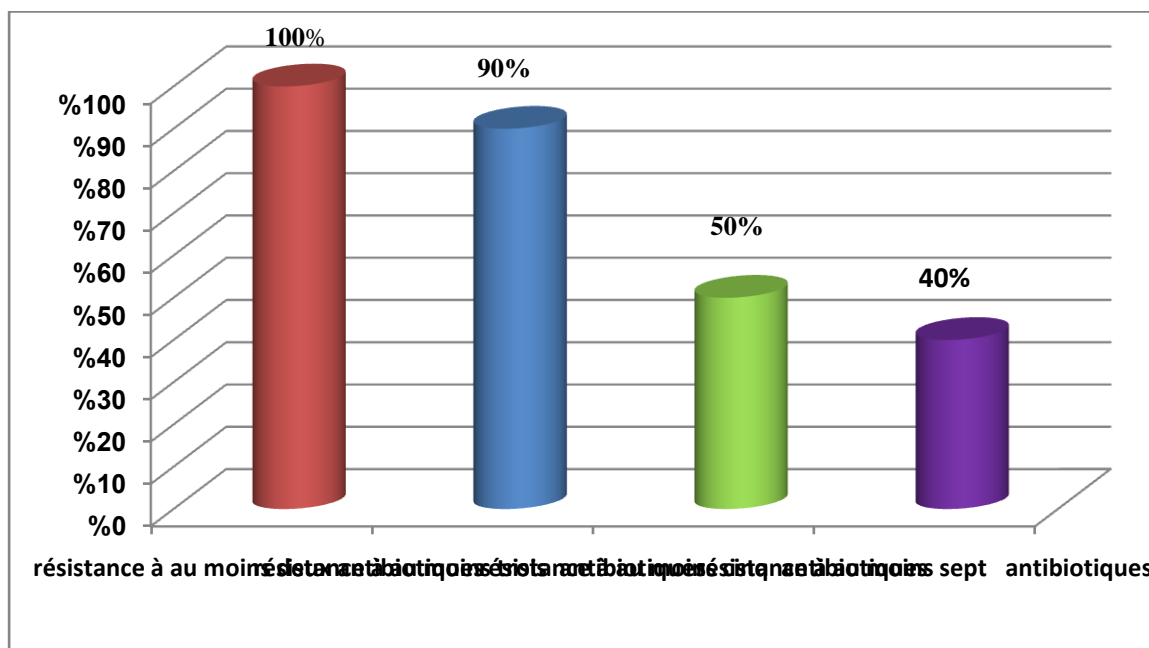


Figure 19: Pourcentage d’isolats des entérobactéries résistants à au moins 2, 3, 5 et 7 antibiotiques.

La sélection de germes multirésistants en milieu hospitalier est une préoccupation majeure à laquelle il faut être attentif, eu égard à l’usage systématique et obligé dans la pratique de l’antibiothérapie probabiliste. Ces germes multirésistants sont susceptibles d’accroître la durée d’hospitalisation et le coût de la prise en charge du pied diabétique, ainsi que d’influer sur la morbidité et la mortalité (Gadepalli, 2006).

V.2. Antibiorésistance de *Staphylococcus aureus*

La résistance aux antibiotiques à été testée pour chacune des bactéries identifiées vis-à-vis de 12 antibiotiques.

Tableau XX : Classes de résistance de *Staphylococcus aureus*

Malades	P	OX	CN	AK	E	CD	VA	OFX	TEC	TE	C	SXT
S1	R	R	S	S	R	R	S	R	S	S	S	R
S4	R	R	S	S	I	R	S	R	S	S	S	R
S8	R	R	S	S	S	R	S	R	S	S	S	R
S10	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R
S12	R	S	S	S	I	I	S	S	S	S	S	S
S15	R	R	I	R	R	I	S	S	R	R	I	I
S16	R	R	I	R	I	R	S	R	R	R	I	R
S17	R	R	I	I	I	I	S	R	I	S	S	I
S18	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S20	R	R	S	S	R	I	S	S	S	R	S	S

Les taux de résistance pour chaque antibiotique sont calculés. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau XXI.

Tableau XXI : Les taux de résistance de staphylocoque aux antibiotiques.

Profil de résistance ATB	% de sensibilité des bactéries	% d'intermédiaire des bactéries	% de résistance des bactéries
P	0	0	100
OX	10	0	90
CN	70	30	0
AK	70	10	20
E	30	40	30
CD	20	40	40
VA	100	0	0
OFX	50	0	50
TEC	70	10	20
TE	60	0	40
C	80	20	0
SXT	30	20	50

Antibioresistance de *Staphylococcus aureus*

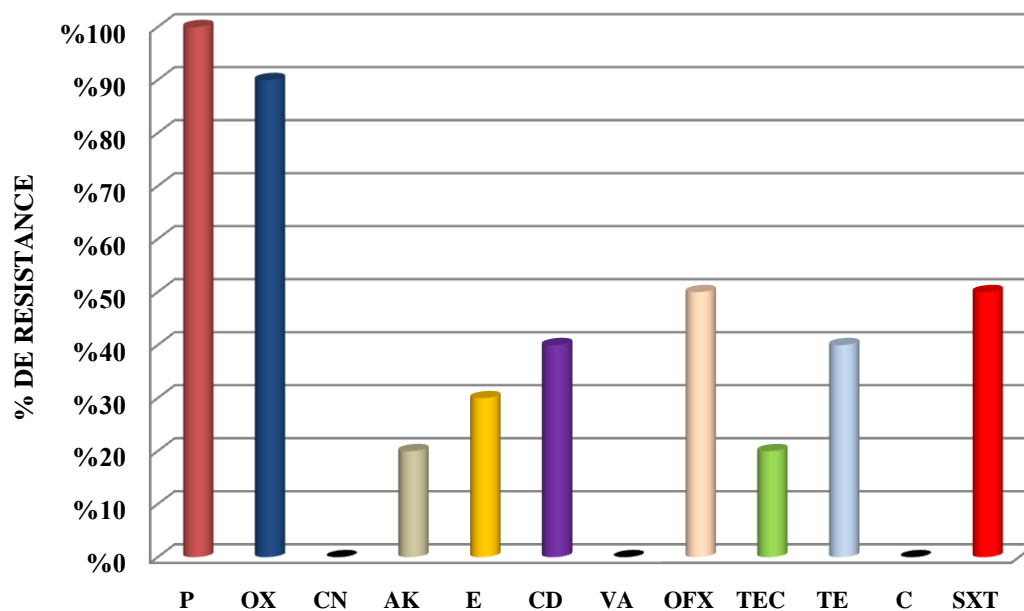


Figure 20: Pourcentage d'isolats de *Staphylococcus aureus* résistantes à divers antibiotiques.

Pour les β -lactamines, 100% de nos isolats étaient résistants à la pénicilline et L'oxacilline (OX) présente le deuxième taux élevé de résistance 90%.

Les taux de résistance obtenus pour les antibiotiques appartenant à la classe des aminosides sont faibles avec 20% pour l'Amikacine (AK) et 0% pour la Gentamicine (CN).

Pour les macrolides L'érythromycine (E) présente un taux de résistance avec 30%.
 Pour les quinolones l'Ofloxacin (OFX) présent un taux de résistance également élevé avec 50%.

Pour les autres antibiotiques, les souches résistent de manière décroissante, l'association Sulfaméthoxazole +Triméthoprim (SXT) (50%), les deux antibiotiques la Clindamycine (CD) et la Tétracycline (TE) avec un taux de résistance 40% pour chacune, la Teicoplanine (20%) et les deux antibiotiques la Vancomycine (VA) et la Chloramphénicol (C) sont les antibiotiques qui présentent un taux de résistance nul.

V.2.1. Multirésistance de *Staphylococcus aureus*

Notre travail a également permis d'étudier le phénomène de multirésistance. Les pourcentages de souches résistantes à au moins deux, à au moins trois, à au moins cinq et à au moins six antibiotiques ont été calculés et rapporté dans la figure 8.

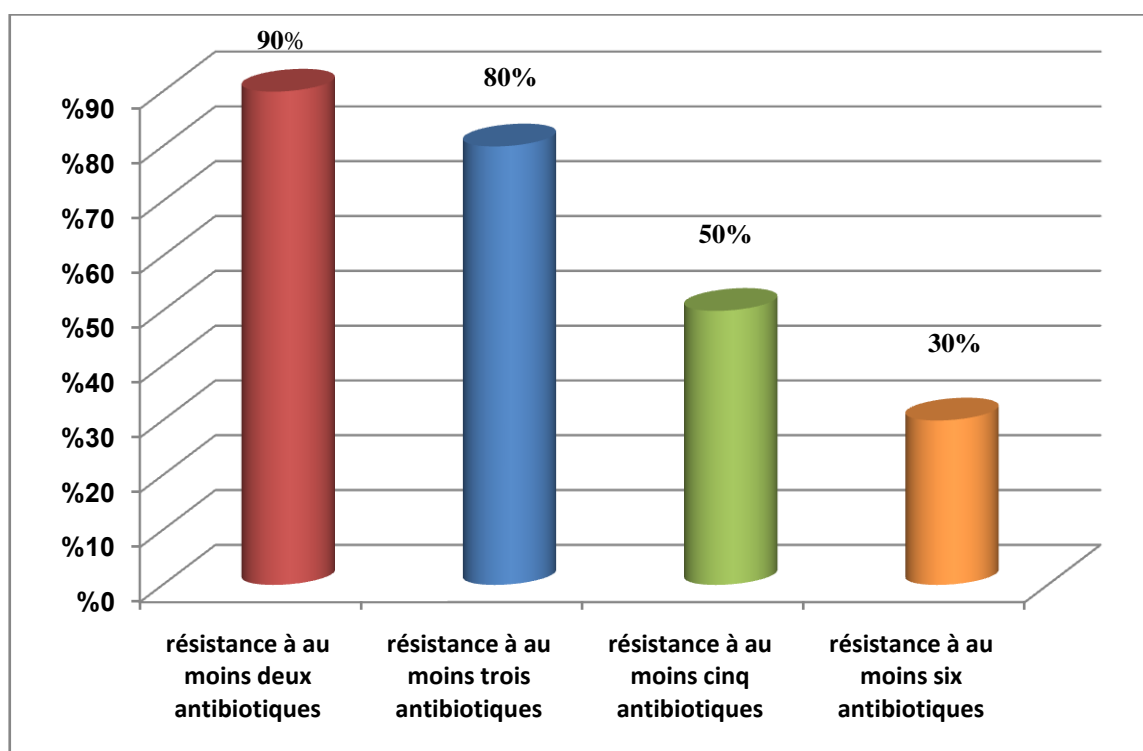


Figure 21: Pourcentage d'isolats de *Staphylococcus aureus* résistants à au moins 2, 3 et 5 antibiotiques.

Cette analyse montre que 90% des isolats résistent à au moins deux antibiotiques, alors que 80% des isolats résistent à au moins trois antibiotiques puis des isolats qui résistent à au

moins cinq antibiotiques avec 50%.alors que 30% les isolats résistent à au moins six antibiotiques.

V.3. Antibiorésistance de *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa, ou bacille pyocyanique, est l'espèce du genre la plus fréquemment isolée en pathologie infectieuse Peu virulent pour un individu normal, la bactérie exerce son pouvoir pathogène en général à la faveur d'un état d'immunodépression et peut alors être un agent infectieux redoutable.

Le pouvoir pathogène du bacille pyocyanique est attribué à la production de nombreux facteurs de virulence membranaires et extracellulaires. Parmi les facteurs membranaires, on peut distinguer les pili, les adhésines non piliées, le flagelle et l'alginate, qui interviennent principalement dans l'adhérence de la bactérie aux muqueuses et dans la formation des biofilms [64]. Les facteurs extracellulaires sont les exotoxines, les protéases, les hémolysines, la phospholipase et les toxines protéiques dont le rôle principal est l'altération des cellules épithéliales et leucocytaires et la dégradation des tissus.

Pseudomonas aeruginosa, exprime des résistances naturelles à de nombreux antibiotiques et possède la capacité d'acquérir de nombreux mécanismes de résistance. Pour les isolats cliniques, l'exposition aux antibiotiques est reconnue comme étant le principal facteur de risque pour l'acquisition de résistances aux bêta-lactamines.

Les *Pseudomonas* sont des espèces opportunistes naturellement résistantes à plusieurs antibiotiques. À cette résistance naturelle s'ajoute une résistance acquise puisque ces bactéries cumulent de nombreux mécanismes de résistance aux antibiotiques. La souche de *Pseudomonas aeruginosa* étudié est résistante au Cefatazidime (CAZ) et aux aminosides (Tobramycine (TIC), Amikacine (AK))

Pour les autres β -lactamines (Ticarcilline(TIC), Aztreonam(AZT), Pipracilline(PI)) et l'aminoside Gentamicine(CN), la souche est sensible.

Conclusion

Conclusion :

Ce mémoire de thèse s'inscrit dans la problématique de l'identification des germes pathogènes responsables des infections des pieds diabétiques, leur rôle dans cette pathologie ainsi que leur antibiorésistance.

Dans le cadre de ce travail, nous avons tout d'abord mené une étude bibliographique sur le diabète, sa classification, ses complications et sur les lésions et infections du pied diabétique.

Dans ce cadre nous avons étudié 20 malades présentant des pieds diabétiques au niveau de la paillasse bactériologie du laboratoire central de l'E.P.H. 120 lits de la wilaya de Khenchela sur une durée d'un mois. Des prélèvements et des études bactériologiques sont réalisés.

Sur 20 patients. L'âge moyen était de 58 ans, 85% d'homme. Le diabète type 1 était prédominant 70%. L'ancienneté moyenne du diabète était de 10.18 ans. Un seul cas de découverte initiale du diabète lors de la prise en charge. Le grade 2 d'infection était prédominant 50%. L'imputation du pied représentait 13.63%. La moyenne de glycémie était 3,36g/l.

Nos résultats de l'examen bactériologique mettent en évidence de façon systématique la présence des bactéries, 50% des Bacilles Gram négatif (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter gergovia*, *Klebsiella oxytoca*, *Serratia rubidaea*, *Pseudomonas aeruginosa*) et 50% des Cocci Gram positif (*Staphylococcus aureus*), On note aussi la présence des mycètes avec 65%.

Pour la résistance des bactéries aux antibiotiques, nos résultats montrent une différence importante en pourcentage de résistance, beaucoup de résistances acquises et d'importante multi-résistance surtout aux bêta-lactamines.

*Références
bibliographiques*

Références Bibliographiques

1. **Ahroni JH. (1991).** The care of lower extremity lesions in patients with diabetes. Nurse Pract. 2(3). Pp: 188-192.
2. **Allan L. (2008).** Optimisation de la revascularisation des îlots pancréatiques au cours de la transplantation: approche génétique ou pharmacologique?. Thèse de doctorat. Université Louis Pasteur Strasbourg I. Pp : 19-20.
3. **American Diabetes Association (ADA). (1997).** Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care.21 (sup.1).Pp: 5-19.
4. **American Hospital Association (AHA). (1986).** Hospital Statistics. Chicago: American Hospital Association.
5. **Andriamiandrisoa V.L. (2010).** Les plaies du diabétique : a propos de 52 cas observes à l'USFR Endocrinologie du CHU JRB. Thèse de Doctorat en Médecine. Université D'antananarivo Faculte De Medecine.
6. **Anonyme. (2007).** Prise en charge du pied diabétique infecté. Médecine et Maladies Infectieuses. Pp: 26-50.
7. **Armand M. (2007).** Molinier Pathologie médicale et pratique infirmière : Hépatologie, gastro-entérologie, nutrition, endocrinologie, urologie-néphrologie, gynécologie, obstétrique, pédiatrie néonatale, pédiatrie du nourrisson et du jeune enfant, pédopsychiatrie. Wolters Kluwer France. Pp : 147.
8. **Ashford RL., MC Gee P., Kinmond K. (2000).** Perception of quality of life by patients with diabetic foot ulcers. The diabetic foot. Pp : 150-155.
9. **Atlas du diabète de la Fédération internationale du diabète (FID).** 6em édition. Pp : 25.
10. **Bah A., Bassinga J.Y.S., Ouzaa M.R., Ouedraogo S.M.L., Amarir M., Bennis A., Benchakroun M., Tanane M., Boussouga M., Jaafar A. (2015).** Pied diabétique en orthopédie : analyse et évaluation de nos résultats. Médecine et Chirurgie du Pied. Volume 31. Issue 1. Pp : 32-37.
11. **Barbara M. (2010).** Endocrinologie. De Boeck supérieur. Pp : 78.
12. **Benzidia B. (2010).** Ecologies des bactéries isolées du pied diabétique infecté, et leurs comportements vis-à-vis des antibiotiques. Etude prospective réalisée à l'hmimv Rabat. Thèse Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie. Faculté de médecine et de pharmacie. Rabat. Pp : 155.

13. **Bertal F.K., Errajraji A., Diouri A.** Profil clinique, bactériologique et thérapeutique de l'infection du pied diabétique. A propos de 31 cas. *Endocrinologie Diabétologie Nutrition, CHU, Marrakech, Maroc*
14. **Besse JL., Leemrijse T., Deleu TA. (2011).** Le pied diabétique : place de la chirurgie orthopédique. *Revue Chirurgie Orthopédique*. Pp : 302-19.
15. **Bio-Mérieux. (2009).** Catalogue Analytique API 20 E. Système d'identification des Enterobacteriaceae et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux (Réf. 20100/20160). biomérieux. Pp : 52.
16. **Buyschaert M., Hermans M.P., (1998).** Critères révisés et nouvelle classification des diabètes sucrés. *Louvin Med*. Pp: 117: 1-6.
17. **Clare S. (2001).** Evaluation de l'infection dans les ulcères du pied diabétique. *Journal des plaies et cicatrisations*. 28. Pp : 29-35.
18. **Collège des Enseignants d'Endocrinologie, Diabète et Maladies Métaboliques. (CEEDMM). (2011).** Item 233 b : Diabète sucré de type 2.
19. **Delarras C. (2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Tec& Toc. Lavoisier.
20. **Dupre JC.** HÔPITAL VILLIERS ST DENIS. Protocole de Soins Des Plaies Du pied Diabétique Ampute Ou Non. Pp : 3-5.
21. **El allali B. (2015).** Prise en charge chirurgicale du pied diabétique. Thèse pour l'obtention du doctorat en médecine. Université Mohammed v – rabat faculté de médecine et de pharmacie –rabat. Pp : 9-10-11.
22. **El Fékih N., Fazaa B., Zouari B., Sfia M., Hajlaoui K., Gaigi S., Kamoun M.R. (2009).** Les mycoses du pied chez le diabétique : étude prospective de 150 patients. *Journal de Mycologie Médicale*. 19. Pp : 29-33.
23. **El-Tahawy A. (2000).** Bacteriology of diabetic foot. *Saudi Med J*;213. Pp: 44-7.
24. **Feuillade de Chauvin M. (2000).** Mycoses métropolitaines. *Encycl Med Chir Dermatologie*. Pp : 11 [98-380-A-10].
25. **Gadepalli R., Dhawan B., Sreenivas V., et al. (2006).** A clinico-microbiological study of diabetic foot ulcers in an Indian tertiary care hospital. *Diabetes Care*.29. Pp : 1727-32.
26. **Got I. (2000).** Risques infectieux dans le pied diabétique, évaluation et traitement. *Journal des plaies et cicatrisations*. 24. Pp : 17-21.
27. **Guy M., Romain V. (2003).** Guide des plaies : du pansement à la chirurgie. John Libbey Eurotext. Pp : 199.

- 28. Hajjoubi A. (2012).** Les actualités dans la prise en charge du pied diabétique. Thèse pour l'obtention du doctorat en médecine de l'école royale du service de santé militaire. Rabat. Faculté de médecine et de pharmacie. Rabat. Pp : 187.
- 29. Hartmann-Heurtier A., Marty L., Ha Van G., Grimaldi. (2000).** A Place de l'antibiothérapie dans le traitement du pied diabétique. Diabète Metab26. Pp: 2-24.
- 30. Ibo Issa Maman N. (2013).** Antibiothérapie des infections du pied diabétique. Thèse Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie. Faculté de médecine et de pharmacie. Rabat.
- 31. Jean-Philippe L., Jean-Louis R., Albert S. (2011).** Nouvelles avancées dans les infections des plaies du pied chez le patient diabétique. Revue Francophone Des Laboratoires. Pp : 58.
- 32. Johan W., Patricia S., Frank N., Luc Feyen, Paul V.C., Hilde B., Paul V.R. (2007).** Recommandations de Bonne Pratique, Diabète Sucre de Type 2. Société scientifique de Médecine Générale SSMG. Pp : 20-21-24.
- 33. Joséphine S. (2013).** Efficacité bioclinique de l'éducation thérapeutique des diabétiques de type 2 au centre d'éducation diabétique et diététique de Nouvelle-Calédonie. Thèse de doctorat en médecine. Université Joseph Fourier. Pp : 36.
- 34. Kabre S.M. (2001).** Les lésions des pieds et des mains chez le diabétique au centre hospitalier national Yalgado Ouedraogo. Thèse pour l'obtention du grade de docteur en médecine (diplôme d'état). Université de Ouagadougou UFR des sciences de la santé section médecine. Pp : 38-43.
- 35. Lachapelle. (2004).** Vade-mecum sur la prise en charge des plaies. Roulers : Roeselare éd, 78. Pp : 1-37.
- 36. Lange G. (2004).** l'âge moyen de découverte du diabète de type 2 diffère significativement selon la catégorie sociale. Thèse de doctorat en médecine. Université PARIS 7 – DENIS DIDEROT. Pp : 14.
- 37. Lavigne., Sotto A. (2011).** Bactériologie du Pied Diabétique - DESC Maladies Infectieuses. 34P.
- 38. Loyal B. (2012).** Les traitements innovants du diabète de type 1 : focus sur la greffe des îlots de Langerhans (son historique, son optimisation et ses défis réglementaires). Thèse de doctorat en pharmacie. Université Joseph Fourier. Pp : 18-30-33.
- 39. Lokrou A., Angnès Memel T., Koffi Dago P. (2013).** Bactériologie du pied diabétique en Côte-d'Ivoire. Bacteriology of diabetic foot lesions in Ivory Coast. Médecine des maladies Métaboliques. Pp : 478.

- 40. Lungu A. (2012).** Comparaison de deux durées de traitement antibiotique (6 versus 12 semaines) des ostéites du pied diabétique. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en médecine Université Du Droit Et De La Santé - Lille 2. Faculté De Médecine Henri Warembourg. Pp : 129.
- 41. Martin B. (2006).** Diabétologie clinique .De Boeck Supérieur. 3^{ème} Edition. Amazon France. Pp : 16-17-33-34.
- 42. Maurice B. (2004).** pathologie ostéo-articulaire du pied et de la cheville. Springer Science Business Media. Pp : 127-128.
- 43. Maurice O. (2008).** Biochimie du diabète – PCEM2. Pp : 5.
- 44. Monabeka HG., Nsakala-Kibangou N. (2001).** Aspects épidémiologiques et cliniques du pied diabétique au CHU de Brazzaville. *Bull Soc Pathol Exot.* Pp : 246-248.
- 45. Nathalie A. (2010).** Prévention du stress oxydant dans le diabète et ses complications par des antioxydants d'origine naturelle. Thèse de doctorat en sciences. Université de Strasbourg. Pp : 40-41.
- 46. Organisation mondiale de la santé (OMS). (1999).** Definition, diagnostics and classification of diabetes mellitus and its complications. Part1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Report of a WHO consultation. Geneva, WHO/NCD/NCS/99.2. Pp: 1-49.
- 47. Oyibo SO., Jude EB., Tarawneh I., Nguyen HC., Harkless LB., Boulton AJ.(2001).** A comparison of two diabetic foot ulcer classification systems: the Wagner and the University of Texas wound classification systems. *Diabetes Care.* 24(1). Pp: 84-8.
- 48. Pathare NA., Bal A., Talvalkar GV., Antani DU. (1998).** Diabetic foot infections: a study of microorganisms associated with the different Wagner grades. *Indian J Pathol Microbiol.*41. Pp: 437-41.
- 49. Redouane S.A. (2011).** Etude de quelques paramètres biologiques et physiologiques de la Néphropathie Diabétique. Thèse de magister. Université Mentouri Constantine. Pp : 2.
- 50. Richard J.L., Schuldiner S. (2008).** Épidémiologie du pied diabétique. *Rev Med Interne:* S222-S230.
- 51. Sano D., Tieno H., Drabo Y., Sanou A. (1999).** Prise en charge du pied diabétique à propos de 42 cas au c.h.u. de Ouagadougou. *Médecine d'Afrique Noire.* Pp : 308.

- 52. Senneville E. (2002).** Infections du pied diabétique : bactériologie et prélèvements. Journal des plaies et cicatrises. 32. Pp : 20-21.
- 53. Senneville E. (2011).** Apport de la biopsie osseuse transcutanée dans le traitement de l'osteite du pied diabétique (Thèse docteur en Médecine). (Lille): Lille 2
- 54. Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS. (2008).** 5^{ème} édition.
- 55. Stéphane T. (2010).** Bien vivre avec mon diabète. 2^{ème} Edition révisée. Hôpital Maisonneuve-Rose mont, Montréal. Pp : 6.
- 56. Talbert-Willoquet-Gervas. (2011).** GPC 2011 Guide Pharmaco Clinique. Wolters Kluwer France.
- 57. Thomas B. (2012).** Prise en charge thérapeutique des patients diabétiques de type 2 par les médecins généralistes de l'Eure. Thèse de doctorat en médecine. Faculté mixte de médecine et de pharmacie de Rouen. Pp : 25-29-30.
- 58. Tieno H. (1997).** Les lésions du pied chez le diabétique au centre hospitalier national Yalgado Ouedraogo de Ouagadougou. Thèse pour l'obtention du doctorat en médecine (diplôme d'état). Université d'Ouagadougou. Pp : 27- 28-32- 36.
- 59. Tsirisikolou D. (2007).** L'infection du pied diabétique classifications utiles. 12P.
- 60. Yahia-Berrouiguet A. (2008).** Les plaies du pied chez le diabétique: Épidémiologie et prise en charge au CHU Tlemcen. Diabetes Metab ; 34 ; 3 :H82.
- 61. Youssof D.D. (2007).** Complications métaboliques aigues du diabète en milieu de réanimation au point «g». De janvier 2001 à décembre 2005. Thèse de doctorat en médecine. Université de Bamako. Pp : 29.

Sites web

1. **Anonyme. (2013).** Infections du pied diabétique de l'adulte. Bon usage de l'antibiothérapie en Franche-Comté. Pp : P7. www.rfclin.info
2. **Bakker K., Riley P., (2005).** The year of the diabetic foot. Diabetes Voice; 50:11-14. Accessible à <http://www.diabetesvoice.org/search/index.cfm>
3. **Eric S. (2013).** L'infection du pied diabétique (IPD) : recommandations actuelles (françaises, IDSA, IWGDF, NICE). Réunion Régionale sur l'infection du pied diabétique.36P. <http://www.infectio-lille.com>
4. **Ha Van G. (2014).** Le pied diabétique. Revue du rhumatisme monographies. Pp : 4. <http://dx.doi.org/10.1016/j.monrhu.2014.04.007>
5. **Haute autorité de santé (HAS). (2007).** Séances De Prévention Des Lésions Des Pieds Chez le Patient Diabétique, Par Le Pédicure-Podologue. Le site (<http://www.has-sante.fr>).P12.
6. **International working group on diabetic foot. (2007).** International consensus on the diabetic foot and practical guidelines on the management and prevention of the diabetic foot. Noordwijkerhooft. DVD. <http://shop.idf.org>.
7. **International Working Group on the Diabetic Foot. (2003).** International consensus on the diabetic foot. In: International Diabetes Foundation; Brussels. <http://www.iwgdf.org>
8. **Louis B., Jean-Philippe L. (2006).** Recommandations pour la pratique clinique Prise en charge du pied diabétique infecté. Science directe. Pp : 31. www.sciencedirect.com
9. **Oberlin P., Mouquet M-C., Got I. (2006).** Les lésions des pieds chez les patients diabétiques adultes. Quelle prise en charge à l'hôpital ? Études et résultats, n° 473. Direction de la Recherche des Études de l'Évaluation et des Statistiques. Disponible sur <http://www.sante.gouv.fr/>
10. **Recommandations sur la prise en charge du pied diabétique infecté. (2006).** http://www.infectiologie.com/site/medias/_documents/consensus/pieddiabetique2006courtpdf

Annexes

Annexe 01. Le traitement.**-Traitement préventif :**

Le traitement préventif d'un pied diabétique à risque comporte dix conseils généraux, indiqués dans le tableau. S'y ajoute, pour le médecin, une règle d'or qui consiste à examiner les pieds de son patient à chaque consultation, surtout s'il est à risque podologique.

Tableau I : traitement préventif du pied diabétique à risque.

1-Eviter de marcher pieds nus.
2-Inspecter quotidiennement.
3-Laver (tous les jours) à l'eau tiède (température à moins de 37c, à vérifier par un thermomètre) et sécher soigneusement, y compris entre les orteils.
4-Gommer prudemment l'hyperkératose (après le bain) avec une pierre ponce.
5-appliquer en corps gras (lanoline-vaseline) sur le talon et les plantes pour la nuit, et du talc entre les orteils pour le jour.
6-Garder les ongles suffisamment longs et droits ; limer plutôt que couper.
7-Etre attentif aux chaussures (à talon plats et bouts larges) et contrôler leur revêtement intérieur. Porter une semelle orthopédique faite sur mesure (pour soulager les points de pression anormaux).
8-Eviter les chaussettes serrantes.
9-Bannir les coricides et le sparadrap applique directement sur la peau. Le pédicure doit être expérimenté.
10-Signaler immédiatement une lésion et/ou une coloration suspecte au médecin et traiter sans délai toute infection.

Tableau II : traitement médicale du pied diabétique.

1) Délimiter l'extension de la lésion.
2) Réaliser un état des lieux neuro-vasculaire et prélever les frottis.
3) Nettoyer, débrider et drainer (chirurgicalement si nécessaire)
4) Gommer l'hyperkératose péri lésionnelle.
5) Antibiothérapie par voie générale (si infection).
6) Héparine.
7) Repos complet pour éviter les appuis.
8) Soins locaux quotidiens (en fonction des lésions).
9) Equilibrer le diabète.
10) Situer son approche dans le cadre d'une clinique multidisciplinaire.

Annexe 02. Quelques conseils pour réserver le pied du patient diabétique

	BON	MAUVAIS
Pour les pieds froids		
Pour se laver les pieds		Température: max. 37 °C Durée: max. 5 min. 
Pour s'asseoir		
Portez des chaussettes		
Achetez des chaussures appropriées		

Annexe 03. Classification de WAGNER.

Grade	Lésions
0	Pas de lésion, déformation, cellulite possible
1	Ulcère superficiel
2	Atteinte tendon ou capsule
3	Abcès ostéomyélite, ostéoarthrite
4	Gangrène localisée, talon, avant pied
5	Gangrène étendue a tout le pied

Annexe 04. Tableau de lecture de la galerie miniaturisée API 20 E

Tests	Substrat	Caractère recherché	Résultats	
			Négatif	Positif
ONPG	Ortho-nitro-phenyl galactosidase	β galactosidase	Incolore	Jaune
ADH	Arginine	Arginine déshydrogénase	Jaune	Rouge/orangé
LDC	Lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Orangé
ODC	Ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé
CIT	Citrate de Simmons	Utilisation du citrate	Vert pale/jaune	Bleu vert/bleu
H ₂ S	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S	Incolore/ grisâtre	Dépôt noir/fin Liseré
UREE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/orangé
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	TDA Immédiat	
			Jaune	Marron foncé
IND	Tryptophane	Production d'indole	IND 2 min max	
			Jaune	Anneau rouge
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétone	VP1 + VP2 10 min	
			Incolore	Rose/ rouge
GEL	Gélatine de Kohn	Gélatinase	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	D-Glucose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MAN	D-Mannitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SOR	D-Sorbitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
RHA	L-Rhamnose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SAC	D-Saccharose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MEL	D-Melibiose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
ARA	L-Arabinose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
OX	Sur papier filtre	Cytochrome oxydase	Disques d'Ox / 5-10 min	
			Incolore	Coloration Violette

Annexe 5. Interface du logiciel d'identification API Excel.

The screenshot shows the API Excel software interface. The spreadsheet displays the following data:

API 20E	Taxon le plus probable	probabilité
Escherichia coli 1	Excellente Id	0,998
T	0,93	
ONPG +		
ADH -		
LDC +		
ODC -		
CIT -		
H2S -		
URE -		
TDA -		
IND +		
VP -		
GEL -		
GLU +		
MAN +		
INO -		
SOR +		
RHA +		
SAC -		
MEL +		
AMY -		
ARA +		
OX -		

Callouts in the image provide additional information:

- Taxon le plus probable:** Points to the 'Escherichia coli 1' result.
- test de l'identification en fonction de l'indice de typicité:** Points to the '0,998' probability value.
- Rappel de la valeur de l'indice de typicité:** Points to the '0,93' value in the 'T' row.
- rappel de la probabilité du taxon:** Points to the '0,998' probability value.
- Zone d'introduction des données:** Points to the list of biochemical tests (ONPG, ADH, LDC, ODC, CIT, H2S, URE, TDA, IND, VP, GEL, GLU, MAN, INO, SOR, RHA, SAC, MEL, AMY, ARA, OX).

The software interface includes a ribbon with tabs: Accueil, Insertion, Mise en page, Formules, Données, Révision, Affichage. The status bar at the bottom shows 'Prêt' and '100%' zoom.

Annexe 6. Résistances naturelles aux β lactamines des espèces de bacilles non exigeants (Cavallo *et al.*, 2004).

Espèces	PEN	OXA	AM	AMC	TIC	TCC	PIP	C1G	FOX	CTT	MA	CXM	CTX	CAZ	IPM
Entérobactéries															
<i>Escherichia coli</i>	R	R													
<i>Proteus mirabilis</i>	R	R													
<i>Shigella spp.</i>	R	R													
<i>Salmonella spp.</i>	R	R													
<i>Klebsiella spp.</i>	R	R	R		R										
<i>Citrobacter koseri</i>	R	R	R		R										
<i>Citrobacter freundii</i>	R	R	R	R				R	R	R					
<i>Enterobacter aerogenes</i>	R	R	R	R				R	R	R					
<i>Enterobacter cloacae</i>	R	R	R	R				R	R	R					
<i>Serratia marcescens</i>	R	R	R	R				R			R	R			
<i>Proteus vulgaris</i>	R	R	R					R				R			
<i>Morganella morganii</i>	R	R	R	R				R				R			
<i>Providencia stuartii</i>	R	R	R	R				R							
<i>Yersinia enterocolitica</i>	R	R	R	R	R			R	R		R	R			
Bacilles à Gram négatif non fermentaires															
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	R	R	R	R				R	R	R	R	R	R		
<i>Acinetobacter baumannii</i>	R	R	R	R				R	R	R	R	R			
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	R	R	R	R	R		R	R	R	R	R	R	R		R
<i>Burkholderia cepacia</i>	R	R	R	R	R	R		R	R	R	R	R			R
<i>Alcaligenes denitrificans</i>	R	R	R	R				R	R	R	R	R	R		
<i>Flavobacterium</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Meningosepticum															
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	

R : résistance naturelle ; PEN : pénicilline G ; OXA : oxacilline ; AM : aminopénicillines ; AMC : amoxicilline + acide clavulanique ; TIC : ticarcilline ; TCC : ticarcilline + acide clavulanique ; PIP : pipéracilline ; C1G : céphalosporines de première génération ; FOX : céfoxitine ; CTT : céfotétan ; MA : céfamandole ; CXM : céfuroxime ; CTX : céfotaxime ; CAZ : ceftazidime ; IPM : impénème.

Annexe 7. Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour Entérobactéries

Antibiotiques testés	Charge de disque	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques ($\mu\text{g/ml}$)	
		Résistant	Intermédiaire	Sensible	Résistant	Sensible
<u>B-lactamines</u> Ampicilline	10 μg	≤ 13	14 – 16	≥ 17	≥ 32	≤ 8
Amoxicilline + Ac. Clavulanique	20/10 μg	≤ 13	14 - 17	≥ 18	$\geq 32/16$	$\leq 8/4$
Céfazoline	30 μg	≤ 14	15 - 17	≥ 18	≥ 32	≤ 8
Cefalotine	30 μg	≤ 14	15 - 17	≥ 18	≥ 32	≤ 8
Cefoxitine	30 μg	≤ 14	15 - 17	≥ 18	≥ 32	≤ 8
Céfotaxime	30 μg	≤ 14	15 – 22	≥ 23	≥ 64	≤ 8
Ceftriaxone	30 μg	≤ 13	14 – 20	≥ 21	≥ 64	≤ 8
Imipenème	10 μg	≤ 13	14 - 15	≥ 16	≥ 13	≤ 4
<u>Aminosides</u> Amikacine	30 μg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 32	≤ 16
Gentamicine	10 μg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 8	≤ 4
<u>Quinolones</u> Acide nalidixique	30 μg	≤ 13	14 – 18	≥ 19	≥ 32	≤ 8
Ciprofloxacine	5 μg	≤ 15	16 – 20	≥ 21	≥ 4	≤ 1
Ofloxacine	5 μg	≤ 12	13 – 15	≥ 16	≥ 8	≤ 2
<u>Autres</u> Chloramphénicol	30 μg	≤ 12	13 – 17	≥ 18	≥ 32	≤ 8
Furanes	300 μg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 128	≤ 32
Fosfomycine	200 μg	≤ 12	13 – 15	≥ 16	≥ 256	≤ 64
Triméthoprime + Sulfaméthoxazole	1.25/23 .75 μg	≤ 10	11 – 15	≥ 16	$\geq 8/152$	$\leq 2/38$

Tableau extrait à partir de standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS 5^{ème} édition 2008

Annexe 8. Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Pseudomonas aeruginosa*

Antibiotiques testés	Charge de disque	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)	
		Résistant	Intermédiaire	Sensible	Résistant	Sensible
<u>B-Lactamines</u> Ticarcilline	75µg	≤14	-	≥15	≥128	≤64
Ticarcilline + Ac. Clavulanque	75/10µg	≤14	-	≥15	≥128/2	≤64/2
Piperacilline	100µg	≤17	-	≥18	≥128	≤64
Ceftazidime	30µg	≤14	15 – 17	≥18	≥32	≤8
Aztreonam	10µg	≤15	16 – 21	≥22	≥32	≤8
Imipenem	10µg	≤13	14 - 15	≥16	≥16	≤4
<u>Aminosides</u> Amikacine	30µg	≤14	15 – 16	≥17	≥32	≤16
Gentamicine	10µg	≤12	13 – 14	≥15	≥8	≤4
Tobramycine	10µg	≤12	13 - 14	≥15	≥8	≤4
<u>Quinolones</u> Ciprofloxacine	5µg	≤15	16 – 20	≥21	≥4	≤1
<u>Tétracyclines</u> Tétracycline	30µg	≤14	15 – 18	≥19	≥16	≤4
<u>Autres</u> Chloramphénicol	30µg	≤12	13 – 17	≥18	≥32	≤8
Rifampicine	30µg	≤14	14 – 18	≥19	≥16	≤4
Fosfomycine	30µg	<14	-	>14	≥32	≤32
Triméthoprimine + Sulfaméthoxazole	1.25/23 .75µg	≤10	11 - 15	≥16	≥8/152	≤2/38

Tableau extrait à partir de standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS 5^{ème} édition 2008

Annexes 9. Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Staphylococcus spp.*

Antibiotiques testés	Charge de disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)	
		résistant	intermédiaire	sensible	résistant	Sensible
<u>B-Lactamines</u> Peniciline	10 UI	≤28	---	≥29	B-Lactamane	≤0,12
Oxaciline** - S.aureus	1µg	≤10	11 - 12	≥13	≥4	≤2
-Staphylocoque coagulæ Négative***		≤17	---	≥18	≥0,5	≤0,25
Cefoxitine - S.aureus et s.lugdunensis	30µg	≤19	---	≥20		
-staphylocoque à coagulase négative		≤24	---	≥25		
<u>Aminosides</u> Gentamicine	10µg	≤12	13 - 14	≥15	≥8	≤4
Amikacine	30µg	≤14	15 - 16	≥17	≥32	≤16
Kanamycine	30µg	≤13	14 - 17	≥18	≥25	≤6
<u>Macrolides</u> Erythromycine Clindamycine	15µg 2µg	≤13 ≤14	14 - 22 15 - 20	≥23 ≥21	≥8 ≥4	≤0,5 ≤0,5
<u>Glycopeptides</u> Vancomycine	30µg	---	---	≥15	---	≤2
Teicoplanine	30µg	≤10	11 - 13	≥14	≥32	≤8
<u>Quinolones</u> Ofloxacine	5µg	≤14	15 - 17	≥18	≥4	≤1
<u>Autres</u> Triméthoprime + sulfaméthazole	1.25/23.75 µg	≤10	11 - 15	≥16	≥8/152 ≥4 ≥16 ≥32	≤2/38 ≤1 ≤4 ≤8
Rifampicine	5µg	≤16	17 - 19	≥20		
Tétracycline	30µg	≤14	15 - 18	≥19		
Chloramphénicol	30µg	≤12	13 - 17	≥18		

Tableau extrait du document m 100 – s16 vol. 26, n°3. 2006. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing ; sixteenth informational supplement .

.. incubé pendant 24h.

... autre que *S. lugdunensis*

Annexe 10. Composition des colorants de gram

Cristal violet ou violet de gentiane (pour coloration de Gram)

• **Solution mère A**

Cristal Violet ou Violet de Gentiane..... 25 g
Ethanol à 96 %..... 250 ml

La solution est vigoureusement agitée à trois reprises dans la même journée. On laisse déposer. La Solution est prête à l'emploi dès le lendemain.

Conservation : Quelques années en flacon brun Hermétiquement bouché.

• **Solution mère B**

Oxalate d'Ammonium (NH₄)₂C₂O₄.H₂O.....5 g
Eau Distillée..... 500 ml

Conservation : 2 à 3 mois dans un flacon hermétiquement bouché.

Fuchsine

• **Fuchsine mère saturée**

Fuchsine Basique..... 25 g
Ethanol à 96 %..... 250 ml

Conservation : Quelques années dans un flacon brun hermétiquement bouché.

• **Solution mère aqueuse de Phénol à 5 % (v/v) :**

Phénol Cristallisé fondu50 ml
Eau distillée..... 950 ml

conservation : Quelques mois dans un flacon hermétiquement bouché.

Fuchsine (solution de travail)

Solution saturée de Fuchsine Basique, filtrée..... 100 ml
Solution aqueuse de Phénol à 5 %..... 900 ml

Conservation : Au moins 2 ans.

Fuchsine diluée (pour coloration de Gram)

Fuchsine Phéniquée 01 ml
Eau Distillée..... 09 ml

Conservation : 1 mois tout au plus, et Faire la dilution avant chaque coloration.

Lugol faible (pour coloration de Gram)

Iodure de Potassium (KI)..... 2,34 g
Iode en Cristaux ou Iode Sublimée..... 1,66 g
Eau Distillée.....500 ml

Conservation : non filtré : 3 mois. Le Lugol doit avoir une coloration brun rouge. S'il est jaune, il ne fonctionnera plus et doit être jeté.

Annexe 11. Composition des milieux de culture**Gélose Hektoen**

La gélose Hektoen est un milieu sélectif différentiel des bactéries entéro-pathogènes, particulièrement de *Salmonella* et de *Shigella*. La composition du milieu permet la différenciation des colonies fermentant rapidement un des 3 sucres (virage du bleu au rouge-saumon) et/ou produisant de l'H₂S (centre noir).

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Peptone	12,00	Chlorure de sodium.....	5,00
Extrait de levure.....	3,00	Thiosulfate de sodium.....	5,00
Sels biliaires N° 3.....	9,00	Citrate ferrique ammoniacal.....	1,50
Lactose.....	12,00	Bleu de bromothymol.....	0,065
Saccharose.....	12,00	Fuchsine acide.....	0,10
Salicine.....	2,00	Agar.....	14,00

Ph final à 25°C : 7,5 ± 0,2

Le milieu en flacons ou boîtes se conserve à l'obscurité entre 2 et 8°C jusqu'à la date d'expiration

Gélose Mueller Hinton

La gélose Mueller-Hinton est le milieu de référence pour les tests de sensibilité des germes aux antibiotiques. Sa formulation est conforme aux recommandations du de l'O.M.S.

Elle peut également être additionnée de sang pour réaliser l'antibiogramme des germes fragiles, tels que *Haemophilus influenzae*, *Neisseria*, *Enterococcus sp* et *Streptococcus pneumoniae*.

Ingrédients en grammes par litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Infusion de bœuf.....	300,00	Ph final à 25°C : 7,3 ± 0,2
Peptone de caséine.....	17,50	Le milieu en flacons ou boîtes se conserve
Amidon.....	1,50	entre 2 et 8°C
Agar.....	17,00	

Gélose nutritive

La Gélose Nutritive est un milieu largement utilisé pour la culture des micro-organismes peu exigeants. Elle est recommandée dans de nombreuses méthodes standardisées d'analyses des aliments, des laitages, de l'eau et d'autres produits.

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Peptone.....	5,00	Ph final à 25°C : 6,8 +/-0,2
Extrait de viande de bœuf.....	3,00	
Agar.....	15,00	

Le milieu en flacons et tubes se conserve entre 15 et 25°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'emballage. Le milieu en boîtes se conserve entre 2 et 8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'emballage.

Gélose sabouraud

La gélose sabouraud permet la croissance et l'isolement d'une grande variété de levure et moisissure.

Ingrédients en grammes par litre d'eau distillée déminéralisée.

Peptone de caséine	5,00	PH final à 25°C: 5, 6 ± 0, 2
Peptone de viande	5,00	
Glucose monohydraté	40,00	
Agar	15,00	

Le milieu en tubes et flacons se conserve entre 15 et 25°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'emballage. Le milieu en boîtes se conserve entre 2 et 8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'emballage.

Milieu de Chapman

Le milieu de Chapman est utilisé pour l'isolement des Staphylocoques pathogènes qui donnent des colonies jaunes par fermentation du mannitol et virage du rouge de phénol. Sa forte teneur en chlorure de sodium inhibe la croissance de la plupart des autres espèces.

Ingrédients en grammes par litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Peptone de viande.....	10,00	pH final à 25°C : 7,4 ± 0,2
Extrait de viande de bœuf.....	1,00	Le milieu en flacons se conserve entre 15 et
D-mannitol.....	10,00	25°C et les boîtes entre 2 et 8°C jusqu'à la date
Chlorure de sodium.....	75,00	d'expiration indiquée sur l'emballage.
Rouge de phénol.....	0,025	
Agar.....	15,00	

Bouillon Nutritif

Le Bouillon Nutritif est un milieu largement utilisé pour la culture des microorganismes peu exigeants. Il est recommandé dans de nombreuses méthodes standardisées d'analyses des aliments, des laitages, de l'eau et d'autres produits. Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Peptone	5,00	pH final à 25°C : 6,8 ± 0,2
Extrait de viande de bœuf.....	3,00	

Le milieu en flacons ou tubes se conserve entre 15 et 25°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'emballage.

Annexe 12. Composition des additifs

Kovacs

Le réactif de Kovacs est utilisé pour la mise en évidence de la production d'indole par les micro-organismes possédant une tryptophanase. Le tryptophane, acide aminé notamment présent dans les peptones tryptiques, est dégradé en indole qui réagit avec le P-Diméthylamino-benzaldéhyde du réactif. Une réaction positive, de la présence d'indole, est révélée par la coloration au rouge du réactif de Kovacs.

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée

P-Diméthylaminobenzaldéhyde.....	5,00 g	Conserver en flacon
Alcool amylique.....	75,00 ml	ambré entre 2 et
Acide chlorhydrique pur.....	25,00 ml	8°C

VP1 : Soude caustique (NaOH)

VP2 : Alpha naphthol

Réactif TDA

Solution réactionnelle pour la mise en évidence de la présence, dans le milieu, de l'acide indol-pyruvique formés par les bactéries possédant la tryptophane désaminase.

Composition Chlorure de fer.....80 g/l

Annexes 13. Matériel et réactifs utilisés

Matériel et appareillages

- Bec bunsen
- Portoir pour tubes à essai
- Pipettes Pasteur stériles.
- Bain marie
- Boîtes de pétri
- Marqueur
- Des lames
- Pied à coulisse
- Etuve électrique
- Microscope optique
- Ecouvillonne
- Pince

Milieux de culture et additifs

- Eau distillée stérile en tubes.
- Gélose Hektoen.
- Gélose Mueller Hinton.
- Gélose nutritive.
- Milieu Chapman.
- Bouillon nutritif.
- Disques d'antibiotiques.
- Additif VP.
- Additif Kovacs.
- Additif TDA.

Résumés

Résumé :

Le diabète sucré est défini par un désordre métabolique d'étiologies diverses; caractérisé par la présence d'une hyperglycémie chronique, accompagnée d'une perturbation des métabolismes glucidique, lipidique et protéique, résultant d'un défaut de la sécrétion d'insuline, de son activité ou des deux associées.

Le diabète est pourvoyeur de complications notamment par atteinte vasculaire, entraînant des risques de trouble cardiovasculaire, trouble visuel d'insuffisance rénale nécessitant une dialyse ou une transplantation et d'ulcère du pied pouvant aller jusqu'à l'amputation du pied ou de la jambe.

Le pied diabétique est une infection communément appelée « infection du pied diabétique», il s'agit plutôt d'un terme englobant diverses pathologies faisant partie d'un continuum qui, chez le patient diabétique, culmine à l'imputation d'une partie plus ou moins grande du membre inférieurs infecté.

Il s'agit d'une étude rétrospective sur l'infection des pieds diabétiques incluant tous les patients hospitalisés dans le service médecine homme et médecine femme du l'établissement hospitalier 120 lits, et le service d'endocrinologie-diabétologie d'hôpital de kais, entre mars et avril 2015. Nous avons recueilli des données, cliniques et paracliniques. L'analyse statistique était réalisée par le logiciel d'Excel 2007.

Sur 20 patients. L'âge moyen était de 58 ans, 85% d'homme. Le diabète type 1 était prédominant 70%. L'ancienneté moyenne du diabète était de 10.18 ans. Un seul cas de découverte initiale du diabète lors de la prise en charge. Le grade 2 d'infection était prédominant 50%. L'imputation du pied représentait 13.63%. La moyenne de glycémie était 3,36g/l.

Nos résultats de l'examen bactériologique mettent en évidence de façon systématique la présence des bactéries, 50% des Bacilles Gram négatif (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter gergovia*, *Klebsiella oxytoca*, *Serratia rubidaea*, *Pseudomonas aeruginosa*) et 50% des Cocci Gram positif (*Staphylococcus aureus*), ayant acquis des caractères de résistance aux antibiotiques.

On note aussi la présence des mycètes avec 65%.

La gravité des lésions et les difficultés de leur prise en charge nécessitent la mise en place de moyens de prévention. Ces derniers ont fait preuve de leur efficacité sur la

réduction du nombre et de la gravité des lésions et sur les conséquences qui en découlent (amputations, hospitalisations).