

UNIVERSITE KASDI MERBAH – OUARGLA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES



Mémoire En vue de l'obtention du diplôme de
MASTER ACADEMIQUE

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

Présenté par : BAAMEUR ANFEL

ZIDI FATIHA

Thème :

*Relation entre la flore bactérienne des cavités nasales et
l'environnement avec l'infection du pied diabétique*

Soutenu publiquement

Le : 11/07/2019

Devant le jury :

BEN AISSA A.	MCA	Présidente	UKM OUARGLA
BOURICHA M.	MCA	Examineur	UKM OUARGLA
OULD EL HADJ KHELIL A.	Professeur	Encadreur	UKM OUARGLA
KHALDI Z.	Doctorante	Co-encadreur	UKM OUARGLA

Année universitaire:2018 /2019

Remerciement

Tout d'abord, nous remercions le Dieu, notre créateur de nos avoir donné les forces, la volonté et le courage afin d'accomplir ce travail modeste.

Nous adressons le grand remerciement à notre encadreur Mme OULD EL HADJ KHELIL AMINA, professeur à L'université Kasdi Merbah-Ouargla, qui a proposé le thème de ce Travail.

Nous lui exprimons notre gratitude pour l'intérêt qu'elle a Porté à ce travail en acceptant de diriger cette étude.

Nos vifs remerciements et notre profonde gratitude S'adressent à notre Co-encadreur Mme KHALDI Zohra, pour les Efforts qu'elle a fournis durant notre cursus afin de nous amener Jusqu'au bout de la mémoire.

Grand remerciement pour notre chère présidente de jury M^{me} Ben AISSA Atika, et notre examinateur M^r BOURICHA M'hamed , tous les enseignants de département des sciences de la Nature et de la vie.

A tout le personnel du laboratoire de Bactériologie, l'équipe de travail de la maison de diabète, pour leur professionnalisme et leur aide précieuse, ce travail n'aurait pu aboutir sans leur soutien.

Dédicace



A mon père que je remercie pour son éternel et inconditionnel soutien toujours présent depuis ma naissance à ce jour.

A ma mère pour son amour et les sacrifices qu'elle a consentis pour que je réussisse.

A mes frères : Amine, Yacine.

A Ma grande mère Fatima et Mon grand-père El hachemi et à toute ma famille et tous ceux qui me connaissent de près ou de loin.

A Mon fiancé

Merci pour ton amour, ton aide, ton écoute, et les conseils quand le moral était au plus bas. Que Dieu vous garde et vous protège et que votre chemin soit plein de succès.

*Spéciale dédicace à ma très chère amie et ma collègue de travail :
Fatiha*

*Tous mes amies surtout : Aicha, Khouloud et Raounak
vous dédie ce modeste travail*

Anfel

Dédicace

A mes chers parents

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit des sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation et ma formation.

Que Dieu vous préserve et vous procure santé et longue vie.

A mes frères et mes sœurs et à toute les membres de la famille

Zidi

Spéciale dédicace à ma très chère amie et ma collègue de travail

: Anfel

*Tous mes amies surtout : Koukou, Aicha, Imi, Rossi, Ayouda
vous dédie ce modeste travail*

*Enfin, à toutes les personnes qui m'ont aidée de près ou de loin
a la réalisation de ce travail.*



Fatiha

Table des matières

Table des matières.....	V
Listes des tableaux	IX
Liste des figures.....	X
Listes des photos.....	XI
LISTE DES ABREVIATION.....	XII

Partie I : Synthèse Bibliographique

Chapitre I Le diabète et infection du pied diabétique

I.1. Définition du diabète.....	3
I.2. Classification du diabète.....	3
I.2.1. Diabète de type 1.....	3
I.2.2. Diabète de type 2.....	4
I.2.3. Diabète gestationnel.....	4
I.2.4. Altération de la tolérance au glucose et de la glycémie à jeun.....	4
I.2.5. Les autres formes du diabète.....	4
I.3.Prévalence du diabète.....	5
1.3.1. Au niveau mondial.....	5
1.3.2. En Algérie.....	5
I.4.Complications du diabète.....	5
I.4.1. Microangiopathie.....	6
I.4.1.1. Rétinopathie.....	6
I.4.1.2. Néphropathie.....	6
I.4.1.3. Neuropathie.....	6
I.4.2. Macro-angiopathie.....	7
I.5. Pied diabétique.....	7
I.5.1. Pied diabétique infectée :.....	7
I.5.2. Physiopathologie de la plaie :.....	8
I.5.3. Classification des plaies du pied chez le patient diabétique :.....	9
I.5.4. Principaux facteurs favorisant l'infection du pied diabétique.....	9
I.5.5. Agents causaux de l'infection pied diabétique.....	10

Chapitre II La cavités nasales et sa flore bactérienne

II.1. Anatomie du nez.....	12
II.2. Fosses nasales.....	12
II.3. Flore commensale.....	13
II.4. Flore bactérienne commensale des cavités nasales.....	13

II.4.1 Définition	13
II.4.2 Les principaux genres bactériens de la cavité nasale.....	13
II.4.2.1 <i>Moraxella</i>	13
II.4.2.2 <i>Staphylococcus epidermidis</i>	13
II.4.2.3. <i>Les streptocoques</i>	14
II.4.2.4. <i>Corynébactéries</i>	14
II.4.2.5. <i>Haemophilus</i>	14
II.4.2.6 <i>Neisseria</i>	14
II.4.2.7 <i>Staphylococcus aureus</i>	15
II.5. Portage nasal de <i>Staphylococcus aureus</i>	15
II.5.1 Définition	15
II.5.2 Type de portage Chez les individus sains.....	15
II.5.3 Portage nasal de <i>Staphylococcus aureus</i> et le Diabète	16
II.5.4 Portage nasal de <i>Staphylococcus aureus</i> et l'infection du pied diabétique.....	16

Chapitre III : l'environnement hospitalier et sa flore bactérienne

III.1. Définition de l'environnement hospitalier.....	17
III.2. Différents types de zone à risque dans l'environnement hospitalier :	17
III.3. Les sources de Contamination dans l'environnement hospitalier	18
III.3.1. L'air	18
III.3.2. L'eau	18
III.3.3. Les surfaces	19
III.4. Place de l'environnement hospitalier dans la chaine épidémiologique.....	19
III.5. Rôle de l'environnement dans la survenue des infections nosocomiales.....	20
III.6. La flore bactérienne retrouvés dans l'environnement hospitalier	20
III.6.1. Les bactéries d'origine humaine.....	20
III.6.2. Les bactéries d'origine environnementale :	20
III.6.3 Les bactéries retrouvés dans l'environnement hospitalier.....	21
III.7. La survie des micro-organismes dans l'environnement :	22
III.8 Le rôle de l'environnement hospitalier dans l'infection du pied diabétique.....	22

Partie II Travail Expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthode

I. Matériel.....	24
I.1. Matériel biologique	24
I.2. Milieux de culture	24
I.2.1. Milieux de culture solide.....	24
I.2.2. Milieux de culture liquides.....	24
I.3. Tests biochimiques	24
I.4. Réactifs.....	25

Chapitre II Résultats et discussions

II. Méthodes	25
II.1. Présentation du lieu de stage :.....	25
II.2. Recueil des données.....	26
II.3. Méthodes de prélèvement :.....	26
II.3.1. A partir des pieds infectés :.....	26
II.3.2. A partir des cavités nasales :.....	26
II.3.3. A partir de l'environnement hospitalier : (les surfaces).....	28
II.4. Isolement	28
II.4.1. Isolement direct	28
II.4.2. Isolement après enrichissement pour les prélèvements de l'environnement.....	28
II.5. Purification des isolats	28
II.6. Pré-identification des isolats	29
II.6.1. Observation macroscopique.....	29
II.6.2 Observation microscopique (coloration de Gram).....	29
II.6.3 L'étude du métabolisme respiratoire	30
II.6.3.1. Test sur milieu viande-foie.....	30
II.6.3.2. Test de la catalase.....	30
II.7. Conservation des souches pures.....	30
II.8. Recherches des coques Gram positifs	31
II.8.1. Recherches des staphylocoques.....	31
II.8.2. Recherches des streptocoques hémolytiques.....	31
II.8.3. Recherches des entérocoques	32
II.9. Identification biochimique des bactéries à Gram négatif (Entérobactéries, Pseudomonas, Acinetobacter).....	32
II.10. Détermination de la sensibilité aux antibiotiques	34
II.1. Résultats des prélèvements	37
II.1.1 Répartitions des prélèvements selon le type de diabète	37
II.1.2 Répartition des prélèvements selon le sexe.....	38
II.1.3 L'âge en fonction du sexe	38
II.2.1. Isolement et identifications des staphylocoques	39
II.2.1.1. Caractéristiques phénotypiques des souches.....	39
II.2.2. Isolement et identification des streptocoques.....	41
II.2.3. Isolement et identification des entérocoques.....	43
I.2.3. Isolement et identification des bacilles à Gram négatif.....	44
II.2.4. Répartition de la flore bactérienne du pied diabétique selon le Gram.....	49
II.2.4.1. Répartition de la flore bactérienne du pied diabétique selon le Gram positif	50
II.2.4.2. Répartition de la flore bactérienne du pied diabétique selon le Gram négatif	51
II.2.4. 3. Fréquences des isolats mono et poly microbiens	52

II.2.5. Répartition de la flore bactérienne de la cavité nasale selon le Gram.....	53
II.2.5.1. Répartition de la flore bactérienne de la cavité nasale selon le Gram positif.....	54
II.2.5.2. Répartition de la flore bactérienne de la cavité nasale selon le Gram négatif.....	55
II.2.6. Répartition de la flore bactérienne de l'environnement hospitalier selon le Gram.....	55
II.2.6.1. Répartition de la flore bactérienne de l'environnement hospitalier selon le Gram positif.....	56
II.2.6.2. Répartition de la flore bactérienne de l'environnement hospitalier selon le Gram négatif	57
II.3. La répartition de la flore bactérienne dans les trois endroits étudiés.....	58
II.4. Résultats de l'antibiogramme	59
II.4.1 Taux de résistance des <i>Entérocoques</i> aux antibiotiques	60
II.4.2 Taux de résistance de <i>Staphylococcus aureus</i> aux antibiotiques	61
II.4.3 Taux de résistance de <i>Pseudomonas aerogenosae</i> aux antibiotiques.....	62
II.4.4 Taux de résistance de <i>Streptococcus spp</i> aux antibiotiques.....	63
conclusion générale	76

Références bibliographiques

Annexe

Listes des tableaux

Tableau I: Corrélations Clinic bactériologiques entre les pathogènes habituellement Identifiés et les types de plaies (Lipsky et al., 2004).....	10
Tableau II : Les bactéries fréquemment mises en cause dans les infections nosocomiales. (Figarella <i>et al.</i> , 2007).	21
Tableau III: Les informations recueillies pour chaque patient.....	27
Tableau IV : Résultats des tests biochimiques classiques (identification des BGN)	47
Tableau V:montre la prévalence des bactéries les plus fréquent dans les trois endroits.....	58
Tableau VI : Profil de résistances de <i>Enterococcus spp</i> isolées à partir de IPD aux ATB	60
Tableau VII : Profil de résistances de <i>S. aureus</i> isolés à partir de IPD aux ATB	61
Tableau VIII: Profil de résistances de <i>Pseudomonas aerogenosae</i> isolés à partir de IPD aux ATB	62
Tableau IX : Profil de résistances de <i>streptocoques</i> isolés à partir de IPD aux ATB	63

Liste des figures

Figure 1: Pathologies périphériques du pied diabétique (Diane et al.,2017)	8
Figure 2: Mécanismes physiopathologiques de l'ulcération du pied diabétique. (Martini et al., 2018).	9
Figure 3: Anatomie des fosses nasales (Heiman et al., 2005).	12
Figure 4 : Taux de portage de <i>S. aureus</i> au niveau du corps humain (Heiman et al., 2005).....	16
Figure 5 : Chaîne épidémiologique de transmission d'un agent infectieux. (Emori et al., 1993).....	19
Figure 6 : Répartition des prélèvements selon le type de diabète	37
Figure 7 : Répartition des prélèvements selon le sexe	38
Figure 8: Répartitions des prélèvements selon le sexe et la tranche d'âge.....	39
Figure 9 : Répartition des cultures bactériennes du pied diabétique selon le Gram	50
Figure 10: Répartition de la flore bactérienne du pied diabétique Gram positif	51
Figure 11: Répartition de la flore bactérienne du pied diabétique selon Gram négatif.....	51
Figure 12: Fréquence des isolats mono et poly microbiens.	52
Figure 13: Répartition des cultures bactériennes du cavité nasale selon le Gram.....	53
Figure 14 : Répartition de la flore bactérienne du cavité nasale Gram positif.....	54
Figure 15: Répartition de la flore bactérienne de la cavité nasale Selon Gram négatif.....	55
Figure 16: Répartition des cultures bactériennes de l'environnement hospitalier selon le Gram.....	56
Figure 17 : Répartition de la flore bactérienne de l'environnement hospitalier Gram positif.....	56
Figure 18: Répartition de la flore bactérienne de l'environnement hospitalier selon Gram négatif	57
Figure 19 : Taux de résistance des entérocoques isolées des patients aux ATB	60
Figure 20: Taux de résistance des staphylocoques isolées des patients aux ATB	61
Figure 21: Taux de résistance de <i>Pseudomonas spp</i> des patients aux ATB	62
Figure 22 : taux de résistance des streptocoques des patients aux ATB.	63

Listes des photos

Photo 1: Aspect des colonies mannitol (+) sur milieu Chapman.....	40
Photo 2: Cocci Gram positif (Staphylocoques).....	40
Photo 3: Test de catalase négative (A) et positive (B).....	41
Photo 4: Coagulase positif (A) et négatif (B).....	41
Photo 5: Aspect des colonies β hémolytiques sur milieu Gélose au sang frais.....	42
Photo 6: Aspect microscopique des Streptocoques après la coloration de Gram.....	42
Photo 7: l'aspect macroscopique des colonies sur le milieu BEA.....	43
Photo 8: L'aspect microscopique des entérocoques après la coloration de Gram.....	43
Photo 9: Aspects des Colonies lactose (+).....	44
Photo 10: L'aspect microscopique des bacilles Gram négatif.....	44
Photo 11: Testes biochimiques classiques.....	45
Photo 12: Résultat de l'identification de <i>pseudomonas aerogenosa</i> (A, B, C).....	46
Photo 13: Antibiogramme sur milieu MH (A) et sur milieu MH additionné de sang (B1), (B2).....	60

LISTE DES ABREVIATION

ADN : Acide désoxyribonucléique

AM : Amoxicilline

AN : Amikacine

AOMI : artériopathie oblitérante des membres inférieures

ATB : Antibiotique

ATM : Aztreonam

AVC : accident vasculaire cérébral

BEA : Bile Azide Esculine

BGN : Bacille Gram négatif

C : Chloramphénicol

CGP : coque gram positif

CH. F : Chirurgie Femme.

CH.H : Chirurgie Homme.

CHU : Centre Hospitalière Universitaire

CIP : Ciprofloxacine

CM : Clindamycine

CN : Gentamycine

CS : Colistine

CTX : Céfotaxime

DT1 : diabète de type 1

DT2 : diabète de type 2

E : Erythromycine

EPH : Etablissements Publics Hospitaliers

F : Féminin.

FA : Acide fusidique

FID : Fédération internationale du diabète

FOX : Céfoxitine

GS : Gélose au sang

Inf : Infection.

IPD : Infection De Pied Diabétique

IRC: Insuffisance Rénale Chronique

IWGDF: International Working Group on the Diabetic Foot

M : Masculin.

M.D : maison de diabète.

MAC: Mac conkey

MH: Muller Hinton

MODY: Maturity Onset Diabetes in the Young

N.A.D : Nicotinamide-Adénine-Dinucléotide

NCCLS: National Committee for Clinical Laboratory Standard

OFX : Ofloxacin

OMS : Organisation mondiale de la santé

OX : Oxacilline

P : Pénicilline

p : Patient

PIP : Pipéracilline

PT : Pristinamycine

R : Résistante

RA : Rifampicine

RD : rétinopathie diabétique

RM : Rouge de méthyle

S : Sensible

SARM : Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline

SCN : staphylocoques coagulase négatif

TCC : clavulanique

TDA : Tryptophane-désaminase

TE : Tétracycline

TEC : Teicoplanine

TIC: Ticarcilline

TM: Tobramycine

TSI: Triple Sugar Iron

VA : Vancomycine

VP : Vosges-Proskauer

VRE : Entérocoques résistantes à La Vancomycine

| Introduction

Le diabète est un problème majeur de santé publique dans le monde, dont le poids a augmenté considérablement au cours des deux dernières décennies et qui devrait toucher 592 millions d'adultes d'ici 2035(Mandereau, 2017). **Introduction**

Le diabète est un groupe de maladies métaboliques caractérisées par une hyperglycémie chronique résultant d'un défaut de la sécrétion de l'insuline ou de l'action de l'insuline ou de ces deux anomalies associées (Drouin, 2019).

De nombreuses complications sévères et coûteuses touchent les personnes diabétiques. Ce sont en particulier les atteintes cardiaques, l'insuffisance rénale, les atteintes oculaires et les complications du pied (IWGDF, 2011). Les ulcérations du pied sont fréquentes chez les patients diabétiques, près de 25 % des diabétiques présenteront au cours de leur vie une plaie et dans la majorité des cas, ces plaies vont s'infecter. La diffusion de l'infection aux tissus mous et à l'os est la principale cause des amputations des membres inférieurs (Jean, 2011).

Il s'agit d'une complication particulièrement grave pouvant engager le pronostic vital et témoignant souvent d'un diabète multicompliqué (Ariane, 2018).

L'infection du pied diabétique se définit par l'invasion et la multiplication de micro-organismes entraînant une réponse inflammatoire allant jusqu'à la destruction des tissus atteints (Nicodème *et al.*,2015),

L'infection de la plaie est souvent poly microbienne et Les bactéries pathogènes usuelles impliquées sont Staphylococcus aureus, les streptocoques, Escherichia coli, Proteus, Klebsiella, les germes anaérobies, Pseudomonas, Acinetobacter... (Boucher *et al.*, 2017).

Les bactéries commensales ne peuvent vivre qu'en présence de cellules humaines ou animales, On les retrouve sur la peau, les muqueuses, et dans le tube digestif, et dans certaines conditions, peuvent provoquer des infections (Dupeyron *et al.*, 2011).

La flore bactérienne commensale des cavités nasales compose essentiellement de *staphylococcus epidermidis*, de *corynébactéries*...et certains sujets sont porteurs de *Staphylococcus aureus* au niveau des fosses nasales (un tiers des individus) (Fraperie, 2016).

L'environnement hospitalier est largement contaminé par des microorganismes d'origine humaine ou spécifiquement environnementaux (**Auajjar *et al.*, 2014**). Chacun, en circulant dans l'établissement, disperse des microbes qui se retrouvent en grand nombre sur diverses surfaces chaussures, poignées de porte, interrupteurs...ou par l'intermédiaire de dispositifs médicaux et dans l'air (**La lettre de L'institut Pasteur., 2011**).

La flore bactérienne retrouvés dans l'environnement hospitalier est composée des Staphylocoques, Corynébactéries, entérobactéries, Streptocoques, Microcoques, et aussi de Acinetobacter, Bacillus, Pseudomonas... (**Legout, 2016 et Prescott *et al.*, 2003**).

Au cours de cette étude, on s'est intéressée à l'isolement et l'identification des isolats bactériennes à partir des prélèvements de pieds diabétique infecté, des cavités nasales, et l'environnements hospitalier de ses patients diabétiques.

Notre objectif est d'évaluer la prévalence des bacteries impliquées dans ses infections et vérifiée la présence de relation entre ses trois flores bactériennes et aussi de tester l'efficacité de certains antibiotiques sur ses souches.

Afin de répondre à la problématique suivante : les infections chroniques des pieds diabétiques, peut-elle être liée à la Portage nasale du patient d'une bactérie opportuniste telle que *S. aureus* et/ou à la flore bactérienne de l'environnement hospitalier du malade ?

| Partie I : **Synthèse Bibliographique**

| Chapitre I

Diabète et infection du pied diabétique

I.1. Définition du diabète

Le diabète sucré est une affection du métabolisme caractérisée par l'augmentation du taux de sucre sanguin (hyperglycémie), qui perturbe le métabolisme des hydrates de carbone, des graisses et des protéines. L'affection est due à une défaillance de la sécrétion d'insuline, de l'action de l'insuline ou des deux (**Wens *et al.*, 2007**). L'insuline agit donc comme une clé permettant au glucose de passer du sang aux cellules de notre corps pour être métabolisé (utilisé ou stocké) (**HAS, 2015**).

Selon l'OMS, Le diabète est une maladie chronique grave qui se déclare lorsque le pancréas ne produit pas suffisamment d'insuline (hormone régulatrice de la glycémie), ou lorsque l'organisme n'est pas capable d'utiliser efficacement l'insuline qu'il produit. Cela se traduit par un taux de sucre dans le sang (glycémie) élevé : on parle d'hyperglycémie (**OMS, 2013**).

L'hyperglycémie, conséquence courante d'un diabète non maîtrisé, peut, au fil du temps, provoquer de graves lésions cardiaques, vasculaires, oculaires, rénales et nerveuses (**OMS, 2016**).

Le diabète est diagnostiqué si la glycémie à jeun est supérieure à deux reprises à 1.26 g/l ou si elle est supérieure à 2 g/l à n'importe quel moment de la journée.

Une glycémie est dite normale :

- si elle se situe entre 0.70g/l et 1.10g/l à jeun
- ou si elle est inférieure à 1.40g/l après un repas (**HAS, 2015**).

I.2. Classification du diabète**I.2.1. Diabète de type 1 :(5-10% des patients) (**Heike L *et al.*, 2017**)**

Le diabète de type 1 (DT1) (précédemment connu sous le nom de diabète insulino-dépendant) est caractérisé par une production insuffisante d'insuline et exige une administration quotidienne de cette dernière. (**OMS, 2018**)

Est une condition auto-immune caractérisée par la destruction des cellules productrices d'insuline du pancréas, il survient essentiellement avant l'âge de 20 ans d'où son autre appellation de « diabète juvénile ». Il est aussi nommé « diabète maigre » (car un amaigrissement est observé) ou encore « diabète sucré » (OMS,2017).

I.2.2. Diabète de type 2 (90-95% des patients) (Heike L *et al.*, 2017)

Le diabète de type 2 (DT2), anciennement appelé « diabète non-insulino-dépendant », apparaît le plus souvent chez les sujets de plus de 40 ans (même si on retrouve désormais ce type de diabète chez les enfants), d'où son appellation du « diabète de l'adulte » (OMS, 2017) est caractérisée par une résistance accrue des tissus périphériques (foie, muscles, tissu adipeux) à l'action de l'insuline, une insuffisance de sécrétion d'insuline par les cellules β du pancréas, une sécrétion de glucagon inappropriée (Braillard O., 2017). Il est aussi nommé « diabète gras » car les personnes atteintes sont souvent en surpoids ou obèses (OMS, 2017).

I.2.3. Diabète gestationnel (14% des femmes enceintes) (Heike L *et al.*,2017)

Ce diabète apparaît lors d'une grossesse est un type de diabète qui affecte généralement les femmes enceintes pendant les deuxième et troisième trimestres (Atlas IDF, 2017). Il se développe une intolérance au glucose due à une sécrétion insuffisante d'insuline dans le cadre d'une résistance à l'action de celle-ci augmentée durant la grossesse (Heike L *et al.*, 2017). Dans la majorité des cas, il disparaît après l'accouchement, mais la mère devient à risque de développer le diabète de type 2 dans les années qui suivent (Feig D *et al.*, 2018).

I.2.4. Altération de la tolérance au glucose et de la glycémie à jeun

Sont des affections intermédiaires qui font la transition entre normalité et diabète. Les personnes qui en sont atteintes sont exposées à un risque élevé d'évolution vers un diabète de type 2 (OMS, 2017).

I.2.5. Les autres formes du diabète

Sont plus rares et On distingue par exemple

- les MODY (Maturity Onset Diabetes in the Young), en général non insulino-dépendants. Sont fortement déterminés par une composante génétique.

- les diabètes secondaires à d'autres maladies telles que des maladies pancréatiques, endocriniennes ou hépatiques. L'hémochromatose ou certaines mutations de l'ADN mitochondrial.
- le diabète lipoatrophique (disparition du tissu adipeux, hyperlipidémie, stéatose hépatique, insulino-résistance majeure).
- le diabète induit par des traitements médicamenteux (ex : corticoïdes, diurétiques, neuroleptiques, certains immunosuppresseurs...) (**Heike L et al., 2017**).

I.3.Prévalence du diabète

1.3.1. Au niveau mondial

Selon la Fédération Internationale du Diabète (FID), 425 millions de personnes sont atteintes du diabète (**Atlas IDF, 2017**), et le diabète pourrait être la 7^{ème} cause de décès dans le monde en 2030, Selon l'Institut de Santé Publique (ISP) (**Barbier, 2018**).

1.3.2. En Algérie

Une enquête nationale réalisée par le ministère de la Santé, de la Population et de la Réforme hospitalière, en coordination avec l'Organisation mondiale de la santé (OMS) pour la période 2016/2017, a révélé que plus de 14% des Algériens âgés entre 18 et 69 ans souffraient de diabète.

"Le taux de prévalence du diabète est passé de 8% en 2003, à 10% en 2012 pour atteindre 14% en 2017", ont démontré les résultats de l'enquête effectuée sur un échantillon de 7450 personnes représentant les différentes régions du pays (**Radio Algérienne, 2018**).

I.4.Complications du diabète

Un diabète détecté trop tardivement ou déséquilibré à long terme peut entraîner de sérieuses complications secondaires. En effet une hyperglycémie prolongée est néfaste pour les vaisseaux (micro / macroangiopathie). Plusieurs organes peuvent alors être touchés, essentiellement : les grandes artères (cœur, cerveau, vaisseaux périphériques), les reins, les yeux (**Labud et al., 2015**) Ces atteintes peuvent réduire la circulation sanguine, ce qui – avec des lésions nerveuses (neuropathie) touchant les pieds (**OMS, 2016**).

I.4.1. Microangiopathie

Est une atteinte diffuse des petits vaisseaux : artérioles, veinules et capillaires. Elle se manifeste essentiellement par la rétinopathie, la néphropathie et les neuropathies. L'état d'hyperglycémie chronique va engendrer des anomalies fonctionnelles, de ces petits vaisseaux (Abdelkbir, 2014).

I.4.1.1. Rétinopathie

La rétinopathie diabétique (RD) (atteinte des yeux : œil et rétine) est une grave complication du diabète (HAS, 2014). Résultant de l'atteinte des vaisseaux de la rétine, mettant en jeu le pronostic visuel (OMS, 2016). Qui touche 50% des patients diabétiques de type 2. (HAS, 2014). Est une cause importante de cécité et elle est consécutive à l'accumulation à long terme de lésions des petits vaisseaux sanguins de la rétine (OMS, 2016).

I.4.1.2. Néphropathie

Les petites artères des reins peuvent s'obstruer et diminuer la capacité de fonctionnement du rein entraînant une insuffisance rénale progressive (néphropathie diabétique) (Labud *et al.*, 2015).

Le diabète est la cause principale d'insuffisance rénale chronique (IRC) à travers le monde et la première cause de nécessité de suppléance rénale (Gariani *et al.*, 2012).

I.4.1.3. Neuropathie

La neuropathie est une atteinte des nerfs. On parle de neuropathie diabétique lorsqu'un taux de sucre trop élevé dans le sang (hyperglycémie chronique) endommage les petits vaisseaux sanguins qui apportent l'oxygène nécessaire au bon fonctionnement des nerfs. De plus, l'hyperglycémie chronique peut entraîner la destruction du neurone ou de la gaine isolante qui entoure le prolongement du neurone (axone). (Ekoe *et al.*, 2016)

La neuropathie diabétique existe sous la forme périphérique ou autonome :

- La neuropathie périphérique (la plus fréquente des neuropathies diabétiques) est essentiellement sensitive et touche les nerfs des membres inférieurs - rarement des mains.

- La neuropathie autonome peut toucher le système cardio-vasculaire, le système digestif, le système uro-génital. (**Labud et al., 2015**)

I.4.2. Macro-angiopathie

Il s'agit d'atteintes diffusent des artères de gros et moyens calibres. Les lésions seront à l'origine d'obstructions artérielles. La macroangiopathie résulte de l'hyperglycémie et de l'hyperinsulinémie. L'hyperglycémie provoque les mêmes modifications que sur les petits vaisseaux (**Abdelkbir, 2014**).

La macro-angiopathie peut toucher les vaisseaux du cœur (infarctus), Les vaisseaux du cerveau (accident vasculaire cérébral) (AVC) ou bien les vaisseaux des jambes et des pieds (artériopathie oblitérante des membres inférieures) (AOMI) (**Labud et al., 2015**).

I.5. Pied diabétique

Pied diabétique est défini par l'ensemble des anomalies cliniques du pied chez une personne diabétique qui sont la conséquence du développement de complications chroniques du diabète constituées de la triade neuropathie - artériopathie et infection. Ce tableau clinique est marqué par la présence d'ulcérations chroniques ou récidivantes à l'origine d'amputations des membres inférieurs (**Martini et al., 2018**).

I.5.1. Pied diabétique infectée :

L'infection du pied diabétique se définit par l'invasion et la multiplication de micro-organismes entraînant une réponse inflammatoire allant jusqu'à la destruction des tissus atteints (**Nicodème et al., 2015**), il est défini aussi par la présence d'au moins deux signes d'inflammation (présence de pus, érythème, douleur, œdème, chaleur ou induration) et est divisée en 3 grades allant d'une infection modérée (grade 2) à une infection sévère (grade 4),

En fonction de l'extension de l'infection aux tissus mous et à la présence de signes systémiques et/ou de troubles métaboliques (**Lavigne et al., 2011**).

L'infection n'est pas un facteur causal des plaies, en revanche elle joue un rôle aggravant et est à l'origine des hospitalisations et la majorité des infections se déclarent chez des patients présentant des pieds neuropathiques ou neuro-ischémiques dont les ulcérations servent de porte d'entrée (**Logerfo et al., 1989**).

I.5.2. Physiopathologie de la plaie :

L'origine et le développement de plaies aux pieds chez les personnes diabétiques sont multifactoriels (**Driver et al., 2012**). En fait, les plaies résultent des complications du diabète que sont la neuropathie et la maladie artérielle périphérique (**Figure :01**).

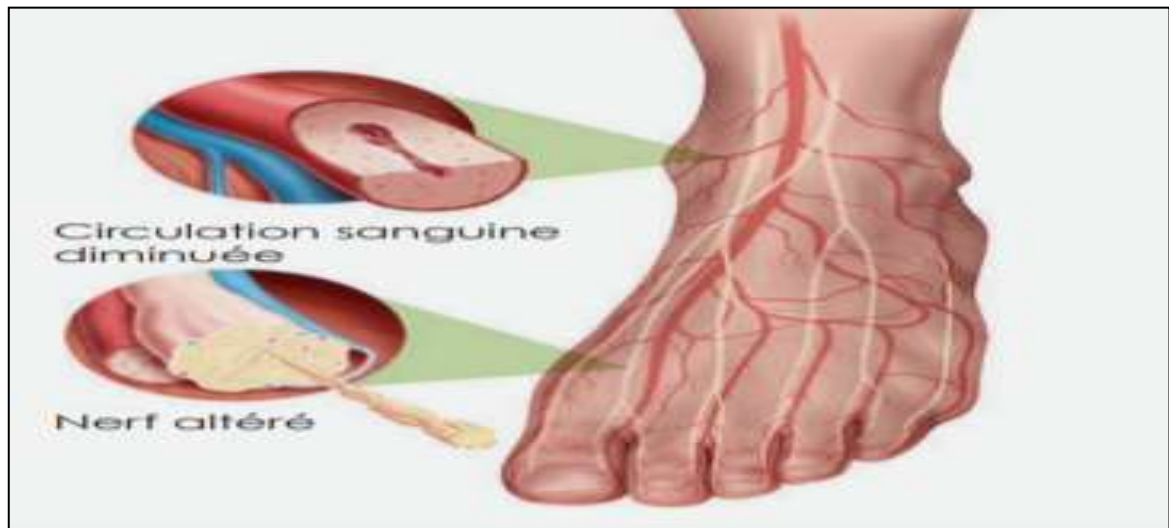


Figure 1:Pathologies périphériques du pied diabétique (*Diane et al.,2017*)

La majorité des infections se déclarent chez des patients présentant des pieds neuropathiques ou neuro-ischémiques dont les ulcérations servent de porte d'entrée. L'atteinte neuropathique est mixte : sensitive, motrice et végétative (**Nicodème et al., 2015**) (**Figure :02**).

L'insuffisance vasculaire fragilise les tissus cutanés et limite l'augmentation du flux sanguin nécessaire à la cicatrisation en cas d'effraction cutanée, de traumatisme ou d'infection

L'ischémie tissulaire et l'infection doivent être considérées comme des facteurs aggravant le pronostic de cicatrisation (**Martini et al., 2018**).

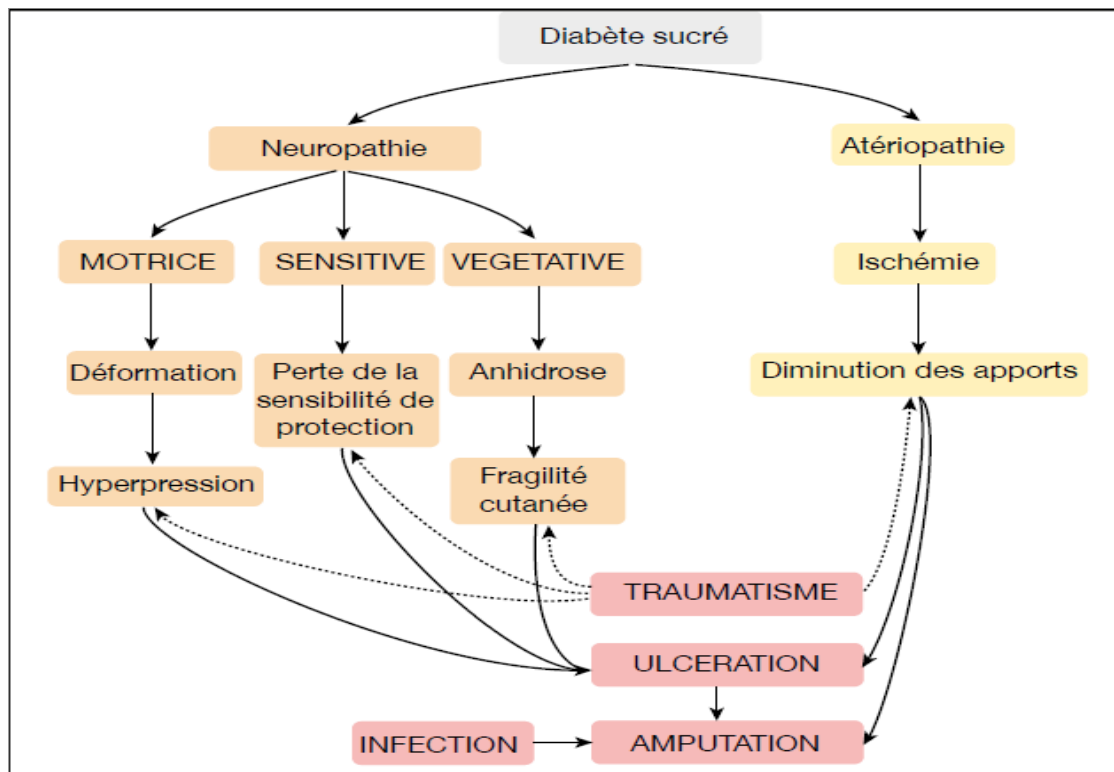


Figure 2: Mécanismes physiopathologiques de l'ulcération du pied diabétique. (Martini et al., 2018).

I.5.3. Classification des plaies du pied chez le patient diabétique :

Plusieurs classifications ont été proposées pour identifier la sévérité et le pronostic de l'infection du pied diabétique :

- La classification de l'Université du Texas est très pratique. Elle comporte quatre grades en fonction de la profondeur de la plaie et quatre stades selon la présence d'une infection et/ou d'une artériopathie. Elle détermine le risque d'amputation et oriente le traitement (**Tableau I**) (**annexe 03**) (Mutluoglu et al., 2013).

- La classification du Consensus international sur le pied diabétique permet de juger la sévérité de l'infection. Elle comporte quatre grades en fonction de l'extension des signes inflammatoires, en surface et en profondeur, et la présence de signes systémiques et/ou de troubles métaboliques (**tableau II**) (**annexe 03**) (IWGDF, 2015).

I.5.4. Principaux facteurs favorisant l'infection du pied diabétique

Les facteurs déclenchant une infection du pied diabétique les plus fréquents sont :

- Des chaussures inadaptées aux déformations du pied.
- Une hyperpression répétitive lors de la marche.
- Des ongles blessants.
- La présence de corps étrangers dans la chaussure, des soins inadaptés.
- La marche pieds nus (**Jacques et al., 2015**).

I.5.5. Agents causaux de l’infection pied diabétique

L’infection de la plaie, à proprement parler, est marquée par la présence de microorganismes réplicatifs dans la plaie avec défaut de cicatrisation et inflammation prolongée. La flore est souvent poly microbienne, Les bactéries pathogènes usuelles impliquées sont *Staphylococcus aureus*, les streptocoques, *Escherichia coli*, *Proteus*, *Klebsiella*, les germes anaérobies, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*... (**Boucher et al., 2017**).

Tableau I: Corrélations Clinic bactériologiques entre les pathogènes habituellement Identifiés et les types de plaies (Lipsky et al., 2004).

Type de plaie du pied	Pathogènes
Plaie superficielle récente sans antibiothérapie récente	Streptocoques β-hémolytiques Staphylococcus aureus
Plaie chronique (≥ 1 mois) Plaie antérieurement traitée par antibiotiques	Streptocoques β-hémolytiques Staphylococcus aureus Entérobactéries
Plaie traitée par des céphalosporines d’évolution défavorable	Entérocoques
Lésion macérée	Pseudomonas sp. (fréquemment en association avec d’autres bactéries)
Plaie de longue durée (ulcère ≥ 6 mois), Traitement antérieur par des antibiotiques à large spectre	Association de cocci à Gram positif aérobies (Staphylococcus aureus, streptocoques β-hémolytiques, staphylocoques à coagulase négative, entérocoques), et de bacilles à Gram négatif (entérobactéries, bacilles à Gram négatif non fermentatifs, Pseudomonas sp.), ± corynébactéries, ± Candida sp.
Odeur nauséabonde, Nécrose, Gangrène	Cocci à Gram positif aérobies, Entérobactéries, Bacilles à Gram négatif non fermentatifs, Pseudomonas sp. Anaérobies stricts

Chapitre II

La cavité nasale et sa flore bactérienne

II.1. Anatomie du nez

Il est assimilé à une pyramide ostéo-cartilagineuse drapée par une peau d'épaisseur variable, doublée par un système musculaire plus ou moins important. La base de cette pyramide est constituée par les orifices narinaux (**Dominique, 2016**).

II.2. Fosses nasales

Les fosses nasales sont deux cavités anfractueuses de la face, séparées par une cloison médiane. Chacune s'ouvre à l'extérieur par la narine et débouche en arrière dans le pharynx par un orifice (**Claude et al., 2019**).

Elles permettent le passage de l'air inspiré mais ont 3 autres fonctions :

- Le réchauffement de l'air inspiré
- L'humidification de l'air
- La perception des odeurs.

Pour assurer ces fonctions, les fosses nasales sont tapissées par une muqueuse respiratoire, humidifiée en permanence par des cellules spécialisées. Cette muqueuse recouvre des reliefs osseux, situés sur la paroi externe des fosses nasales : les cornets (**Dominique, 2016**) (**Figure 03**).

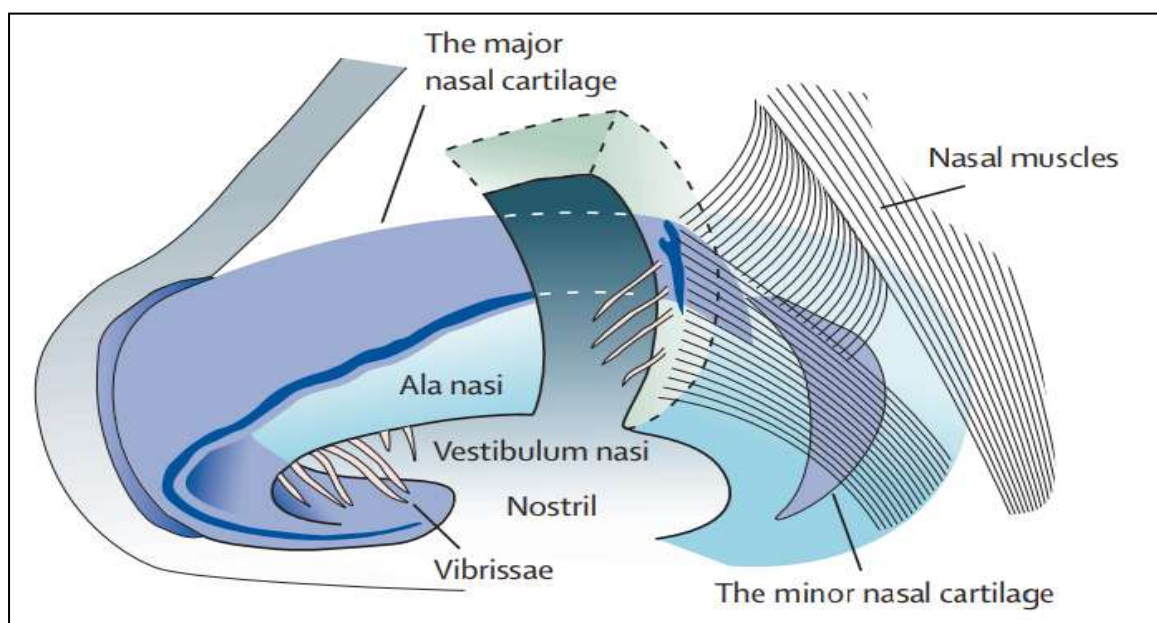


Figure 3: Anatomie des fosses nasales (**Heiman et al., 2005**).

II.3. Flore commensale

Les bactéries qui ne peuvent vivre qu'en présence de cellules humaines ou animales, car elles se développent aux dépens de produits du métabolisme cellulaire. Elles n'entraînent pas en principe de manifestations pathologiques chez l'homme. On les retrouve sur la peau, les muqueuses, et dans le tube digestif. Cependant, beaucoup d'entre elles possèdent des caractères d'une potentielle virulence et, dans certaines conditions, peuvent provoquer des infections. Une partie de notre pathologie est due à ces bactéries (**Dupeyron et al., 2011**).

II.4. Flore bactérienne commensale des cavités nasales

II.4.1 Définition

Elle se compose essentiellement de *Staphylococcus epidermidis*, de corynébactéries et dans une moindre mesure de streptocoques, *Haemophilus*, *Moraxella* et de *Neisseria sp* (**Dupeyron et al., 2011**). Et certains sujets sont porteurs de *Staphylococcus aureus* au niveau des fosses nasales (un tiers des individus) (**Fraperie et al., 2016**).

II.4.2 Les principaux genres bactériens de la cavité nasale

II.4.2.1 *Moraxella* (*Branhamellacatarrhalis* ou *Neisseria catarrhalis*)

Sont des Diplocoque gram négatif, aérobie, oxydase-positif ; les souches d'intérêt clinique produisent habituellement une β -lactamase (**Santé Canada, 2015**). Elle est Immobile, asacharolytique (contrairement au genre *Neisseria*), réduit les nitrates en nitrites.

Bactérie Strictement humain. Flore commensale du nez et du rhino-pharynx. Contamination par contact direct avec les gouttelettes et les sécrétions du nez et de la gorge de sujets infectés, A une Transmission faible, en raison de sa faible virulence, par voie aérienne (**Tourr et al., 2019**).

II.4.2.2 *Staphylococcus epidermidis*

C'est une commensale de la peau et des muqueuses, il peut contaminer des prélèvements superficiels et même des prélèvements obtenus par ponction transcutanée (comme les hémocultures). *S. epidermidis* peut se comporter comme une bactérie opportuniste et provoquer des infections chez les sujets porteurs du matériel étranger (cathéter intra vasculaire, dérivation

ventriculaire, prothèse ostéoarticulaire). Cette bactérie a en effet la propriété de former des biofilms sur du matériel étranger. Les souches acquises en milieu hospitalier sont souvent très résistantes aux antibiotiques (**Nauciel *et al.*, 2000**).

II.4.2.3. Les streptocoques

Sont des microorganismes aérobies Gram positifs responsables de nombreux troubles, tels que pharyngite, pneumonie, infections cutanées et des plaies, sepsis et endocardite.

Le principal streptocoque pathogène est *S. pyogenes*, qui est β -hémolytique et classé dans le groupe A de la classification de Lance Field (**Larry *et al.*, 2017**). Il fait partie de la flore commensale des muqueuses de la sphère ORL. Mais sous l'influence de certains facteurs, il peut devenir pathogène et être responsable d'un certain nombre d'infections au niveau de la sphère ORL : angines, sinusites et otites moyennes aiguës, et de la peau : impétigo, érysipèle (**Flandrois, 2000**).

II.4.2.4. Corynébactéries

Sont des bacilles à Gram positif, immobiles, asporulés, aéro-anaérobies et possédants généralement une catalase. Souvent granuleux et à extrémités élargies. Leur groupement en palissades ou en lettres de l'alphabet est souvent caractéristique. De nombreuses espèces font partie de la flore normale de l'arbre respiratoire, des autres muqueuses et de la peau. (**Chu-Ps, 2003**).

II.4.2.5. Haemophilus

Les bactéries du genre *Haemophilus* sont de petits bacilles à Gram négatif, immobiles, aéro-anaérobies facultatifs, parasites obligatoires des muqueuses et exigeant pour leur croissance les facteurs X (hémine) et/ ou V (NAD). *Haemophilus influenzae*, espèce type du genre *Haemophilus*, est X + V dépendant. L'homme est l'hôte naturel de *H. influenzae* qui colonise l'oro- et le naso-pharynx et plus rarement le tractus génital. Croissance sur gélose chocolat supplémentée (isovitalex, polyvitex, etc...), en aérobiose ou sous 5% de CO₂, apparaisse sous forme des colonies grises, muqueuses, luisantes, de 0,5 à 2 mm de diamètre pour les souches capsulées ou d'aspect rugueux pour les souches non capsulées (**ANSM, 2011**).

II.4.2.6 Neisseria

Les *Neisseria* sont des cocci à Gram négatif, en diplocoques, aérobies stricts, oxydase positive. Plusieurs espèces commensales peuvent être isolées au sein de la flore oropharyngée de l'homme telles *N. sicca*, *N. flava*...tandis que deux espèces *Neisseria meningitidis* et *Neisseria gonorrhoeae* sont des pathogènes (**Laga et al., 1988**).

II.4.2.7 Staphylococcus aureus

S. aureus est un organisme commensal le plus souvent présent dans la partie antérieure des narines. Des études montrent que les porteurs asymptomatiques de *S. aureus* sont relativement fréquents, entre 20 et 40 % des adultes, et suggèrent que 50 % des adultes sont colonisés à un moment quelconque au cours de leur vie. Les études transversales dans les populations à haut risque, notamment les personnes atteintes de diabète ou d'affections cutanées exfoliatives chroniques (**Bowman et al., 2011**). Et aussi responsable d'infections communautaires et nosocomiales à différentes localisations (**Ghernaout, 2013**).

II.5. Portage nasal de *Staphylococcus aureus*

II.5.1 Définition

Une personne est dite porteuse de *S. aureus* si cette bactérie est présente dans son organisme ; particulièrement au niveau de la muqueuse nasale, sans que cette personne ne soit réellement infectée. On dira alors qu'elle est porteuse saine ou encore que l'infection ne soit pas active chez elle (**Wertheim, et al., 2005**) (**Figure 04**).

II.5.2 Type de portage Chez les individus sains

On peut décrire 3 modèles de portage nasal :

- Le portage permanent : environ 20% de la population (12-30%) sont porteurs de manière persistante.
- Le portage intermittent : 30% de la population, mais la proportion peut aller de 16% jusqu'à 70% de portage, avec des souches qui varient au cours du temps.
- Non porteurs : 50% de la population (16-69%) ne sont pratiquement jamais porteurs, ces individus éliminent rapidement les souches de *S. aureus* au cours d'essai d'inoculation volontaire (**Nouwen, 2004**).

II.5.3 Portage nasal de *Staphylococcus aureus* et le Diabète

Un taux de portage nasal plus élevé était noté chez les sujets diabétiques par rapport au non diabétiques dans plusieurs enquêtes (**Kluytmans *et al.*, 1997**). Par contre, la colonisation nasale par *S. aureus* n'a pas été significativement plus fréquente chez les diabétiques que chez les non diabétiques. Et Une étude a montré que les personnes ayant des lésions cutanées à *S. aureus* ont un taux du portage nasal de *S. aureus* plus élevé (**Tristan *et al.*, 2007**).

II.5.4 Portage nasal de *Staphylococcus aureus* et l'infection du pied diabétique

Staphylococcus aureus est l'agent pathogène le plus fréquemment isolé des infections du pied diabétique. Une étude a comparé les profils génotypiques des souches de *S. aureus* isolés des narines et des infections à ulcère du pied diabétique chez 276 patients. La bactérie a été isolée des deux sites dans 36% de la population et des souches identiques ont été trouvées dans 65% des cas (**Dunyach-Remy *et al.*, 2017**).

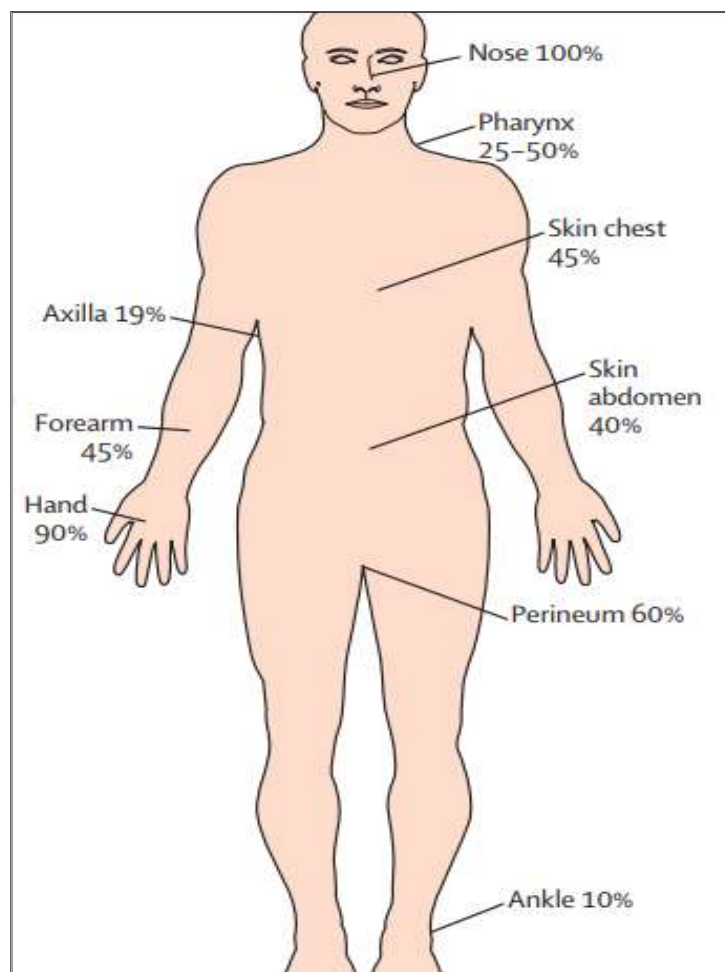


Figure 4 : Taux de portage de *S. aureus* au niveau du corps humain (**Heiman *et al.*, 2005**).

Chapitre III :
**L'environnement hospitalier et sa flore
bactérienne**

III.1. Définition de l'environnement hospitalier

Ensemble des éléments qui entrent en contact avec les patients, le personnel soignant ou les visiteurs dans une structure hospitalière.

- Eau : eau du réseau, eau de dialyse, microfiltré...
- Surfaces : mobiliers, linge, stéthoscopes, thermomètres ...
- Air : médical ou atmosphérique
- Dispositifs médicaux (endoscopes)
- Solutés, alimentation... (**Barbut, 2017**).

L'hôpital, conçu pour mieux soigner et guérir le malade, peut, à tout moment devenir un danger pour celui qui vient y rechercher un remède. (**Ben Amar et al., 1998**).

L'eau, l'air, les surfaces et les objets sont naturellement contaminés par des germes, c'est la bio contamination. A l'hôpital ou dans une structure de soins, le danger vient de ce que les microorganismes qui nous entourent trouvent des conditions favorables à leur développement en quantité tout en devant de plus en plus résistants. (**Hugard, 2003**).

Cette contamination environnementale est très variable qualitativement et quantitativement d'un établissement à l'autre et au sein d'un même établissement en fonction des services, des patients (sain, colonisées, infectés), de soins et des technique pratique. (**Vesley et al., 1996**).

III.2. Différents types de zone à risque dans l'environnement hospitalier :

Les locaux hospitaliers sont classés selon le risque infectieux, en quatre zones :

- **Zones à risques minimales** : zone administrative, couloirs, bureaux,
- **Zones à risques moyens** : long séjour, maternité, psychiatrie,
- **Zones à risques sévères** : atteints d'un cancer ou d'une cirrhose, chambre où se trouvent les malades immunodéprimés.
- **Zone à très hauts risques** : chambre des malades qui ont, du fait de leur maladie, peu de défenses immunitaires, c'est le cas de services des grands brûlés, de greffes, le bloc opératoire, la néonatalogie. (**Regard et al., 2012**).

III.3. Les sources de Contamination dans l'environnement hospitalier

Les milieux de l'environnement (air, surfaces, eau) présentent une contamination microbiologique permanente mais variable dans le temps et dans l'espace. Les micro-organismes présents sont des saprophytes de l'environnement mais aussi des commensaux ou des pathogènes d'origine humaine. Les micro-organismes contribuent insidieusement à la contamination progressive des divers supports inertes de l'environnement. Certains de ces micro-organismes sont à l'origine de l'altération de produits dans diverses industries et d'infections associées aux soins chez les patients vulnérables dans les établissements de santé. **(Squinazi, 2017).**

III.3.1.L'air

On distingue deux groupes : Les microorganismes de l'air extérieur (flore saprophyte extérieur), rarement pathogènes, on trouve majorité des Bacillus, des microcoques et staphylocoques à coagulase négative, mais d'autres espèces peuvent être isolées, comme des bacilles à Gram négatif et des bactéries anaérobies de la flore tellurique, **(Hugard, 2003).**

Les microorganismes de l'air intérieur hospitalier qui sont souvent de reflet de la flore commensale humaine des patients et des soignants. Les bactéries les plus fréquemment isolées ont une origine cutanée (germes aérobies, comme les staphylocoques à coagulase négative, les corynébactéries et Bacillus ; des germes aérobies et des cocci anaérobies).la flore d'origine humaine comporte également des bacilles Gram négatif de la flore intestinale, des streptocoques et des corynébactéries de la flore de l'oropharynx **(Aspec, 2008).**

III.3.2. L'eau

L'usage de l'eau en milieu hospitalier est très varié : alimentaire, sanitaire et médical. L'eau, que ce soit en milieu communautaire ou hospitalier, pouvait être contaminée par de nombreuses bactéries multirésistantes **(Vincent et al.,2014)**, Elle serait un vecteur privilégié de nombreuses pathologies d'origine bactérienne, pouvant ainsi engendrer des infections chez des patients fragilisés ou immunodéprimés **(Diduch et al.,2016).**

A l'échelle mondiale, 4% de décès sont causées par des maladies infectieuses d'origine hydrique **(Golberg et al.,2014)**. Les bactéries telles que les cyanobactéries, Legionella, Aeromonas, Pseudomonas aeruginosa ou Burkholderia pseudomallei, peuvent séjourner dans

l'eau et s'adapter à toutes les conditions physicochimiques du milieu (Pagnier *et al.*, 2015).

III.3.3. Les surfaces

Constituent un support pouvant recevoir et héberger à la fois des salissures et des micro-organismes. Arrivés à proximité des surfaces réceptrices, par sédimentation ou par contact, les micro-organismes peuvent adhérer par l'intermédiaire d'interactions physico-chimiques, interactions qui dépendent des propriétés physico-chimiques de surface des micro-organismes et du revêtement. (Squinazi, 2017).

Les surfaces les plus manipulées sont en règle générale les plus contaminées : poignées de porte, téléphone, claviers informatiques..., les surface peuvent conserver des bactéries à Gram positif, comme *S. aureus*, *Streptococcus pyogènes* ou *Enterococcus*., (Hugard, 2003).

III.4. Place de l'environnement hospitalier dans la chaine épidémiologique

La chaine épidémiologique de transmission d'un agent infectieux est caractérisée par un réservoir émetteur et un réservoir récepteur reliés par un mode de transmission (figure 05).

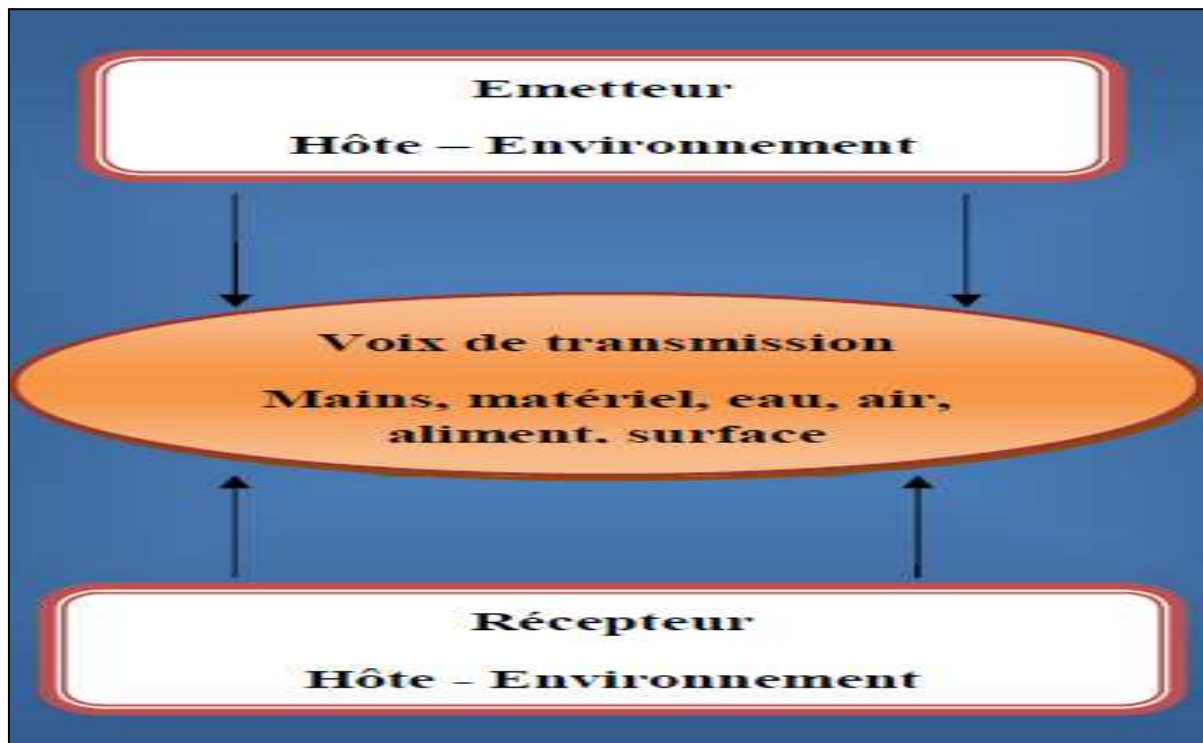


Figure 5 : Chaine épidémiologique de transmission d'un agent infectieux. (Emori *et al.*, 1993).

En effet, l'environnement peut être à la fois émetteur (de l'environnement à la personne soignée) ou récepteur (de la personne soignée à l'environnement). Le risque réel d'acquérir une infection liée à la contamination de l'environnement est rarement démontrable car il est souvent difficile d'établir un lien épidémiologique entre l'agent infectieux de l'environnement et la survenue de l'infection. (**Clin, 2004**)

La place de la transmission directe interhumaine est reconnue comme prépondérante par rapport à la transmission liée à l'environnement (**Ctin, 2002**).

III.5. Rôle de l'environnement dans la survenue des infections nosocomiales

La contamination de l'environnement par des micro-organismes fait poser la question de leur responsabilité dans la genèse des infections nosocomiales. (**Cavallo et al., 2002**).

L'eau joue fréquemment le rôle de réservoir émetteur et les exemples les plus frappants constitués par la présence de Legionelle dans les réservoirs d'eau chaude, l'eau peut aussi jouer le rôle de transmetteur par la libération de microorganisme.

L'air est également un mode de transmission classique à partir d'un patient porteur d'une infection respiratoire (tuberculose par exemple). Enfin, les surfaces du proche environnement du patient constituent un réservoir récepteur secondaire qui, s'il n'est pas maîtrisé, sera responsable de transmission indirecte d'infection. (**Emori et al., 1993**).

III.6. La flore bactérienne retrouvés dans l'environnement hospitalier

III.6.1. Les bactéries d'origine humaine

La flore d'origine humaine est composée des bactéries émises par l'organisme humain, essentiellement les flores commensales cutanées et naso-oropharyngiennes et éventuellement la flore digestive : *Staphylococcus coagulase négative* notamment *Staphylococcus epidermidis* et *Staphylococcus hominis*, *Corynebacterium sp.*, *Propionibacterium acnes*, *Micrococcus*, Streptocoques et entérobactéries (**Prescott et al., 2003**).

III.6.2. Les bactéries d'origine environnementale :

Les bactéries d'origine environnementaux sont les bacilles à gram négatif et

mycobactérie atypique (xenopi), *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, microcoques, Staphylocoques coagulase négative et plus rarement de *Staphylococcus aureus*. (Legout, 2016)

Sont bien adaptés à la survie et à la multiplication dans l'environnement, La flore environnementale est en général non pathogène (Glélé *et al.*, 2009).

III.6.3 Les bactéries retrouvés dans l'environnement hospitalier

Le terme nosocomial est utilisé pour désigner toute maladie contractée par un patient sous soins médicaux. C'est une infection contractée par le patient pendant son séjour à l'hôpital.

Les agents habituellement impliqués dans les infections nosocomiales incluent: *Streptococcus spp.*, *Acinetobacter spp.*, *Entérocoques*, *Pseudomonas aeruginosa*, staphylocoques à coagulase négative, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Legionella* et les membres de la famille d'Enterobacteriaceae notamment *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Serratia marcescens* (Hassan *et al.*, 2015).

Tableau II : Les bactéries fréquemment mises en cause dans les infections nosocomiales. (Figurella *et al.*, 2007).

Bactéries responsables	Localisation des infections	Réservoir	Mode de transmission	Fréquence
Staphylococcus Aureus	Plaie, peau, Sang	Peau, nez	Mains, air Ambient, cathéters	10%
Entérocoques	Urines, plaie	Intestin	Mains, air Ambient, sondes Urinaire	9%
Escherichia Coli	Urines, sang	Intestin	Mains, sondes urinaires	19%
Klebsiella	Appareil respiratoire	Intestin	Mains, liquides	8%
Enterobacter	Plaies	Intestin	Mains, liquides	4%
Proteus	Urines	Intestin	Mains, liquides	7%
Pseudomonas	Urines, sang, Plaies, appareil respiratoire	Milieus humides	Matériel médicale, Mains	9%

III.7. La survie des micro-organismes dans l'environnement :

La survie des micro-organismes dans l'environnement est de durée très variable, dépendant de différents facteurs comme la nature du germe, la température, le pH, le taux d'humidité, le type de surface et leur degré de salissure, en particulier leur teneur en matières organiques (biofilm) (**WEBER, 1997**).

Différents travaux ont évalué la durée de survie des micro-organismes dans l'environnement. Par exemple, pour *Enterococcus faecalis*, cette durée varie de 30 minutes sur la membrane d'un stéthoscope à 5 jours sur le dessus d'un plan de travail. De même, *staphylocoques dorés* résistants à la méticilline peuvent survivre dans l'environnement pendant plus de 7 jours... (**Hartemann, 2000**).

III.8 Le rôle de l'environnement hospitalier dans l'infection du pied diabétique

Les problèmes liés au pied sont responsables de 50% des hospitalisations liées au diabète. La plupart des bactéries associées aux plaies chroniques, existent sous forme de communautés de biofilms. Pour cette complexité, l'introduction d'infections d'origine hospitalière agit comme un catalyseur pour aggraver la maladie. (**James et al., 2008**).

Les germes le plus répondeur dans l'environnement hospitalier sont les bactéries à Gram positif comme Les staphylocoques et les streptocoques sont généralement la cause de l'infection du pied diabétique. Cependant, les organismes à Gram-négatifs. (**Dowd et al., 2008**).

Pai et al., (2012). Ont constaté que les infections graves de leur série étaient polymicrobiennes ; 72% des organismes cultivés étaient à Gram positif et 49% à Gram négatif.

| Partie II : **Travail Expérimentale**

Matériel et méthodes

I. Matériel**I.1. Matériel biologique**

Le matériel biologique de notre étude consiste en des isolats prélevés à partir de 20 patients, ainsi des différentes surfaces de l'environnement hospitalier (10 endroits) de l'hôpital de Mohammed Boudiaf et la maison de diabète Ouargla.

I.2. Milieux de culture**I.2.1. Milieux de culture solide**

- Gélose Chapman (CHP) ;
- Gélose Mac conkey (Mac) ;
- Gélose au sang (GS) ;
- Gélose nutritive ;
- Gélose Bile Esculine azide (BEA) ;
- Gélose Muller Hinton ;
- Gélose Mueller Hinton au sang ;

I.2.2. Milieux de culture liquides

- Bouillon cœur cerveau ;
- Bouillon nutritive ;

I.3. Tests biochimiques

- Milieu TSI (Triple Sugar Iron) ;
- Milieu Clark et Lubs ;
- Milieu Mannitol-mobilité ;
- Milieu king A ;
- Milieu king B ;
- Milieu Citrate de Simmons ;
- Milieu Urée-indole ;
- Milieu viande-foie ;
- Milieu cétrimide ;

- Eau oxygénée à 10 volumes ;

I.4.Réactifs

- Violet de Gentiane ;
- Lugol ;
- Alcool 90° ;
- Fuschine ;
- Réactif de Kovacs ;
- Rouge de méthyle ;
- VP1, VP2 ;
- Perchlorure de fer (TDA) ;
- Huile de vaseline ;
- Antibiotique en disques.(**annexe3**).

II. Méthodes**II.1. Présentation du lieu de stage :**

Notre travail s'est déroulé durant la période allant du 10février au 10juin 2019. Il est basé sur l'isolement et l'identification des bactéries responsables d'infections des pieds diabétiques, les bacteries présent dans les cavités nasales et l'environnement hospitalier du patient, ainsi que déterminer leur résistance aux antibiotiques.

Ce travail a été réalisé dans deux endroits différents dans la wilaya de Ouargla. Le premier lieu est L'hôpital Mouhamed Boudiaf qui est un établissement public hospitalier (EPH) constitué de plusieurs services (urgences, hémodialyse, médecine interne, chirurgie, pneumologie, ...) ainsi qu'un Laboratoire d'analyse médicale avec 04 unités fondamentales : Biochimie et hématologie, parasitologie et bactériologie (unité fondamentale de stage).

Le deuxième lieu est La maison de diabète qui est située au centre-ville de Ouargla (cité M'khadma), près de 2000 malades atteints du diabète sont inscrits dans cette structure sanitaire qui comporte :

- Deux salles de consultation ; deux chambres pour les malades (04 lits) ;

- Une salle de réception, une salle de soin et un laboratoire.

II.2. Recueil des données

Plusieurs variables ont été recueillies au cours de l'étude pour chaque malade et avant chaque prélèvement, était pour le but de prendre des renseignements sur les caractéristiques épidémiologiques (age, sexe...) cliniques (site de l'infection) etc... (**tableau VII**).

II.3. Méthodes de prélèvement :

Pour chaque patient diabétique porteur de plaies chroniques au niveau de son pied, en faisons un écouvillonnage nasal et de la plaie (prélèvement effectué au milieu de la plaie) et aussi un écouvillonnage de son environnement (quelques surfaces les plus touchées).

II.3.1. A partir des pieds infectés :

L'écouvillonnage de la plaie : C'est la méthode la plus utilisée car la plus évidente. Elle consiste à passer un écouvillon de coton sur une surface de 1 cm² de la plaie, dans un mouvement en Z combine a une rotation (**DOW ,2003**). Il est préférable de ne pas prélever sur les bords de la plaie. Ce prélèvement doit être pratiqué lors de plaies superficielles (**LIPSKY ,2004**).

II.3.2. A partir des cavités nasales :

Ecouvillonnage nasal des 2 narines antérieures avec un même écouvillon humidifié au sérum physiologique stérile (écouvillon stérile) (**Mechkour et al., 2009**).

Insérer l'écouvillon dans la narine antérieure du patient (1-2 cm) et recueillir les sécrétions nasales en effectuant 5 rotations complètes de l'écouvillon ; répéter la même procédure dans l'autre narine du patient sans changer d'écouvillon et placer le dans un étui de transport (**Baron et al., 2007**).

Acheminer rapidement les écouvillons à température ambiante (si le délai de prise en charge du prélèvement inférieur à 24 h, il n'y a pas de problème de conservation) (**Mechkour et al., 2009**).

Tableau III: Les informations recueillies pour chaque patient.

Patient	Age	Sexe	Type	Pied	Site	Service
P1	43	M	DT1	Droit	Mi-pied face dorsale	INF
P2	65	M	DT2	Droit	Mi-pied face dorsale et plantaire	M.D
P3	59	F	DT2	Gauche	Têtes métatarsiennes	CH.F
P4	43	M	DT2	Gauche	Interdigitales	CH.H
P5	60	M	DT2	Droit	Têtes métatarsiennes	M.D
P6	64	M	DT2	Droit	Mi-pied face plantaire	CH.H
P7	62	M	DT2	Gauche	Mi-pied face dorsale et plantaire	INF
P8	53	F	DT2	Gauche	Portion distale des orteils	CH.F
P9	54	M	DT2	Droit	Face dorsale des orteils	M.D
P10	56	F	DT2	Gauche	Hallux amputée	CH.F
P11	57	F	DT2	Droit	Mi-pied face dorsale	CH.F
P12	57	F	DT2	Gauche	Face dorsale des orteils	M.D
P13	60	M	DT1	Gauche	Talon	CH.H
P14	63	M	DT1	Gauche	Des orteils amputée	CH.H
P15	56	F	DT2	Gauche	Interdigitale	CH.F
P16	77	M	DT2	Gauche	Interdigitale	M.D
P17	73	F	DT1	Gauche	Portion distale des orteils	M.D
P18	62	M	DT2	Droite	Talon	CH.H
P19	55	M	DT2	Gauche	Mi-pied face dorsale et plantaire	M.D
P20	66	M	DT1	Gauche	Des orteils amputée	M.D

p : Patient. DT : type de diabète. F : Féminin. M : Masculin. M.D : maison de diabète. INF : Infection. CH.H : Chirurgie Homme. CH. F : Chirurgie Femme.

II.3.3. A partir de l'environnement hospitalier : (les surfaces)

En humidifiant l'écouvillon à l'aide du sérum physiologique stérile (Norme NF EN ISO 14698-1 (2004)), et en passant le en stries parallèles rapprochées sur la surface à prélever (25cm²), En faisant tourner légèrement l'écouvillon : habituellement, il est préconisé un angle de 45° (Norme NF EN ISO 14698-1 (2004)) ;

Répéter l'écouvillonnage de la même zone par des stries perpendiculaires aux premières et mettre de façon aseptique l'écouvillon dans le tube de transport et en fin transmettre l'écouvillon au laboratoire le plus rapidement possible à l'abri d'une contamination (Norme NF EN ISO 14698-1(2004)) (moins de 4h) (**Boulestreau *et al.*,2016**).

II.4. Isolement**II.4.1. Isolement direct**

L'isolement est réalisé sur quatre milieux de culture : gélose Chapman, gélose Hektoen, gélose bile esculine azide et gélose au sang frais (**Annexe N°1**) à 37°C pendant 24 à 48 heures. Et pour confirmer la pureté des souches, nous avons effectué des repiquages successifs en alternant milieu liquide (bouillon nutritif) et milieu gélosé sélectif.

II.4.2. Isolement après enrichissement pour les prélèvements de l'environnement

Un échantillon du prélèvement est introduit dans 5ml de bouillon nutritif (cœur-cerveille), il permet après une incubation à 37°C pendant 24 heures d'obtenir une multiplication des microorganismes (même si initialement dans le prélèvement ils sont en faible nombre).

A partir du tube contenant l'infusion cœur-cerveille, un échantillon du prélèvement est ensemencé sur les quatre milieux d'isolement. L'incubation est faite à 37°C pendant 18 à 24 heures (**Marchal *et al.*, 1973**).

II.5. Purification des isolats

Après incubation des quatre milieux ensemencés, il a été procédé à la purification des colonies bactériennes par ré-isolement sur les mêmes milieux afin d'obtenir des souches pures pour entamer l'identification. Les colonies sont repérées selon leurs aspects et leurs morphologies.

II.6. Pré-identification des isolats

La pré-identification comporte une série d'étapes, se succédant le plus souvent dans un ordre déterminé ; les souches isolées ont été pré-identifiées par des techniques microbiologiques standards. Les résultats obtenus au cours de chaque étape permettent l'orientation des démarches ultérieures.

II.6.1. Observation macroscopique

L'observation des colonies peut être d'un grand intérêt taxonomique lorsque la culture est faite sur des milieux spécifiques faisant apparaître certains caractères propres aux espèces. C'est une description directe faite sur boîtes d'isolement, permettant au moins une distinction des souches les unes des autres afin de les identifier.

II.6.2 Observation microscopique (coloration de Gram)

Nous faisons une observation microscopique des bactéries après la coloration de Gram pour voir la taille, la forme, le type de regroupement des cellules bactériennes et aussi pour vérifier la pureté des isolats et elle permet de classer les bactéries en deux grandes catégories : Les bactéries à Gram positive apparaissent avec une coloration violette et les Gram négatif ont une couleur rose.

La coloration de Gram se déroule en plusieurs étapes qui se succèdent et consistent à :

- fixer le frottis à la flamme d'un bec bunsen ;
- recouvrir le frottis de la solution de cristal violet, laissé agir une minute (violet de gentiane)
- rejeter le colorant puis laver à l'eau ;
- recouvrir la préparation de Lugol, laisser agir une minute ;
- rejeter le Lugol puis laver à l'eau ;
- décolorer à l'alcool 95° ;
- rincer à l'eau courante et recouvrir la lame de solution de fuchsine diluée, laisser agir quelques secondes ;

- rejeter la fuchsine, lavée abondamment, égoutté, sécher entre deux feuilles de papier buvard propres. (Joffin *et al.*, 2006).

II.6.3 L'étude du métabolisme respiratoire

À fin d'étudier le métabolisme respiratoire, nous effectuons le test du type respiratoire sur milieu VF (viande-foie), test de catalase, et normalement le test d'oxydase qui est indisponible.

II.6.3.1. Test sur milieu viande-foie

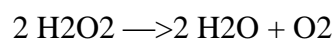
Chauffer au bain marie un tube contenant de la gélose « viande-foie » pendant 15 minutes pour chasser les gaz et particulièrement l'oxygène dissous dans le milieu (régénération du milieu). Laisser refroidir le milieu ainsi régénéré jusqu'à une température de 45-50°C.

À l'aide d'une pipette Pasteur prélever la culture bactérienne et ensemercer la gélose VF (viande-foie), en surfusion, en décrivant des spires de bas en haut. Refroidir immédiatement sous l'eau du robinet. Incuber 24-48h à 37°C. Après incubation plusieurs cas peuvent se produire :

- Croissance bactérienne au niveau de la partie supérieure du tube : bactéries aérobies strictes.
- Croissance bactérienne dans tout le milieu : bactéries aéro-anaérobies facultatives.
- Croissance au fond du tube : bactéries anaérobies strictes.

II.6.3.2. Test de la catalase

La catalase permet la décomposition de l'eau oxygénée selon la réaction :



L'activité catalasique permet la dégradation de l'eau oxygénée en oxygène et en eau. Elle est mise en évidence en déposant une colonie à tester dans l'eau oxygénée à 10 volumes sur une lame. Un dégagement gazeux abondant sous forme de mousse, traduit la décomposition de l'eau oxygénée (Guiraud, 2003).

II.7. Conservation des souches pures

La conservation à long terme des isolats purifiés est réalisée par pique centrale à partir de culture de 24h sur la gélose nutritive en tube à hémolyse. Où ils peuvent être conservés Pour plusieurs mois.

II.8. Recherches des coques Gram positifs

II.8.1. Recherches des staphylocoques

a. Fermentation de mannitol

La Mannitol Salt Agar est une préparation élaborée par Chapman pour différencier les staphylocoques coagulase positifs (p. ex. *Staphylococcus aureus*) des staphylocoques coagulase négatifs.

La fermentation du mannitol, signalée par un changement de l'indicateur au rouge de phénol, permet de différencier les espèces de staphylocoques. Les staphylocoques coagulase positifs (p. ex. *Staphylococcus aureus*) produisent des colonies de couleur jaune et une coloration jaune du milieu environnant, tandis que les staphylocoques coagulase négatifs produisent des colonies de couleur rouge et aucun changement de teinte de l'indicateur au rouge de phénol (**Chapman G.H ,1945**).

b. Recherche de la coagulase

Le test de la coagulase permet de mettre en évidence l'aptitude des Staphylocoques à coaguler le plasma ; c'est le principal test caractérisant *S. aureus*.

Ce test a consisté à introduire 0,5ml de sérum physiologique dans des tubes à hémolyse, puis à ajoute quelques colonies bactériennes. L'ensemble est homogénéisé. Ensuite 0,5ml du plasma du lapin est ajouté au mélange précédant. L'ensemble du mélange est à nouveau homogénéisé et incubé à 37°C. La lecture est faite au bout de 1 à 2h voir 24h. La réaction est considérée comme positive lorsque le plasma est coagulé et que le tube peut être retourné.

II.8.2. Recherches des streptocoques hémolytiques

Il s'agit de l'ensemencement direct ou après enrichissement du prélèvement sur une gélose au sang frais de mouton ou de cheval, incubée pendant 18-24 heures (**Vangelder E et al.,2002**).

Les streptocoques peuvent être classés en fonction de leur capacité à induire une hémolyse sur un milieu de gélose au sang frais.

Le pouvoir hémolytique est sa capacité à détruire les globules rouges, et permet une première orientation vers le germe bactérien présent dans la culture (**Belmonte, 2016**). On distingue des

- Cultures alpha hémolytiques : Elles se caractérisent par une hémolyse incomplète représentée par une couleur verdâtre.
- Cultures bêta hémolytiques : Elles se caractérisent par une hémolyse complète très importante, visible au niveau des zones claires.

II.8.3. Recherches des entérocoques

La Bile Esculine Agar est un milieu servant à l'identification présomptive des espèces d'entérocoques et des streptocoques du groupe D qui va hydrolyser le glycoside et l'esculine en esculetine et en dextrose. L'esculetine réagit à un sel de fer en formant un complexe de couleur marron foncé ou noire. Du citrate ferrique est incorporé au milieu afin de servir d'indicateur de l'hydrolyse de l'esculine et de la formation d'esculetine qu'elle produit. Les sels biliaires inhibent la croissance des bactéries Gram positives autres que les entérocoques.

II.9. Identification biochimique des bactéries à Gram négatif (Entérobactéries, Pseudomonas, Acinetobacter)

Les épreuves biochimiques permettent en général de distinguer les espèces, même étroitement apparentées entre elles. (**Marchal et al., 1982**). Ces tests ont été réalisés en utilisant les « galeries biochimiques traditionnelles : Le milieu TSI (milieu triple sucres), Mannitol-Mobilité, Clark et Lubs, Citrate de Simmons, urée indole, pour les isolats sur Mac conkey.

a. Test du citrate de Simmons

Le principe est de placer les germes dans un milieu contenant une seule source de carbone, le Citrate. Seules les bactéries qui possèdent les enzymes de dégradation de cette molécule peuvent se multiplier dans ce milieu. Le milieu estensemencé par des stries à la surface de la pente. Incuber à 30°C pendant 48 heures ou plus. L'utilisation de citrate se traduit par le virage de l'indicateur de pH au bleu (**Delarras, 2007**).

b. Test TSI (Gélose Glucose-Lactose-Saccharose-H₂S)

Milieu solide, incliné, renfermant un indicateur de pH coloré, le rouge de phénol, il contient trois sucres (glucose avec une forte concentration au culot- saccharose et lactose au niveau de la pente), des peptones, des thiosulfates et du fer. Ce test nous renseigne sur trois caractéristiques :

1. La production ou pas de gaz pendant la consommation du glucose se manifeste par un décollement de la gélose au fond du tube.
2. L'utilisation ou non du lactose qui se manifeste par un jaunissement de la pente sinon, la pente reste légèrement rose.
3. La production ou non d'H₂S qui se traduit par un noircissement. Un ensemencement a été effectué par stries puis piqûre centrale sur la pente puis incubation à 30°C pendant 24 heures.

c. Test Voges Proskauer et Rouge de Méthyl

Le milieu de Clark et Lubs permet l'étude des produits de fermentation du glucose : différenciation entre les fermentations « acides mixtes » et « butylène glycolique ».

- ✓ Test RM (rouge de méthyle) Ce test permet la mise en évidence, grâce au rouge de méthyle, de la fermentation acide mixte par acidification d'un milieu glucosé après fermentation du glucose.
- ✓ Test VP (Voges-Proskauer) Ce test permet la mise en évidence de la production d'acétoïne (ou 3-hydroxy-butanone) au cours de la fermentation butylène glycolique : en présence d'une base forte (soude ou potasse) et d'a-naphtol, l'acétoïne donne une coloration rouge en milieu très oxygéné (**Joffin et al., 2006**).

d. Test Mannitol Mobilité

Ce test est utilisé pour les bactéries fermentatives. Il permet de mettre en évidence deux caractères : l'utilisation du mannitol et la mobilité. Sur le milieu de mannitol, un ensemencement a été effectué par piqûre centrale et incubation à 30°C pendant 24 heures. Si le milieu devient jaune : la bactérie est Mannitol +, s'il reste rouge elle est Mannitol -. Pour La mobilité, elle se traduit par l'envahissement de la gélose molle (**Marchal et al., 1982**)

e. Mise en évidence de l'uréase, tryptophane désaminase (TDA) et la production d'indole

Ce test consiste à inoculer dans le milieu urée indole des colonies bactériennes identiques, suite à une incubation de 18 heures à 37°C, la révélation de la présence de l'uréase se traduit par une alcalinisation du milieu d'où une coloration rose rouge.

L'addition du réactif de Kovacs montre la production de l'indole qui se traduit par un anneau rouge en surface du milieu. La désamination du tryptophane se manifeste par une coloration brune après l'adjonction de perchlorure de fer.

f. Productions des pigments

Des espèces des *Pseudomonas* produisent des pigments dont les deux principaux (pyocyanine et pyoverdine) peuvent être mis en évidence sur les géloses King A, King B et la gélose au cétrimide.

Les milieux King A et B sontensemencés par strie sur la pente, incubation à 37°C pendant 24h.

Le milieu Gélose au cétrimide estensemencé par un ou(des) strie(s) sur la surface de la gélose en boîtes de pétrie, incubation à 37°C pendant 24h.

- La gélose King A est utilisée pour la caractérisation des *Pseudomonas* par la mise en évidence de la production de pyocyanine. La production de pyocyanine se caractérise par une pigmentation bleue.
- La gélose King B permet la production de fluorescéine (ou pyoverdine), pigment jaune vert fluorescent sous lumière ultra-violette, par certains *Pseudomonas*.
- La gélose au cétrimide est utilisée pour l'isolement et l'identification présumptive de *Pseudomonas aeruginosa*. Le cétrimide est un ammonium quaternaire qui inhibe la croissance de la plupart des autres espèces bactériennes. *Pseudomonas aeruginosa* colore ce milieu en bleu-vert par production de pyocyanine.

II.10. Détermination de la sensibilité aux antibiotiques

L'antibiogramme est effectué selon la méthode classique de diffusion de l'antibiotique sur gélose à partir de disques d'antibiotiques selon les recommandations du National Committee for Clinical Laboratory Standard (NCCLS).

Technique de l'antibiogramme

Un inoculum est préparé à partir d'une culture pure de 18 heures sur milieu d'isolement (gélose nutritive). Quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques sont raclées à l'aide d'une anse de platine, déchargée dans 5 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.

La suspension bactérienne est bien homogénéisée et ajustée jusqu'à atteindre une opacité équivalente à 0.5 Mc Farlan. Elle est ajustée en ajoutant, soit de la culture à la suspension bactérienne, soit de l'eau physiologique stérile.

Le milieu Mueller-Hinton (MH) (**Annexe 1**), coulé en boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre sur une épaisseur de 4 mm est utilisé, l'ensemencement doit se faire dans les 15 mn qui suivent la préparation de l'inoculum.

Un écouvillon stérile est trempé dans la suspension bactérienne, essoré en le pressant fermement sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum, puis frotté sur la totalité de la surface gélosée sèche, de haut en bas, en stries serrées.

L'opération est répétée deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. L'ensemencement est fini en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

Application des disques

Les disques choisis sont posés à l'aide d'une pince flambée qui sont parfaitement appliqués à plat sans glissement en appuyant légèrement sur la surface de la gélose. Une distance minimale de 15 mm doit séparer un disque périphérique du bord de la boîte et deux disques doivent être éloignés au minimum de 30mm de sorte que les zones d'inhibitions ne se chevauchent pas. Les boîtes sont ensuite portées à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures ; en position renversée.

Lecture et interprétation

Elle consiste à déduire à partir de la mesure des diamètres d'inhibition, le caractère sensible, ou résistant de la bactérie en compare les résultats aux valeurs critiques.

| Résultats et discussions

II.1. Résultats des prélèvements

Durant la période d'étude 20 patients à pied diabétique infecté ont été concernés ou bien 40 prélèvements : 20 prélèvement nasale et 20 autres au niveau des pieds ainsi que 10 prélèvements à partir de l'environnement hospitalier (surfaces).

II.1.1 Répartitions des prélèvements selon le type de diabète

Dans notre étude la majorité des patients diabétiques sont de type II, soit 75%. Cinq (05) patients diabétiques de type I représentant 25% de la totalité des patients (Figure 6).

Dans notre étude, le diabète de type II apparaît comme facteur prédictif de risque podologique élevé, en comparaison avec le diabète de type I.

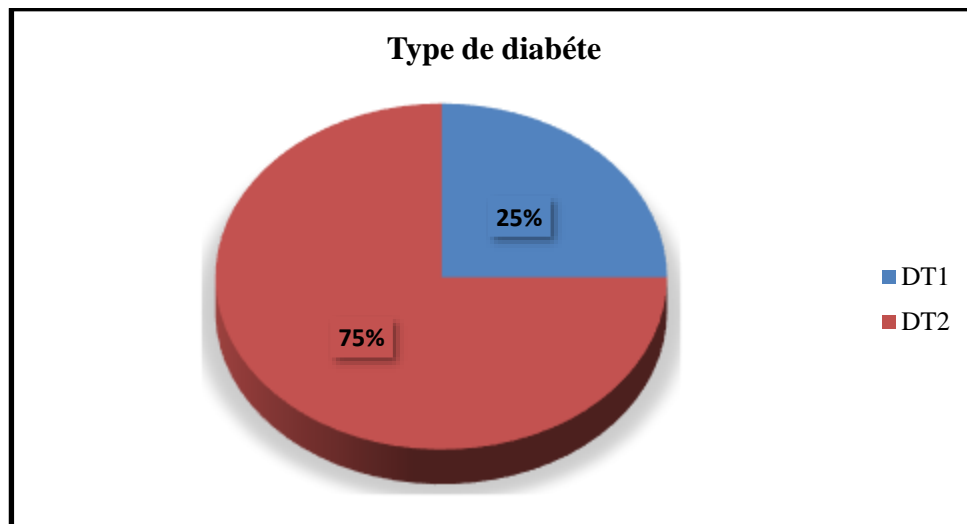


Figure 6 : Répartition des prélèvements selon le type de diabète

D'après les travaux de **Mayfield *et al.*, (1998)** Ce résultat pourrait être corrélé avec l'auto examen des pieds et les soins podologiques qui seraient plus fréquents chez les patients diabétiques de type I. Et aussi se dernier apparaît en moyenne plus tôt que le diabète de type II, et nécessite un contrôle optimal et un suivi régulier.

Et l'**OMS, 2013**, explique cette croissance par une modification du mode de vie qui s'accompagne d'une majoration du surpoids, de l'obésité de la population, ainsi que d'une forte croissance démographique dans les pays en voie de développement.

II.1.2 Répartition des prélèvements selon le sexe

La majorité de nos patients est de sexe masculin, soit 70 %. Alors que les femmes représentaient 30 % (07patientes) avec un sexe ratio H/F de 3,2. (**figure 7**)

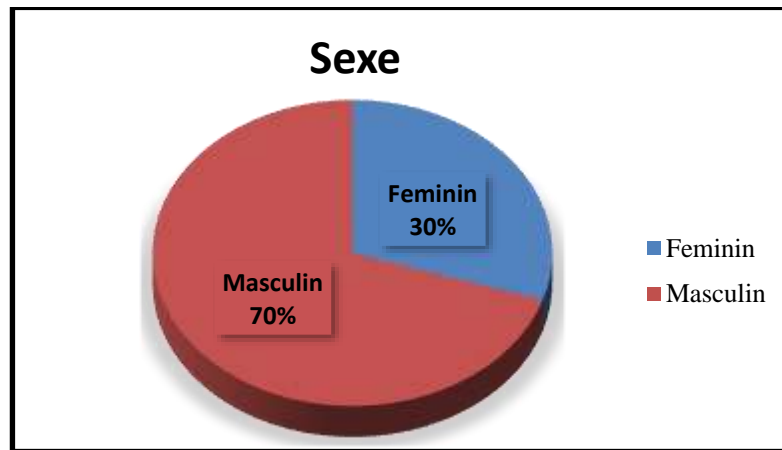


Figure 7 : Répartition des prélèvements selon le sexe

Nos résultats sont comparables à ceux de **Ftouhi et al., (2007)**, mais différents de ceux rapportés par **Samake, (2005)** qui ont rapporté 63% et en faveur des femmes.

Selon **Jacques, (2015)** Cette prédominance masculine peut être expliquée par les facteurs déclenchant une infection du pied diabétique les plus fréquents sont : des chaussures inadaptées aux déformations du pied, une hyperpression répétitive lors de la marche, des ongles blessants, la présence de corps étrangers dans la chaussure, des soins inadaptés, la marche pieds nus.

II.1.3 L'âge en fonction du sexe

L'âge moyen de nos patients était de 59,25ans. La répartition des malades, représentée par la figure 8, montre une prédominance Masculine concernant la classe d'âge [55-67[ans, et cette classe d'âge correspond à 60 % de la population étudiée, dont 75% sont des hommes. (**Figure 8**)

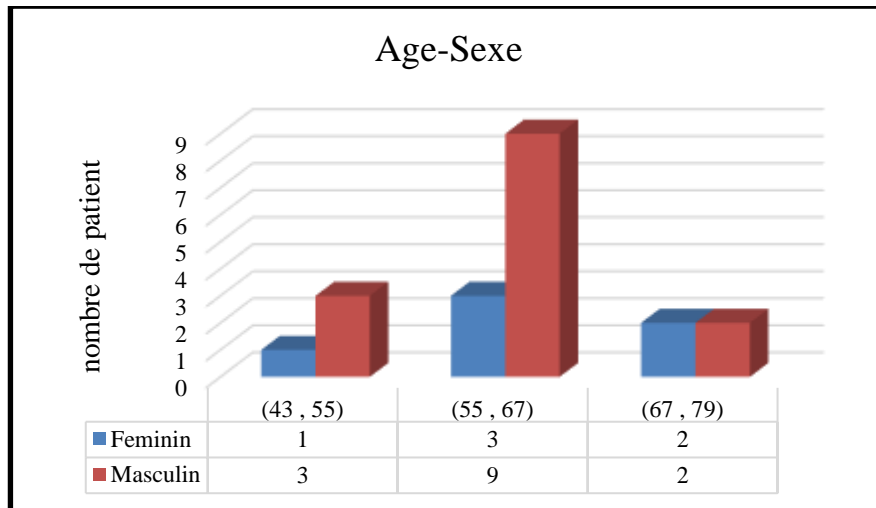


Figure 8: Répartitions des prélèvements selon le sexe et la tranche d'âge

Nos résultats sont conformes aux données de la littérature et Selon **Mayfield et coll., (1998)** plus le patient est âgé, plus la probabilité d'avoir un risque podologique est importante.

Ce résultat pourrait s'expliquer par la faite que cette tranche d'âge correspond à l'âge d'apparition des complications chroniques (artériopathie et neuropathie) du diabète. **Vishwanathan et al., (2002)**, montrent que les personnes âgées vivant avec le diabète pour une longue période sont plus susceptibles à développer un ulcère du pied.

Résultats des analyses bactériologiques

Entre le 18 février et le 23 juin, une totalité de 150 souches bactériennes ont été isolées, soit 84 souches responsables d'infection du pied diabétique (IPD), 41 à partir de la cavité nasale et 25 souches de l'environnement hospitalier (surfaces) de l'hôpital Mohammed Boudiaf et de la maison de diabète Ouargla.

II.2.1. Isolement et identifications des staphylocoques

II.2.1.1. Caractéristiques phénotypiques des souches

a. Aspect macroscopique

Sur le milieu de Chapman, la plupart des souches de *Staphylococcus aureus* fermentent le mannitol et font virer le milieu du rouge au jaune orangé.

Les colonies de *S. aureus* apparaissent souvent pigmentées et entourées d'une aréole jaune, Ces colonies sont arrondies à bords réguliers de 1 à 2 mm de diamètre après 24 heures d'incubation à 37°C (**Photo 01**).

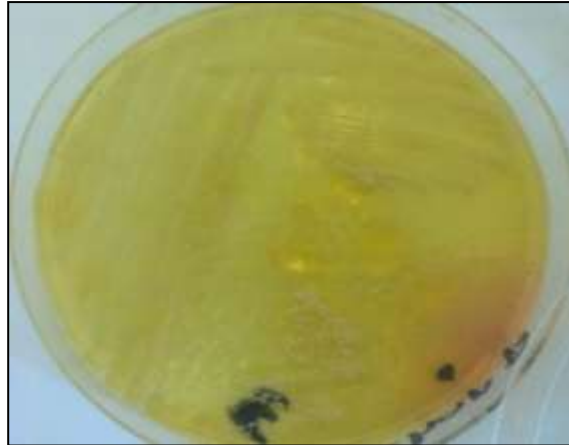


Photo 1: Aspect des colonies mannitol (+) sur milieu Chapman.

b. Aspect microscopique

Après une coloration de Gram, l'aspect microscopique des souches a révélé une forme des cocci à Gram positif, Sur les cultures en milieu solide, ils se disposent en amas irréguliers polyédriques, évoquant l'aspect caractéristique de "grappes de raisin" (**Photo 02**).

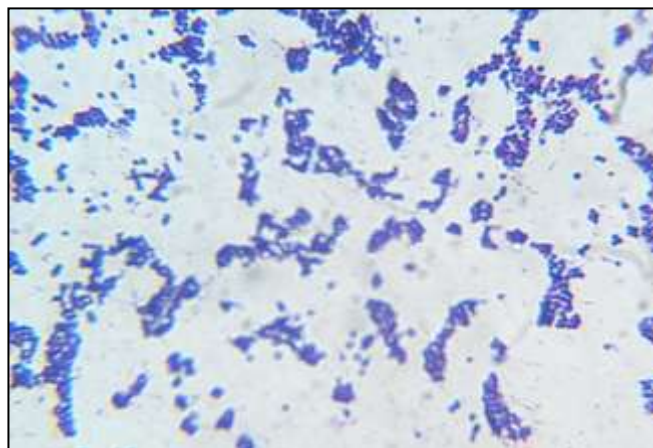


Photo 2: Cocci Gram positif (Staphylocoques)

c. Test de catalase

La présence de catalase est marquée par la formation immédiate des bulles gazeux de O₂ (*S. aureus* a une catalase) (**photo 03-B**).

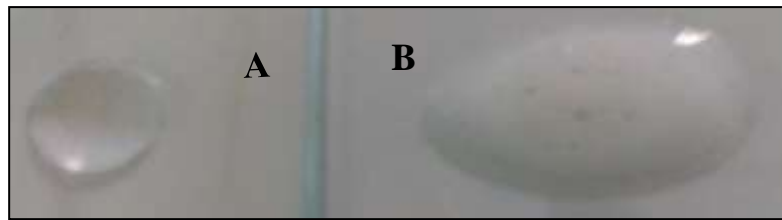


Photo 3: Test de catalase négative (A) et positive (B).

d. Test de la coagulase libre

La présence de la coagulase est marquée par l'apparition d'un caillot qui est observée en inclinant le tube à 90°C. Un caillot moins compact, visible avant la 24^{ème} heure doit être considéré comme positif, car il peut être suivi de redissolution provoquée par la fibrinolyse entraînant une fausse réaction négative.

Coagulation du plasma => Coagulase positif => *Staphylococcus aureus* (**photo 04-A**).

Pas de coagulation du plasma => Coagulase négatif (**photo 04-B**).

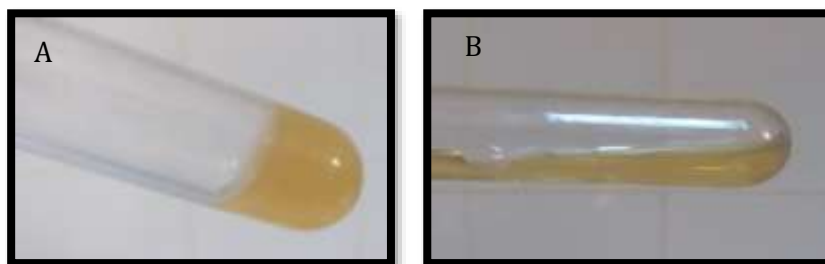


Photo 4: Coagulase positif (A) et négatif (B).

Parmi les 33 souches de staphylocoques isolées des pieds infectés, des cavités nasales et de l'environnement, seules 14 souches présentent une coagulase positive.

II.2.2. Isolement et identification des streptocoques

a. Aspect macroscopique

Sur le milieu Gélose au sang frais (GSF) Les colonies des streptocoques sont de taille variable selon les espèces (0,5 à 3 mm) : ex. colonies fines et blanchâtres pour *S. pyogenes*, plus grosses et plus grises pour *S. agalactiae*, grises, plates et à bord abrupt ou bien muqueuses pour

S. pneumoniae ;

Les colonies peuvent être entourées d'une zone d'hémolyse de type β (ex. groupes A, B, C, G) ou bien α (ex. streptocoques oraux dont *S. pneumoniae*) ou s'avérer non-hémolytiques ; **(photo 05)**.

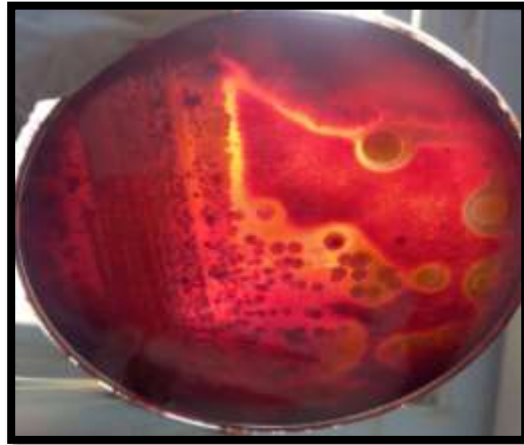


Photo 5: Aspect des colonies β hémolytiques sur milieu Gélose au sang frais

Aspect microscopique

Le Streptococcus est un coccus Gram positif, sphérique disposé en paire et/ou en chaînettes **(photo 06)**.

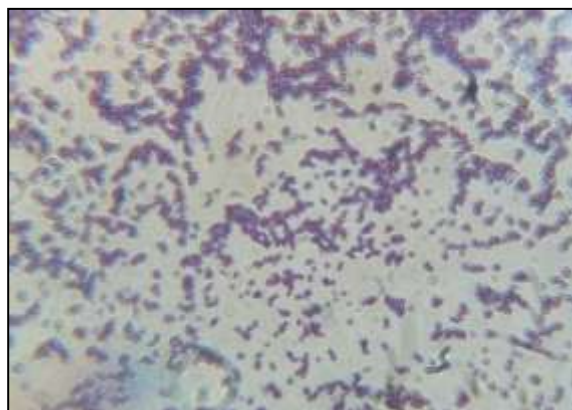


Photo 6: Aspect microscopique des Streptocoques après la coloration de Gram.

II.2.3. Isolement et identification des entérocoques**a. Aspect macroscopique**

L'isolement des entérocoques sur le milieu BEA montre des petites colonies translucides entourées d'un halo noir (**photo 07**).

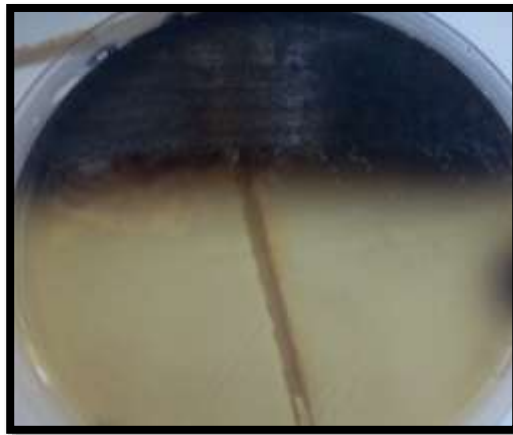


Photo 7: l'aspect macroscopique des colonies sur le milieu BEA

b. Aspect microscopique

L'aspect microscopique des entérocoques après la coloration de Gram a révélé des formes cellulaires en cocci, disposées en paire (diplocoques) ou en courtes chainettes de couleur violette (**photo 08**). Par conséquent, ce sont des bactéries à Gram positif.

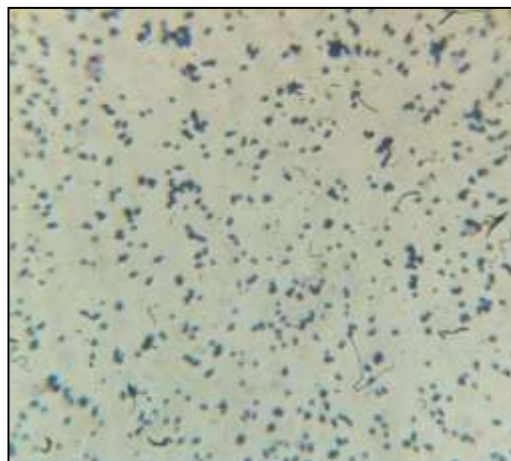


Photo 8: L'aspect microscopique des entérocoques après la coloration de Gram.

I.2.3. Isolement et identification des bacilles à Gram négatif**A. Aspect des colonies**

Sur le milieu Mac conkey, les bacilles Gram négatif se présentent en colonies rose ou rouge grâce à la fermentation de lactose (Lactose +) (**Photo 09**).

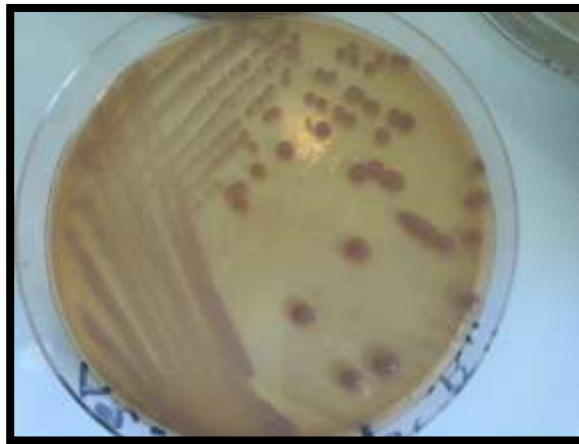


Photo 9: Aspects des Colonies lactose (+).

B. Coloration de Gram

La coloration de Gram des souches isolées sur milieu Mac conkey nous a permis d'observer la forme et le Gram de ses bactéries qui apparaissent en bacilles ou coccobacilles de Gram négatif (**Photo 10**).

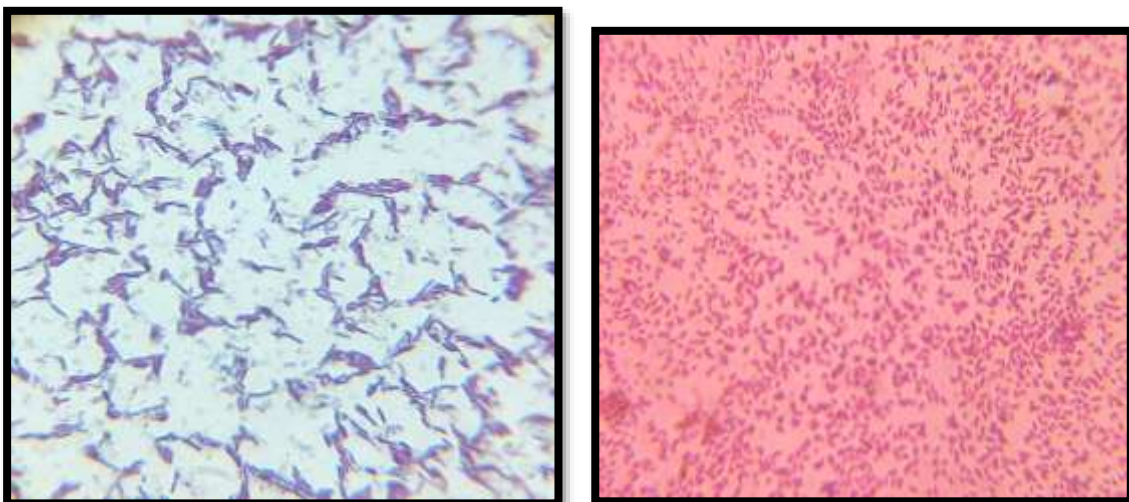
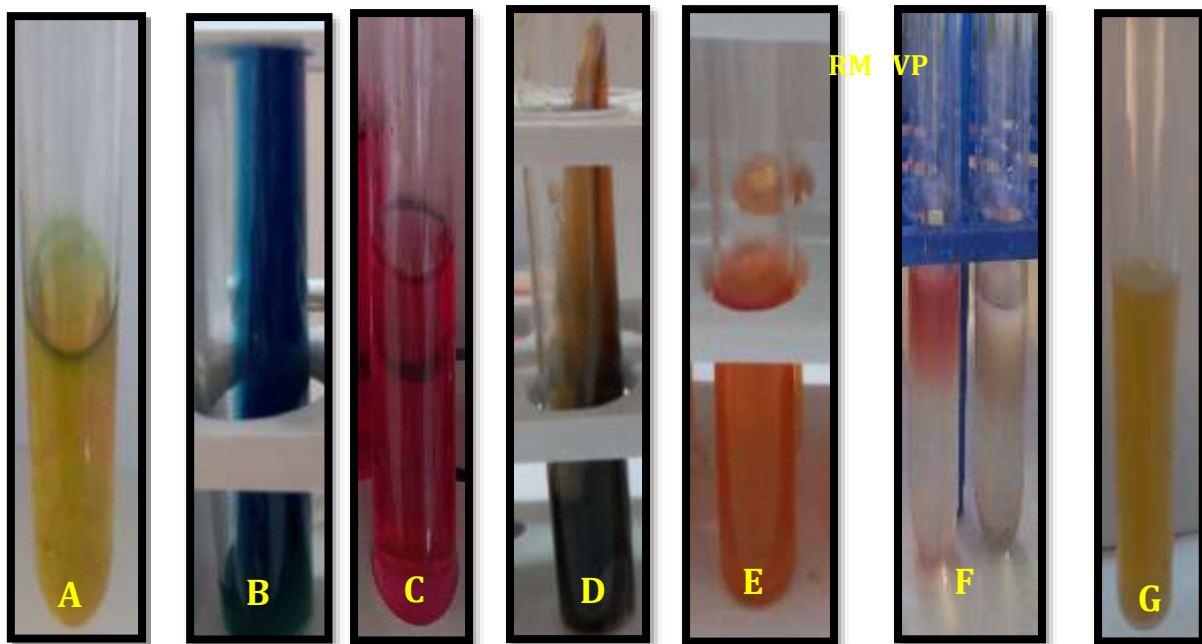


Photo 10: L'aspect microscopique des bacilles Gram négatif

C. Identification biochimique par la galerie classique

Le teste IMViC : I :test d'indole, M : rouge de méthyl, V : test de Voges Proskauer, C : test de citrate +H₂S. Ces 4 tests constituent peut-être les tests les plus citriques utilisés pour l'identification les entérobactéries, après la coloration de gram, d'autre tests ont également été utilisés comme le test de TSI et le test de mannitol mobilité. Les résultats sont montrés dans la (Photo 11) et le (Tableau VI).

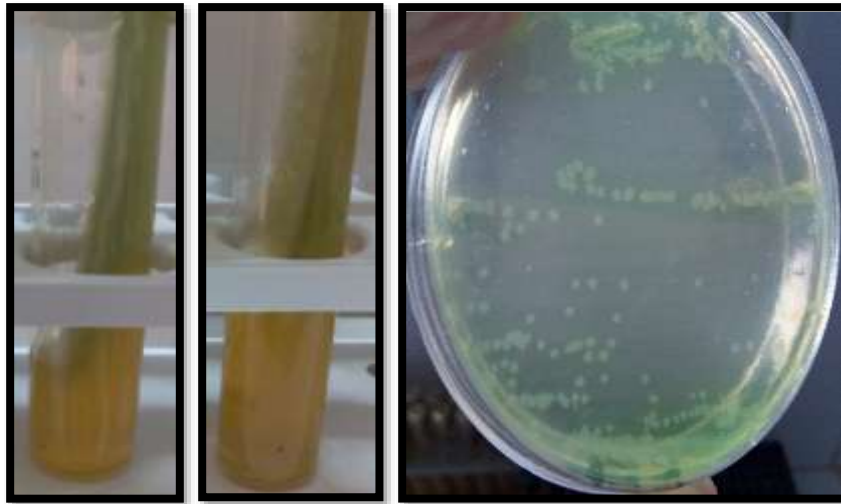


A. Indole +, B. Citrate de Simmons, C. Urée indole, D.TSI, E. Mannitol mobilité, F. Clarck et lubs, G. Viande foie

Photo 11: Testes biochimiques classiques

Les deux milieux King A, et King B ont été utilisé pour l'identification des espèces de *Pseudomonas* (Photo 12 A et B).

Après l'apparition du genre *pseudomonas*, on fait une 2ème culture sur le milieu gélose cétrémide qui est un milieu sélectif, qui permet l'isolement des *Pseudomonas* et notamment de *P. aeruginosa*. Ce milieu, proche du milieu King A (présence des Colonies bleu-vert sur la gélose) (Photo 12 C).



A : King B

B : King A

C : Gélose Au Cétrémide

Photo 12: Résultat de l'identification de *pseudomonas aeruginosa* (A, B, C)

Tableau IV : Résultats des tests biochimiques classiques (identification des BGN)

S	Glu	Lac	H2S	Gaz	Mob	Man	CS	IND	TDA	Uré	RM	VP	KA	KB	Souche
S1	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
S2	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	<i>E. coli</i>
S3	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	<i>Proteus mirabilis</i>
S4	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	<i>Proteus vulgaris</i>
S5	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
S6	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	<i>Citrobacterspp</i>
S7	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	<i>E. coli</i>
S8	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
S9	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
S10	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	<i>Citrobacter spp</i>
S11	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
S12	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	<i>Proteus vulgaris</i>
S13	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	<i>Proteus mirabilis</i>
S14	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	<i>E. coli</i>
S15	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	<i>Citrobacter spp</i>
S16	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
S17	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	<i>E. coli</i>
S18	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	<i>Enterobacterspp</i>
S19	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
S20	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	<i>Enterobacterspp</i>
S21	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	<i>Proteus mirabilis</i>
S22	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	<i>Proteus vulgaris</i>
S23	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	<i>Citrobacter spp</i>
S24	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	<i>Enterobacterspp</i>

C.1. Milieu TSI (Triple Sugar Iron) :

Ce milieu de culture, proposé par Hajna (1945), est principalement utilisé pour la caractérisation biochimique des entérobactéries. C'est un milieu différentiel par la capacité à mettre en évidence les fermentations du : glucose, lactose et/ou saccharose ainsi que la production d'hydrogène sulfuré (H2S) et de gaz. Le rouge de phénol est l'indicateur colorant

virant du rouge au jaune pour un résultat positif. Le noircissement du culot indique la présence de H₂S.

C.2. Milieu mannitol-mobilité :

Ce milieu permet de rechercher simultanément la mobilité, et l'utilisation du mannitol.

- a. Le test mannitol : Le mannitol est un dérivé de réduction du mannose. La réduction des oses simples peut se faire sur les fonctions aldéhyde ou cétone : on obtient alors des polyalcools que l'on désigne avec le suffixe -itol. Ce polyalcool peut être fermenté par la bactérie avec libération de produits acides qui font virer l'indicateur de pH du rouge en milieu basique au jaune en milieu acide. Donc : bactérie mannitol (+).

- b. Le test de mobilité bactérienne : Si la bactérie est immobile, on observe des colonies au lieu de l'ensemencement, par contre si la bactérie est mobile on observe une répartition des colonies dans le milieu.

C.3. Le milieu RM-VP : (bouillon Clark et Lubs)

Ce milieu permet de rechercher les voies fermentaires des entérobactéries et de différencier la fermentation des acides mixtes et la fermentation butanediolique chez les entérobactéries.

- a. Test du rouge de méthyle (test RM) : C'est une réaction utilisée pour mettre en évidence la voie fermentative des acides mixtes lors de l'identification des entérobactéries. La fermentation du glucose par les entérobactéries produit de l'acide pyruvique, puis des acides organiques. Ces acides font virer le RM au rouge et dans le cas contraire, il vire au jaune.

- b. Réaction de Voges-Proskauer (test VP) : C'est une réaction utilisée pour mettre en évidence la voie fermentaire du butane – 2, 3 – diol lors de l'identification biochimique des entérobactéries, cette réaction permet de mettre en évidence l'acétoïne ou (3 – hydroxybutanone), parce que Le butane – 2, 3 – diol ne peut pas être mis en évidence.

C.4. L'utilisation du Citrate de Sodium :

Certaines entérobactéries sont capables d'assimiler le citrate de Sodium comme seule source de Carbone et d'énergie et la recherche de cette propriété se fait avec le milieu de Simmons au Citrate de Sodium. Ce milieu ne contient qu'une seule source de carbone ; le citrate. Les bactéries possédant l'enzyme citratase sont capables de se développer sur ce milieu. La bactérie qui utilise le citrate, elle alcalinise le milieu, ce qui fait virer le bleu de bromothymol du vert au bleu en milieu basique.

C.5. Milieu urée-indole :

Ce milieu de culture permet en 24 h de réaliser trois tests biochimiques qui permettent l'identification de germes, particulièrement les entérobactéries. Ces trois tests sont : Le test uréase, le test TDA, et le test indole.

- a. Recherche de l'uréase Les entérobactéries peuvent dégrader l'urée qui est un composé organique et qui peut servir de source d'azote unique aux bactéries possédant une uréase. En présence de cette enzyme, les bactéries uréolytiques peuvent décomposer l'urée en carbonate d'ammonium qui alcalinise le milieu, et qui fait virer l'indicateur coloré de pH (le rouge de phénol) du jaune au rouge en milieu basique.
- b. Recherche de l'indole : Certaines bactéries dégradent le tryptophane grâce à une tryptophanase en formant de l'indole, de l'acide pyruvique et de l'ammoniac. Après addition du réactif de Kovacs, Le diméthyl-amino-4-benzaldéhyde contenu dans le réactif de Kovacs réagit avec l'indole, et forme un composé coloré en rouge. L'indole peut être mis en évidence en utilisant le milieu urée-indole ou L'eau peptonée exempte d'indole ; c'est un bouillon qui ne contient pas d'indole, mais il contient du tryptophane pour que certaines entérobactéries puissent le dégrader en indole.
- c. Test TDA : Par contre certaines bactéries dégradent le tryptophane grâce à l'enzyme tryptophane désaminase (Test TDA) et ce dernier conduit à la désamination de cet acide aminé en produisant l'ammoniac et l'acide indole – 3 pyruvique. Ce dernier est révélé par l'apparition d'une couleur brune en présence de perchlore de fer.

II.2.4. Répartition de la flore bactérienne du pied diabétique selon le Gram

Les bactéries Gram positif occupent la première place avec 69% chez les

Patients du pied diabétique, alors que les pourcentages des bactéries Gram négatif isolées des patients sont 31% (**Figure 09**).

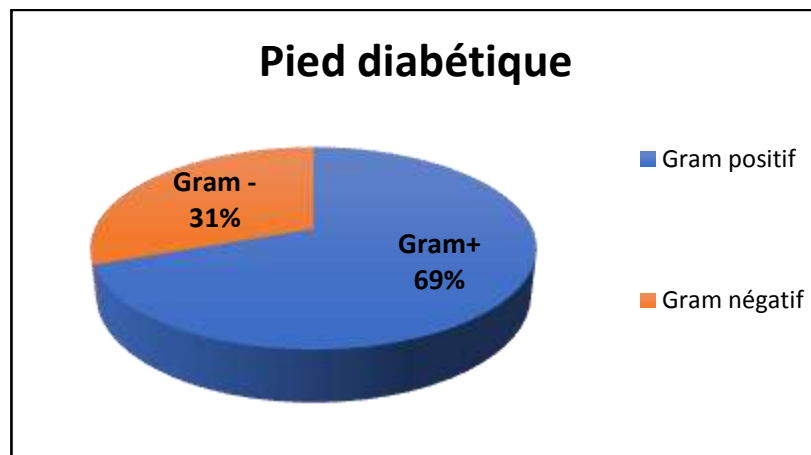


Figure 9 : Répartition des cultures bactériennes du pied diabétique selon le Gram

Selon **Vedat et al., (2013)** et **Boudina et al., (2017)**, l'infection des ulcérations du pied diabétique est fréquente, les germes pathogènes habituels les plus fréquemment retrouvés sont les bactéries gram+ , par contre pour **Priyadarshini et al., (2013)** et **Yunwen et al., (2017)** , les bacilles à Gram négatif ont été isolés plus fréquemment que les coques à Gram positif. Cette différence dans ces résultats est en fonction de la localisation géographique, des facteurs climatiques, les méthodes de prélèvement qui sont utilisés.

II.2.4.1. Répartition de la flore bactérienne du pied diabétique selon le Gram positif

La bactérie la plus fréquemment isolée parmi les bactéries Gram positif est

Staphylocoque qui représente 42% des souches isolées à partir des plaies Infectées, suivie des Streptocoques 34% et enfin les Entérocoques 24%

(**Figure 10**).

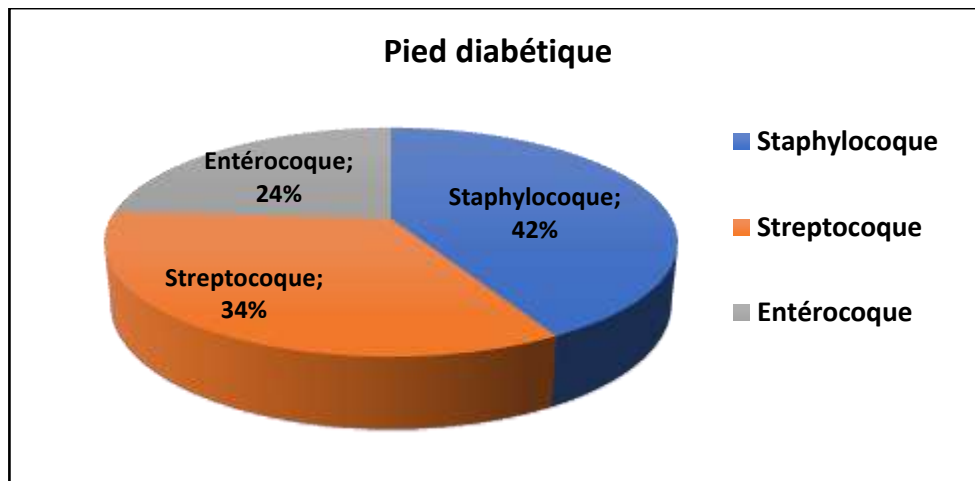


Figure 10: Répartition de la flore bactérienne du pied diabétique Gram positif

Selon l'étude de **Diane et al., (2007)** et **Mark et al., (2010)** et **Sanjith et al., (2018)** montre que Les bactéries prédominants étaient les *Staphylococcus aureus* chez les patients de plaie infecté, puis les streptocoques et enfin les Entérocoques.

Aussi Selon les travaux **Vasanthan et al., (2018)**, *S. aureus* étaient les Gram positifs les plus communément identifiés

II.2.4.2. Répartition de la flore bactérienne du pied diabétique selon le Gram négatif

Parmi les souches isolées du pus des pieds infectés, dont *proteus* est la plus prévalente constituant 40% des isolats, suivie de *citrobacter spp* et *pseudomonas spp* 20%, *E. coli* 13% et enfin *klebsiella spp* 7% (**Figure 11**).

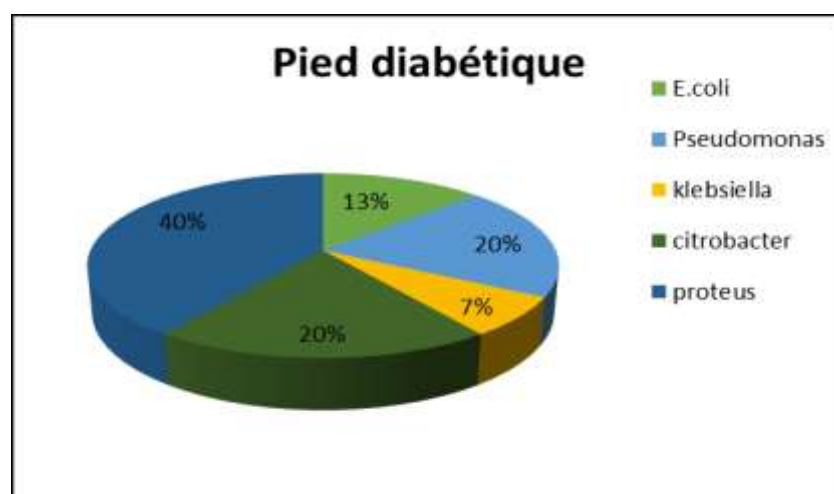


Figure 11: Répartition de la flore bactérienne du pied diabétique selon Gram négatif

Notre étude est similaire avec l'étude de **Reham et al., (2015)** ont décrit que *proteus* et *E.coli* sont les plus dominants des BGN isolées ,puis *pseudomona spp* et *citrobacter* et *Klebsiella* par contre chez les autres études de **Khalifa et al., (2011)** , **Hefni et al ., (2012)**,

Diwan et al., (2016) ont dit que *pseudomonas ssp* sont le plus fréquemment isolées,

Cet écart dans ces résultats due à la localisation géographique et les facteurs climatiques de chaque pays.

II.2.4. 3. Fréquences des isolats mono et poly microbiens

Selon notre étude la culture des prélèvements des isolats poly microbienne

Sont prédominants et représentent 82 % des isolats des pieds infectés, alors que les cultures mon microbiennes (G- ou G+) représentent 18% (**Figure 12**).

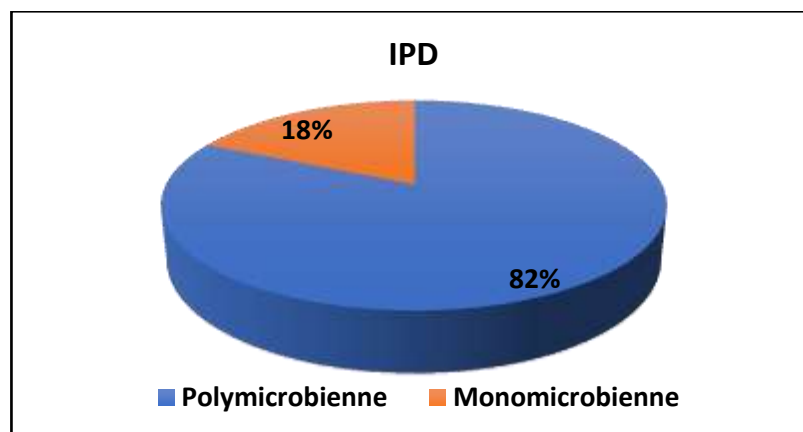


Figure 12: Fréquence des isolats mono et poly microbiens.

Ce resultat est similaire à l'étude de **Sanjith et al., (2017)** et **Alex et al., (2018)**

Notre étude a également révélé la nature polymicrobienne prédominante, D'autres de **Sughandhi et al., (2014)** ont révélé des résultats contrastés, les infections mono-microbiennes étant plus prédominantes. Ces différents résultats sont dus à la sévérité de l'infection.

La première observation clé de cette partie d'étude est que les staphylocoques étaient les bactéries les plus répandues isolées dans les différents échantillons qui étaient associée à une aggravation de la plaie et Ce résultat est conforme aux études précédentes **Dunyach-Remy et al.,(2016)**.

le microbiote du pied diabétique est influencé par plusieurs facteurs tels que les caractéristiques démographiques, l'hygiène personnelle, le degré de sévérité, le contrôle glycémique et les traitements antibiotiques en cours ou antérieurs, ainsi que par la méthode d'identification bactérienne utilisée **Jneid et al., (2017)**. Cependant, l'origine géographique du patient et la méthode d'identification bactérienne utilisée semble être l'un des facteurs les plus importants.

La deuxième observation est que la plupart des échantillons étaient polymicrobiens (88,3%). Bien que ce soit traditionnellement le cas des PDI, la plupart des études ont présenté une écologie bactérienne sans débridement, y compris des bactéries commensales et pathogènes. Cependant, même après le débridement, il restait difficile d'évaluer le rôle de ces bactéries et, en particulier, de distinguer les bactéries pathogènes des bactéries commensales qui sont responsable de la chronicité de l'infection et du maintien du biofilm pathogène (**Dowd et al., 2008**).

Et aussi les infections d'une plaie récente (moins de 15 jours), superficielles sont le plus souvent d'origine mono-microbienne ou cocci à Gram positif aérobies (CGPa), et les plaies plus chroniques, ayant déjà fait l'objet d'antibiothérapies sont plus volontiers d'origine polymicrobienne (**IWGDF., 2015**).

II.2.5. Répartition de la flore bactérienne de la cavité nasale selon le Gram

Les bactéries gram positif supportent la grande surface de 89% chez les patients, par rapport le pourcentage des bactéries de gram négatif isolée des patients (11%) (**Figure 13**).

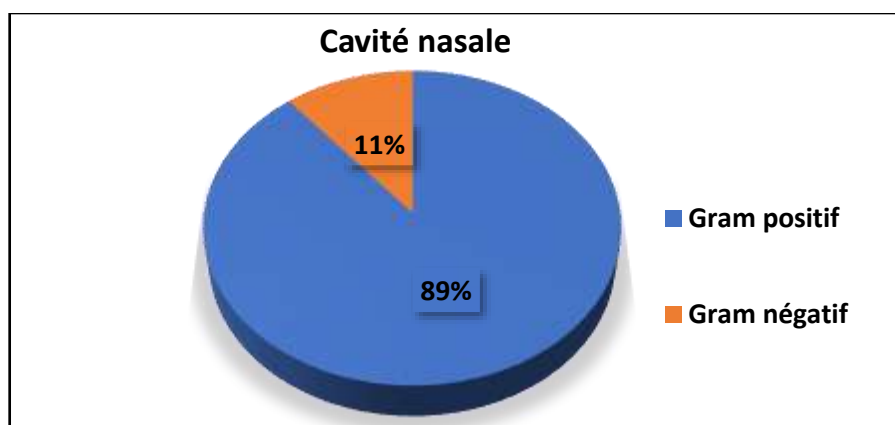


Figure 13: Répartition des cultures bactériennes du cavité nasale selon le Gram

La prédominance des bactéries Gram positif de la cavité nasale a aussi été signalé par **Esra et al., (2010)** et **Hassan et al., (2011)**, ce résultat explique que les bactéries gram positif sont des bactéries commensales du cavité nasale mais les bactéries à Gram négatif sont responsables d'infections du nez.

Certains sujets sont porteurs de *Staphylococcus aureus* au niveau des fosses nasales (un tiers des individus). (**Fraperie et al., 2016**).

D'autres études montrent que les porteurs asymptomatiques de *S. aureus* sont relativement fréquents, entre 20 et 40 % des adultes, sont colonisés à un moment quelconque au cours de leur vie (**Bowman et al., 2011**).

II.2.5.1. Répartition de la flore bactérienne de la cavité nasale selon le Gram positif

Selon notre étude, On retrouve La bactérie la plus fréquemment isolée parmi les bactéries Gram positif est Staphylocoque qui représente 40% des souches isolées à partir du cavité nasale, suivie par les Streptocoques 39% et enfin les Entérocoques 21%. (**Figure 14**).

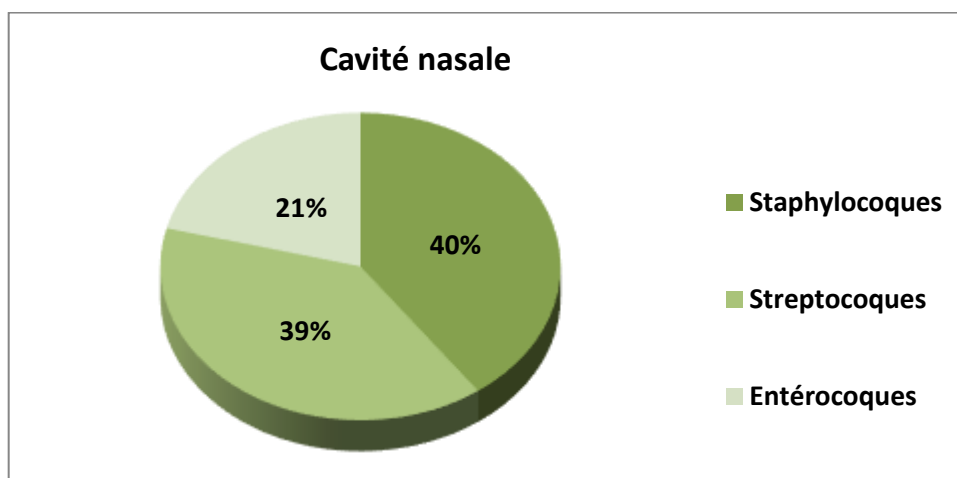


Figure 14 : Répartition de la flore bactérienne du cavité nasale Gram positif

La prédominance de staphylocoque a montré que le portage nasal d'espèce *S. aureus* est un facteur de risque d'infection pathogène. Selon l'étude **Haraga et al., (2008)** et **Karina et al., (2010)**, les Staphylocoques étaient l'espèce la plus fréquente, suivi de streptocoque puis entérocoque, mais chez **Srwa et al., (2014)**, ont retrouvé que les streptocoques sont le plus fréquemment, suivis par les staphylocoques, cette différence a traversé de variabilité des échantillons prélevés et selon les techniques de prélèvement.

II.2.5.2. Répartition de la flore bactérienne de la cavité nasale selon le Gram négatif

Parmi les souches isolées de la cavité nasale, dont *proteus* est la plus prévalente constituant 40% des isolats, suivie de *E. coli* 25%, puis *citrobacter spp* 20% et enfin *pseudomonas spp* 15%. (Figure 15).

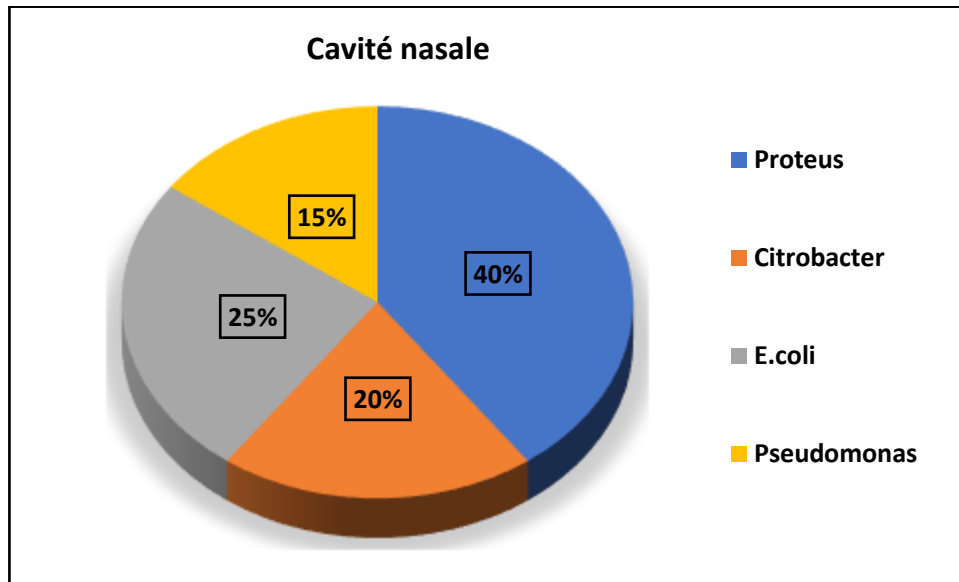


Figure 15: Répartition de la flore bactérienne de la cavité nasale Selon Gram négatif

Selon *Shreya et al., (2017)*, la bactéries le plus dominante *Pseudomonas spp*, suivis par *Klebsiella spp* et *Proteus*, d'autre étude de *Ghebremedhin et al., (2012)*, la bactérie le plus fréquemment est *Klebsiella* puis *Escherichia coli*, et *Pseudomonas aeruginosa*. Cette différence due à la localisation géographique de chaque pays .

II.2.6. Répartition de la flore bactérienne de l'environnement hospitalier selon le Gram

Les bactéries de gram positif occupent le grand espace de pourcentage dans l'environnement hospitalier de 71% et le pourcentage des bactéries gram négatif sont 29%. (Figure 16)

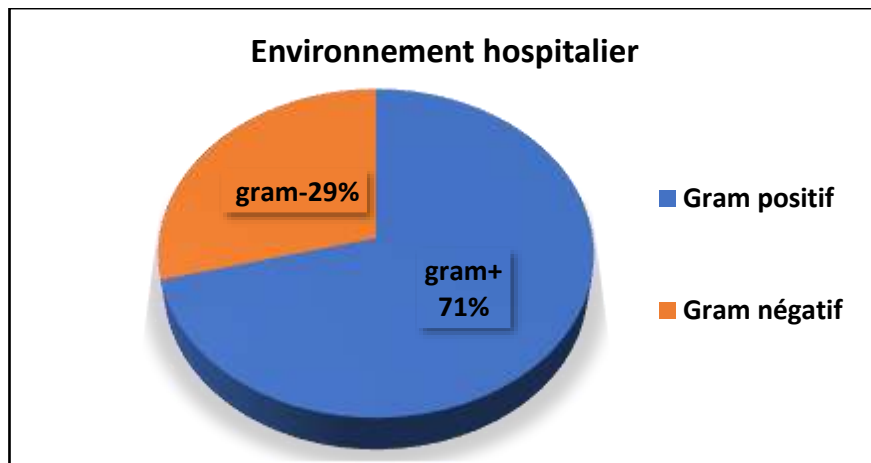


Figure 16: Répartition des cultures bactériennes de l'environnement hospitalier selon le Gram

D'autre étude de **Margarita *et al.*, (2012)** et **Atef *et al.*, (2008)** ont écrit que les bactéries de gram négatif sont le plus fréquent par rapport à des gram positif.

II.2.6.1. Répartition de la flore bactérienne de l'environnement hospitalier selon le Gram positif

La bactérie la plus fréquemment isolée des bactéries Gram positif est Staphylocoque qui représente 49% des souches isolées à partir de l'environnement suivie des Streptocoques (36%) et enfin les Entérocoques (15%). (**Figure 17**)

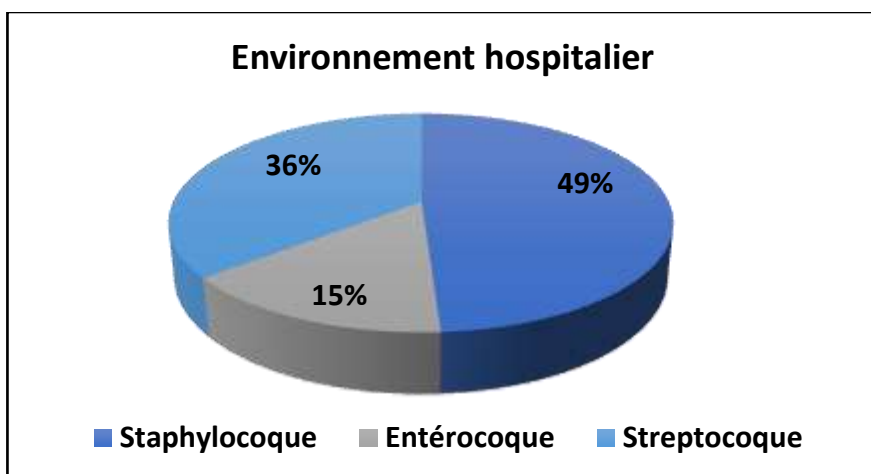


Figure 17 : Répartition de la flore bactérienne de l'environnement hospitalier Gram positif

Les résultats bactériologiques placent les Staphylocoques en tête des germes.

Colonisant l'environnement hospitalier. *S. aureus*, peut adhérer à des polymères inerts sans

interaction intermédiaire avec des molécules de l'hôte (Maira-Litran *et al.*, 2002).

Ce qui peut expliquer la prédominance. Une molécule de polysaccharide capsulaire, appelé polysaccharide adhésine, semble influencer sur l'attachement à la surface nue. Lorsque la surface est recouverte d'une couche de protéines, *S aureus* interagit avec lui grâce à des molécules de surface différentes (Vuong *et al.*, 2000).

Les microorganismes en cause proviennent de la flore cutanée du patient, ou de la microflore exogène du personnel hospitalier, ou encore d'environnement contaminé.

II.2.6.2. Répartition de la flore bactérienne de l'environnement hospitalier selon le Gram négatif

Au niveau de l'environnement, *Pseudomonas spp* représente 50%, des souches isolées et le pourcentage de *E. coli* est 33% et enfin *Enterobacter* 17% de la totalité des souches isolées (Figure 18)

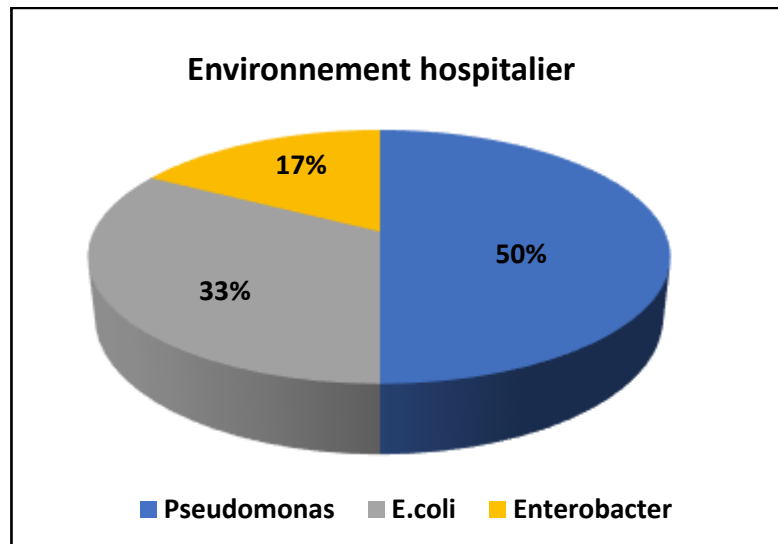


Figure 18: Répartition de la flore bactérienne de l'environnement hospitalier selon Gram négatif

L'étude de Roula *et al.*, (2018) est similaire avec notre étude ou pseudomonas est le germe le plus répandu dans l'environnement hospitalier .

Une autre étude de **Farzaneh et al., (2016)** ont écrit que l'espèce majoritaire des bactéries présentent dans l'environnement hospitalier est Acinetobacter.

Cette différence de résultat due à l'hygiène personnelle et selon la localisation géographique et aussi de divers sites d'échantillonnage, ont indiqué que les surfaces de l'hôpital constituaient des sources potentiellement exogènes d'infection nosocomiale.

II.3. La répartition de la flore bactérienne dans les trois endroits étudiés

Tableau V:montre la prévalence des bactéries les plus fréquent dans les trois endroits

Germe Habitat bactérienne	Staphylocoques	Streptocoques	Entérocoques	BGN Fermentaire <i>(Proteus, Klebsiella Citrobacter, E. coli , Enterobacter)</i>	BGN Non Fermentaire <i>(Pseudomonas)</i>
Cavité nasale	35,6%	34,71%	18,69%	9,68%	12%
Environnement Hospitalier	34,79%	25,56%	10,65%	14,5%	14,5%
Pied diabétique Infecté	28,98%	23,46%	16,56%	24,8%	6,8%

Notre étude confirme la similarité de pourcentage de germe entre les trois endroits étudiés, Où nous obtenons que les staphylocoques occupent la première espace de (35,6%, 34,79%, 28,98%) dans les trois endroits successivement (cavité nasale, environnement, pied diabétique). Et les streptocoques qui représentent (34,71%,25,56%,23,46%), les entérocoques de pourcentage (18,69% ,10,65%,16,56%). Aussi on retrouve les bacilles Gram négatifs fermentaires tels que : *Proteus, Klebsiella, citrobacter, E. coli,* et *Enterobacter* de fréquence convergente (9,68%, 14,5%,24,8%) chez les trois endroits étudiés.

Mais les bacilles Gram négatifs non fermentaires présentent des résultats clairsemés

dans les différents endroits étudiés, ou cela l'espèce *Pseudomonas* représente la majorité de cas (14,5%,12% et 6,8%).

Pour les bactéries à Gram positifs et Selon **levy et al., (2013)**, les staphylocoques comme *Staphylococcus Aureus* est l'agent pathogène le plus fréquemment rencontré dans les infections en milieu hospitalier et montre que ce germe peut adhérer à des polymères inertes sans interaction intermédiaire avec des molécules de l'hôte (**Maira-Litran et al., 2002**).donc La plupart de ce type bactérienne associées aux plaies chroniques, existent sous forme de communautés de biofilms . Alors l'introduction d'infections d'origine hospitalière agit comme un catalyseur pour aggraver la maladie. (**James et al., 2008**).

Aussi on retrouve que on a une similarité des résultats entre les pieds diabétiques et la cavité nasale, Ce qui explique ça Une étude a montré que les personnes ayant des lésions cutanées à *S. aureus* ont un taux du portage nasal de *S. aureus* plus élevé (**Tristan A et al., 2007**).

Les bacilles à Gram négatif soit fermentaire ou non fermentaire représentent un pourcentage important entre les trois endroit étudiée (cavité nasal, environnement, pied diabétique) et le genre *pseudomonas* est le plus répandu dans les hôpitaux avec une prédominance de *Pseudomonas aeruginosa*, Cette espèce est ubiquitaire, opportuniste très souvent décrites dans un cadre nosocomial (**Bricha et al., 2009**), et Aussi elle est responsable d'environ 9% d'infection des plaies opératoires (**Berche et al., 1998**).

II.4. Résultats de l'antibiogramme

Dans notre étude, nous avons étudié la résistance de certaines bactéries les plus fréquemment isolées. Pour vérifier leur sensibilité aux différents antibiotiques testés. (**Photo 13**)

L'antibiogramme est effectué selon la méthode classique de diffusion de l'antibiotique sur gélose à partir de disques d'antibiotiques selon les recommandations du National Committee for Clinical Laboratory Standard (NCCLS).

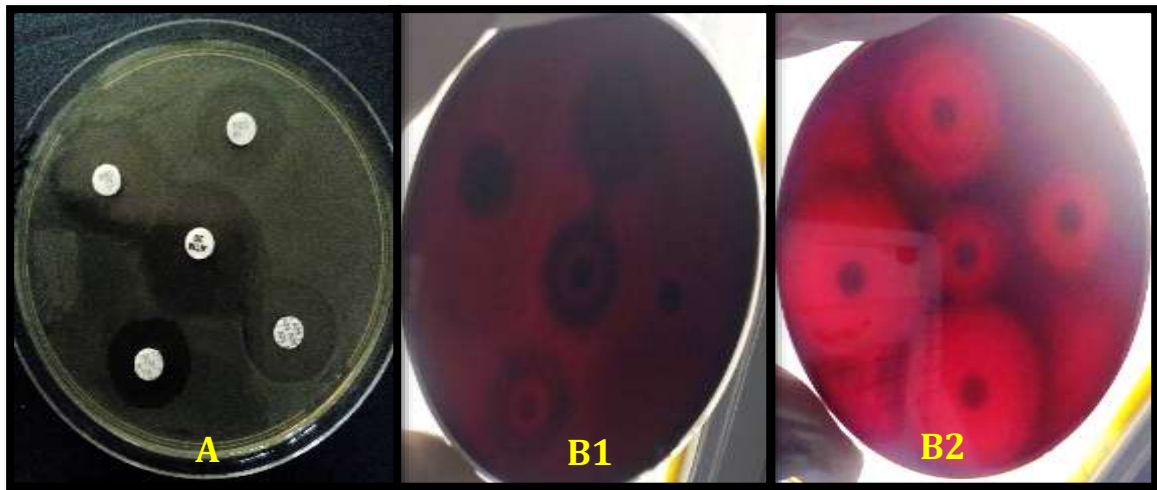


Photo 13: Antibiogramme sur milieu MH (A) et sur milieu MH additionné de sang (B1), (B2)

II.4.1 Taux de résistance des *Entérocoques* aux antibiotiques

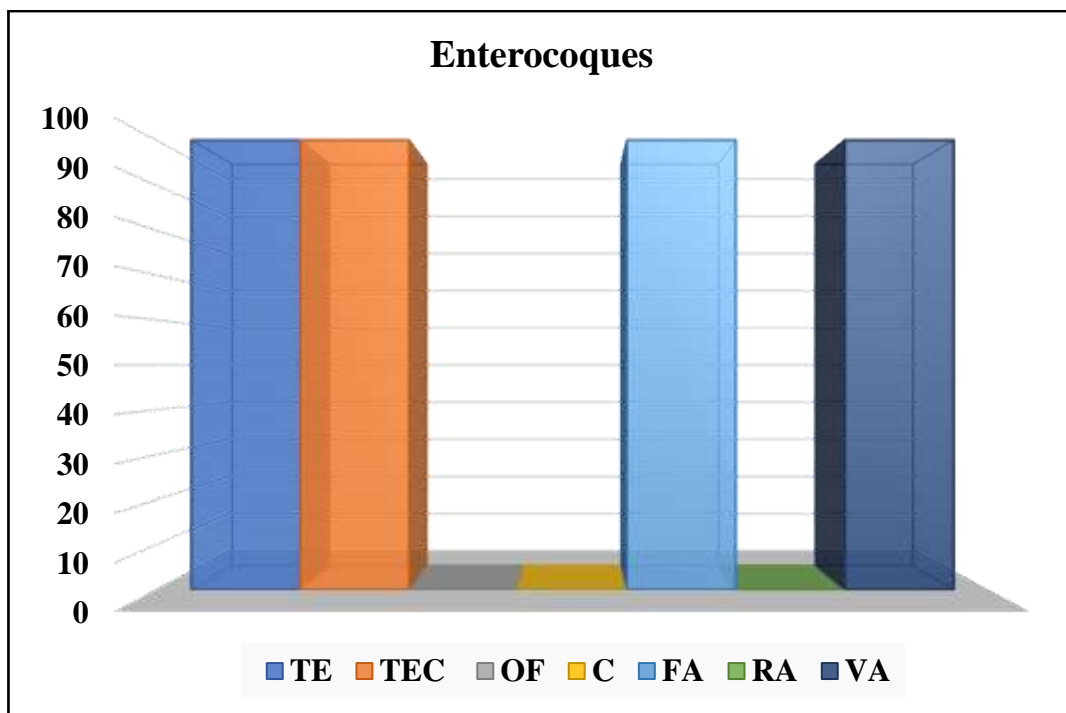


Figure 19 : Taux de résistance des entérocoques isolés des patients aux ATB

Tableau VI : Profil de résistances de *Enterococcus spp* isolées à partir de IPD aux ATB

TE	TEC	OF	C	FA	RA	VA
R	R	S	S	R	S	R

Les résultats portés sur la (Figure 19) montrent que la souche d'entérocoque isolée aux

patients présente des résistances plus importantes aux Tétracyclines (TE), les Glycopeptides Teicoplanine (TEC) et Vancomycine (VA) et aux Acide fusidique (FA).

Nous pouvons comparer nos résultats à ceux décrits ailleurs par **Medell *et al.*, (2014)** et **Djahmi *et al.*, (2012)**, qu'ils montrent la présence d'un taux de résistance à l'érythromycine et la Vancomycine par les Entérocoques isolées à partir des plaies infectées

Et aussi des souches d'entérocoques résistantes à la vancomycine (VRE) ont été décrites par **Hashem *et al.*, (2015)**.

II.4.2 Taux de résistance de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques

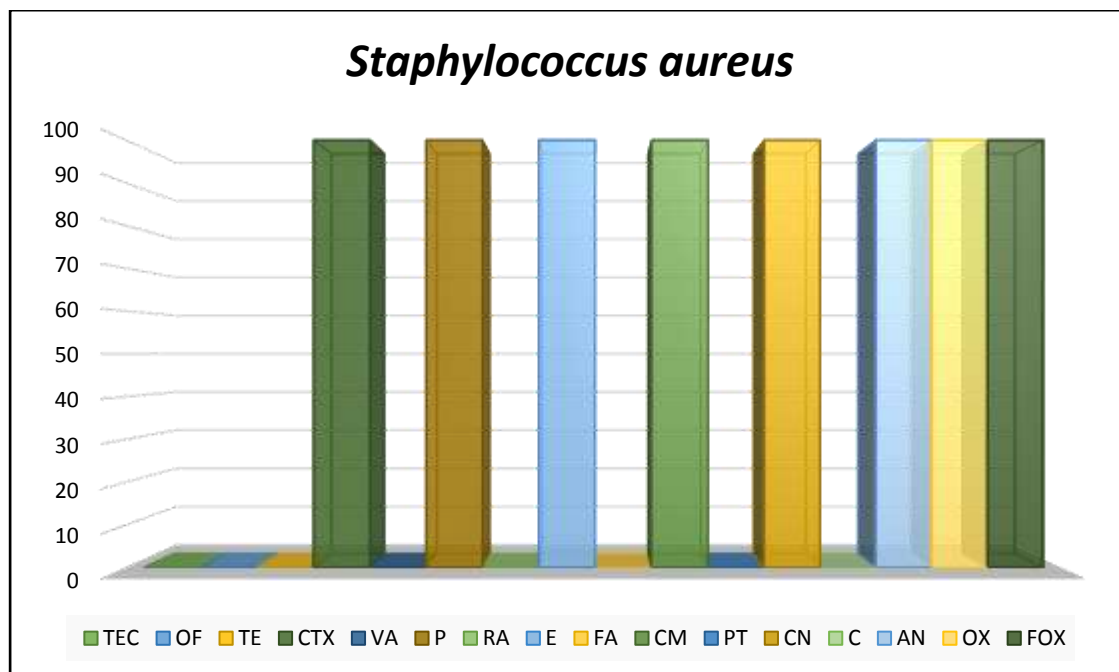


Figure 20: Taux de résistance des staphylocoques isolées des patients aux ATB

Tableau VII : Profil de résistances de *S. aureus* isolés à partir de IPD aux ATB

TEC	OF	TE	CTX	VA	P	RA	E	FA	CM	PT	CN	C	AN	OX	FOX
S	S	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	R	R

Cette souche a un taux de résistance à l'Erythromycine (E), Céfotaxime (CTX), Céfalexine (CN) Clindamycine (CM) et a l'Amikacine (AN).

En revanche les glycopéptides (TEC, VA) et les Tétracyclines, les Phénicolés et les Streptogramines (PT) présentaient une bonne activité sur notre isolat de *Staphylococcus aureus*.

Ces résultats sont approximativement proches de ceux retrouvés par **Al Benwan et al., (2012)**, **Turhan et al., (2013)** et **Jadid. (2015)**.

Aussi notre souche *S. aureus* acquière le profil de résistance SARM, une résistance élevée vis-à-vis des β -lactamines (P, OXA, FOX). Ce profil est en accord avec l'étude de **Benhamou et al., (2005)**, Mais s'oppose aux résultats de **Guira et al., (2014)** qui signalent que les souches de *S. aureus* sont sensibles à l'oxacilline.

Ceci peut être expliqué par les antécédents peu fréquents d'hospitalisation pour les lésions du pied chez leur population étudiée, condition qui augmente le risque de transmission des germes nosocomiaux multi résistants.

Et la résistance importante des souches isolées à partir des IPD aux ATB peut être due à l'usage inapproprié des ATB.

II.4.3 Taux de résistance de *Pseudomonas aerogenosae* aux antibiotiques

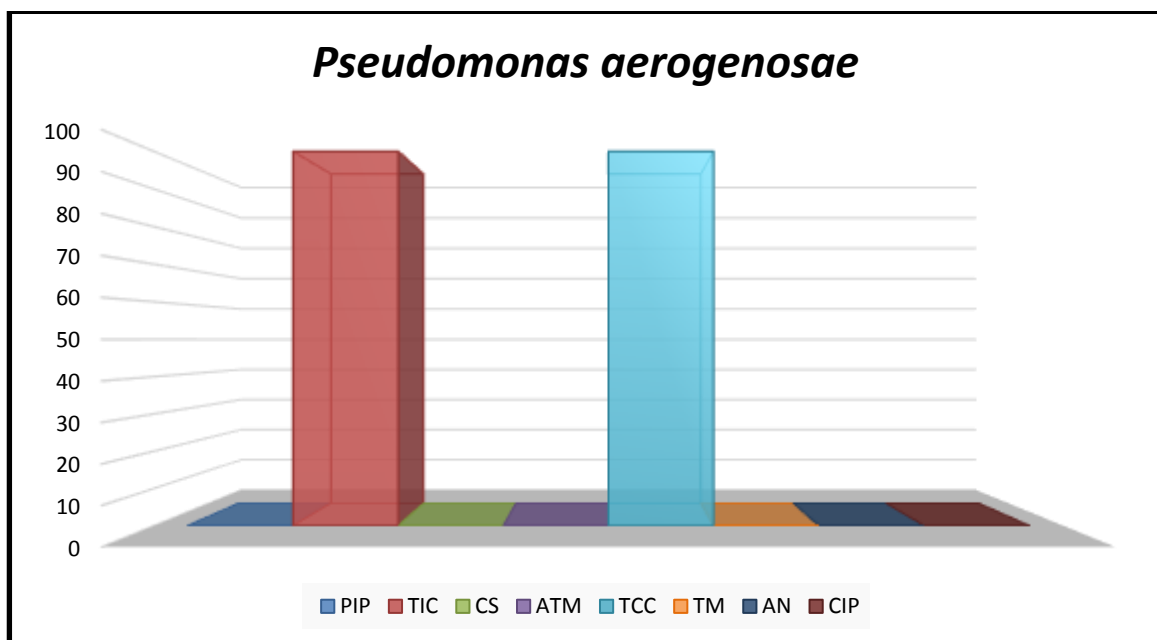


Figure 21: Taux de résistance de *Pseudomonas spp* des patients aux ATB

Tableau VIII: Profil de résistances de *Pseudomonas aerogenosae* isolés à partir de IPD aux ATB

PIP	TIC	CS	ATM	TCC	TM	AN	CIP
S	R	S	S	R	S	S	S

La souche de *Pseudomonas aerogenosae* isolées affichent un taux de résistance seulement vis-à-vis la famille de Carboxypénicillines (TCC, TIC). Mais les autres ATB testés présentaient une bonne activité sur notre isolat.

Nos résultats sont plus ou moins proche de ceux retrouvé dans les travaux de **Citron et al., (2007)**, **Al Benwan et al., (2012)**, **Jadid , (2015)**.

II.4.4 Taux de résistance de *Streptococcus spp* aux antibiotiques

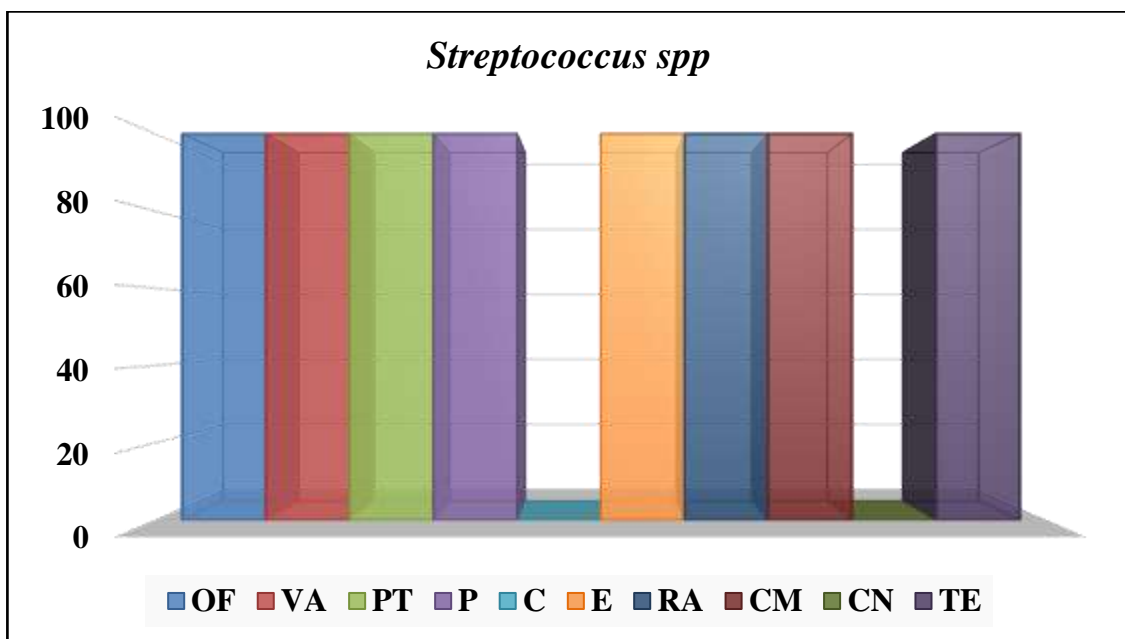


Figure 22 : taux de résistance des streptocoques des patients aux ATB.

Tableau IX : Profil de résistances de streptocoques isolés à partir de IPD aux ATB

OF	VA	PT	P	C	E	RA	CM	CN	TE
R	R	R	R	S	R	R	R	S	R

La souche *Streptocoques* isolés du pus résistent à la teicoplanine et à la vancomycine. Ils résistent aussi à l’Erythromycine, Rifampicine, Clindamycine, et à Pénicilline G et Pristinamycine (**Figure 22**).

Ces résultats sont proches de ceux rapportés par **Rugira, (2016)** où les streptococcus spp isolés étaient résistant à la plupart des antibiotiques testés, mais nos résultats sont contraires à ceux obtenus par **Labani, (2016)** qui montre la sensibilité des souches de streptocoques à la vancomycine et la teicoplanine.

| Conclusion Générale

Le diabète et ses complications sont un problème majeur de santé publique et Le « Pied diabétique » représente une complication sévère du diabète et engendre de lourdes conséquences sur le plan médical que social et économique, de par sa fréquence et sa gravité, dominées par un taux d'amputations des membres inférieurs encore très élevé essentiellement dans les pays en voie de développement. **Conclusion générale**

Les milieux de l'environnement hospitalier (air, surfaces, eau) présentent une contamination microbiologique permanente et Les infections acquises à l'hôpital, posent un problème de santé publique du fait de leur fréquence et l'émergence de bactéries multirésistantes.

La cavité nasale parmi les principaux réservoirs impliqués dans la transmission des agents pathogène le plus fréquemment isolé des infections du pied diabétique.

L'identification des agents causaux et l'étude de la résistance aux antibiotiques sont des étapes primordiales dans la prise en charge de ces infections.

Notre objectif était de vérifiée la présence de relation entre la flore bactérienne des cavités nasales et de l'environnement hospitalier des patients avec les infections des pieds diabétiques et ainsi que l'étude de leurs résistances aux certains antibiotiques

Cette étude réalisée au laboratoire de bactériologie de l'hôpital Mouhamed Boudiaf (Ouargla) pendant quatre mois environs, 50 prélèvements ont été réalisés à partir des pieds diabétiques infectés (pus) (n=20), des cavités nasales (n=20) et au niveau de quelques surface de l'environnement hospitalier (n=10).

Une totalité de 150 souches bactériennes ont été isolées, soit 84 souches responsables d'infection du pied diabétique (IPD), 41 à partir de la cavité nasale et 25 souches de l'environnement hospitalier (surfaces) au niveau de l'hôpital Mohammed Boudiaf et de la maison de diabète Ouargla.

Ces souches proviennent majoritairement des sujets diabétiques de type II, de sexe masculin (70%) et d'un âge supérieur à 67 ans.

Notre étude confirme la similarité de pourcentage de germe entre les trois endroits étudiés, Où nous obtenons que les staphylocoques occupent la première place de (35,6%, 34,79%, 28,98%) dans les trois endroits successivement (cavité nasale, environnement

hospitalier, pied diabétique). suivi par les streptocoques qui représentent, puis les entérocoques. Aussi on retrouve les bacilles Gram négatifs fermentaires tels que *Proteus*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *E. coli* et *Enterobacter* de fréquence convergente chez les trois endroits étudiés.

Mais les bacilles Gram négatifs non fermentaires présentent des résultats clairsemés dans les différents endroits étudiés.

A l'issu des résultats de la résistance aux antibiotiques des souches isolées à partir des pieds diabétiques infectés, il ressort que la souche *Staphylococcus aureus* est Méricilline résistante (SAMR) et la souche Entérocoques est Vancomycine résistantes (EVR).

Les Streptocoques isolés du pus résistent à la plupart des antibiotiques testé, par contre La souche de *Pseudomonas aerogenosa* isolées affichent un taux de résistance seulement vis-à-vis la famille de Carboxypénicillines (TCC, TIC).

En prescriptive de ce travail, il serait intéressant d'approfondir nos recherches par l'étude génétiques, pour avoir des informations plus précises, et les frottis de plaies superficielles devrait être abandonnée au profit des biopsies tissulaires. Qui apportent une valeur diagnostique satisfaisante pour guider l'antibiothérapie. Il fallait faire le suivi de portage nasal des bactéries et l'environnement au cours de la prise en charge des infections du pieds diabétique.

Et de trouver de nouvelles stratégies préventives ou curatives dans le cadre la prise en charge des infections du pied diabétique

| Références bibliographiques

l'Association Française des Diabétiques (2018). L'impact de l'âge sur le diabète d'accueil [en ligne]. Disponible sur : <<http://www.seniorsregion.fr/2018/02/01/limpact-de-lage-sur-le-diabete/>>. (10 /05/2019) Références bibliographiques

Sauvanet J.-P (2014). Le pied diabétique : conséquences économiques et sociétales ,Vol 59, N° 1HS ,pp. 36-40 .

Ekoe J, Goldenberg R, Katz P (2018).Diabetes ,Clinical Practice Guidelines for the Prevention and Management of Diabetes in Canada: Screening for Diabetes in Adults. Can J Diabetes;42(Suppl 1):S16-S19.

Boudina, H., & Haddam, A. E. M. (2017). *Profil bactériologique dans les infections du pied diabétique. Annales d'Endocrinologie, 78(4), 416–417.*

Erika F. Brutsaert, MD (2017).Diabète sucré d'accueil [en ligne]. Disponible sur : <<https://www.msmanuals.com/fr>>. (15 /05/2019)

Priyadarshini S, Jeya M, and Linda Susan (2013) . The Bacteriology of Diabetic Foot Ulcers, with a Special Reference to Multidrug Resistant Strains

Vedat T , Mesut Mutluoglu, Ali A (2013).Increasing incidence of Gram-negative organisms in bacterial agents isolated from diabetic foot ulcers

Esra Ş, Hakan Y., (2011).The aerobic bacterial flora of the nasal cavity in healthy Anatolian water buffalo calves

Hassana , Ahmad f , Manal m., (2012). Nasal swab as an alternative to bronchoscopic lavage for identification of pathogenic organisms in patients with chronic sinusitis concomitant with chronic bronchitis exacerbations

MargaritaPoza ,CarmenGayoso ,Manuel J. Gómez ,Soraya Rumbo-Feal (2012)Exploring Bacterial Diversity in Hospital Environments by GS-FLX Titanium Pyrosequencing

Atef M , Diabidriiss M . Al-Turk , mohamed K .Ibrahim et al ., (2008) Tracing of Gram-negative antibiotic-resistant bacteria in hospitals final effluent at Al-Madinah Al- Mounwwarah ,Volume 1, P 24-33

XiaoyingXie, Yunwen Bao, Lijia Ni, Dan Liu, ShaonaNiu, Haixiong Lin, ¹Hongyu Li et al., (2017).Bacterial Profile and Antibiotic Resistance in Patients with Diabetic Foot Ulcer in Guangzhou, Southern China: Focus on the Differences among Different Wagner's Grades, IDSA/IWGDF Grades, and Ulcer Types

Diane M. Citron, Ellie J. C. Goldstein, VreniMerriam C et al., (2007).Bacteriology of Moderate-to-Severe Diabetic Foot Infections and In Vitro Activity of Antimicrobial Agents

SanjithS, Manisa S, RoonamC, Edwin P, Arun B et al., (2018). Epidemiology of diabetic foot infections in a reference tertiary hospital in India ,

p401–406.

Mark A ,Benjamin L , (2010). Current Medical Management of Diabetic Foot Infections.

Vasanthan ,Vengadkrishnan K , Surendran P , (2018). Clinical Profile of Diabetic Foot Infections

RehamD , Dalia K, Amr A , (2015).Diabetic foot Infection: Microbiological Causes with Special Reference to their Antibiotic Resistance Pattern , Volume 24 ,P95-102

Hefni A, Al-MetwallyR , Ibrahim, Khaled M. Attia, et al., (2012). Bacteriological study of diabetic foot infection in Egypt

Diwan M , M. S. Moosabba , Venkatakrishna R , (2016). Prevalence of Diabetic foot ulcer infections associated with Gram negative bacteria with special reference to drug resistant isolates

Khalifa A ,AlMulla A ,Vincent O , (2011) .A study of the microbiology of diabetic foot infections in a teaching hospital in Kuwait ,Volume 5, P 1-8.

Sanjith S, Manisa, Roonam C, Edwin P, Padma Kr et al., (2017).Epidemiology of diabetic foot infections in a reference tertiary hospital in India , P 401–406

Alex A, Kalagara P, BhanudasS , (2018) Bacteriology of diabetic foot infections and their antibacterial susceptibility ,vol 6

SughandhiP., Prasanth D.A , (2014). Bacteriological profile of diabetic foot infections. Int J Innov Res Sci EngTechnol.;3:14688–14692

ekhar S.M., Vyas N., Unnikrishnan M.K., Rodrigues G.S., MukopadhyayC , (2014).Antimicrobial susceptibility pattern in diabetic foot ulcer: a pilot study. Ann Med Health Sci Res. vol (5) , P742–745.

Ohara-Nemoto Y, Haraga H, KimuraS, Nemoto T-K , (2008). Occurrence of staphylococci in the oral cavities of healthy adults and nasal–oral trafficking of the bacteria

Karina Mantovani,Andréia A, Ricardo C et al., (2010).Maxillary sinuses microbiology from patients with chronic rhinosinusitis ,vol.76

SrwaA , Abdullah W , Awat S et al., (2014). A comparative study on detecting bacterial flora of the nasal cavity in normal healthy workers that work in cement factory and the healthy Students in Koya University. Volume 9 ,PP 07-15

ShreyaD ,Ramabhadraiah A , Revathy T , Hosaagrahara S., (2017). Bacterial Profile and Antibiotic Sensitivity in Patients with Chronic Rhinosinusitis undergoing Functional Endoscopic Sinus Surgery: A Prospective Study

Ghebremedhin B Koenig W., (2012) . Comparative study of nasal bacterial carriage in pediatric patients from two different geographical regions

Maira-Litran et al., (2002).Biofilms and Veterinary Medicine

Vuong et al., (2000).Staphylococcal Biofilms

Farzaneh M, Nateghi R, Douraghi M ,Dolati M., (2018). Prevalence of Environmental Gram-negative Bacilli in the Intensive Care Units of Hospitals from the City of Qom , Volume 2, P 5-7

Roula M ,Souheil Het al., (2018). Epidemiology and microbiological profile comparison between community and hospital acquired infections: A multicenter retrospective study in Lebanon ,Vol 11, Pages 405-411.

James GA, Swogger E, R Wolcott, ED Pulcini, P Secor, J Sestrich et al., (2008) . Biofilms dans les plaies chroniques.Régénération de la réparation des plaies P37-44

Dowd SE, Sun Y, PR Secor, DD Rhoads, BM Wolcott, et al., (2008) . Étude de la diversité bactérienne dans les plaies chroniques à l'aide du pyroséquençage, du DGGE et du séquençage complet du ribosome . BMC Microbiol.

Pai S ,Vijaykumar H , Sreevathsa M , Parag D , (2012).Étude comparative d'infections d'origine communautaire et hospitalière du pied diabétique.Vol 10

D. Benhamou, A. S. Carrié, F., Lecomte., (2005) Service de Pneumologie Hôpital de Bois Guillaume, CHU de Rouen, France. Staphylococcus aureus : place et impact dans la prise en charge des pneumopathies nosocomiales

Rugira Trojan, Lovely Razdan, Nasib Singh., (2016).Profils De Susceptibilité Aux Antibiotiques D'isolats Bactériens D'échantillons De Pus Dans Un Hôpital De Soins Tertiaires Du Pendjab, Inde

Djahmi, N., Boutet-Dubois, A., Nedjai, S., Dekhil, M., Sotto, A. & Lavigne, J.-P., (2012). Molecular epidemiology of Enterococcus sp. isolated in a university hospital in Algeria. Scand J Infect Dis 44, 656–662.

Medell, M., Hart, M. & Batista, M. L., (2014).Sensibilidad antimicrobiana in vitro en aislamientos de Enterococcus faecalis y Enterococcus faecium obtenidos de pacientes hospitalizados. Biomédica 34, 50–7.

Hashem, Y. A., Yassin, A. S. & Amin, M. A., (2015). Molecular characterization of Enterococcus spp. clinical isolates from Cairo, Egypt. Indian J Med Microbiol 33 Suppl, 80–86.

Mayfield JA, Reiber GE, Sanders LJ, Janisse D, Pogach LM., (1998). Preventive Foot Care in People With Diabetes. Diabetes Care; 21(12):2161-2177.

Bacteriol J.,Joffin., et le yral., G., (2006). Microbiologie technique, Tome 1 : dictionnaire des techniques, 4eme edition CRDP d'aquitaire.

Vangelder E. Bec A. Dehecq E. Quequjay J. Houze D. Ferrant L., (2002).Evaluation du Strep B OIA®, une méthode de détection rapide du portage de streptocoque B chez la femme enceinte. Annales de Biologie clinique, Vol 60, N°2, P : 226-8.

Boulestreau Hélène, Bousseau Anne, Castel Olivier, Cavalié Laurent et al., (2016)

Surveillance microbiologique de l'environnement dans les ES – CCLIN Sud- Ouest – Guide de bonnes pratiques, pg 63.

Lipsky BA, Berendt AR, Deery HG, et al., (2004). Diagnosis and treatment of diabetic foot infection. Clin Infect Dis.; Vol 39,P:885-910.

Pellizzer G, Strazzabosco M, Presi S, et al., (2001). Deep tissue biopsy vs superficial swab culture monitoring in the microbiological assessment of limb-threatening diabetic foot infection. DiabetMed.Vol8 , P :822-7

SPILF , (2007). Recommandations pour la pratique clinique. Prise en charge du pied diabétique infecté. Texte long. Médecine et maladies infectieuses.Vol 37 , P:26-50.

Baron R , F. Borgey, Chabaud-Mayer M, Chedeville E. et al., (2007). Dépistage des patients porteurs de Staphylococcus aureus résistant à la méticilline (SARM).

LIPSKY BA., (2004). International consensus group on diagnosing and treating the infected diabetic foot. A report from the international consensus on diagnosing and treating the infected diabetic foot, Diabetes Metab. Res. Rev., Vol 20, P68-77.

Calhoun Jh., Overgaard Ka., Stevens Cm., Dowling Jp., Mader Jt., (2002). Diabetic foot ulcers and infections: current concepts, Adv. Skin Wound Care, Vol 15, P31-42.

DOW G., (2003). Bacterial swabs and the chronic wound: when, how, and what do they mean? OstomyWound Manage, Vol 49, P8-13.

Mechkour S., Ollivier Y., Cattoen C., Descamps D., Vachée A., Alfandari S., Blanckaert K., (2009). Préventions de la transmission croisée : précautions complémentaires contact. Recommandations nationales. Consensus formalisé d'experts. SFHH. Dépistage du Staphylococcus aureus résistant à la méticilline SARM.

Bacteriol J., Chpman G.H., (1945) The significance of sodium chloride in studies of staphylococci. Vol50, P:201-203.

Marchal N. et Bourdon JL., (1973). Milieux de culture et identification biochimique des bactéries. DOIN. Paris.P 99-105.

Hassan A-K . Aftab A. Riffat M., (2015).Nosocomial infections and their control strategies ,Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine ,Vol 5 , P 509-514

Abtroun Fadila, Dr. Aouiche Samir, Pr. AribiSohila, Pr. Arrar Mohamed et al., (2015).Comité D'experts En Diabétologie.

Ariane Sultan, (2018).Le Quotidien du Médecin N°9678 Société francophone dudiabète.

Barbier C , (2018).Le diabète : une urgence sanitaire à l'échelle mondiale,*éducation santé* : un mensuel au service des intervenants francophones en promotion de la santé

Disponible sur :<http://educationsante.be/article/le-diabete-une-urgence-sanitaire-a-lechelle-mondiale/>

J.-D. Nicodème E. Nicodème Paulin M. Zingg I. Uçkay S. Malacarne D. Suva(2015). *Diabetes* ,Rev Med Suisse. ; Vol 11, : P1238-41

Jean-Philippe Lavigne^{a,b}, Jean-Louis Richard^c, Albert Sottob^d. (2011),Nouvelles avancées dans les infections des plaies du pied chez le patient diabétique,revue francophone des laboratoires - juillet-août 2011 - n°434

Mandereau-bruno I, fosse-edorh s. (2015). Prévalence du diabète traité pharmacologiquement (tous types) en France. Disparités territoriales et socio-économiques.Vol(27-28),P586-91.

Organisation mondiale de la Santé (2016).Profils des pays pour le diabète.

DrouinP., blicklej.f., Charbonnelb., Eschwegee et al., (2019).Diagnostic et classification du diabète sucré les nouveaux critères.

Samia Ghernaout-Benchouk,(2013). Prevalence du portage nasal de staphylococcus aureus : son role dans l'infection du site opératoire, these pour l'obtention du doctorat en sciences médicales maladies infectieuses, universiteaboubekrbelkaid – Tlemcen.

Mathers CD, Loncar D. P LoS Med, (2006), Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030, Vol (11) , P442.**Dupeyron C (2011).**développement et santé, L'homme et les micro-organismes.

Laga M, Plummer Fa, Piot P, Datta P, Namaara W, Ndinga-Achola Jo, Nzange H,

Maitha G, Ronald Ar, Pamba Ho And BrunhamRc (1988) .Prophylaxis of gonococcal and chlamydial ophtalmia neonatorum: a comparison of silver nitrate and tetracycline. N Engl J Med; 318 : 653-57.

Jacques M., Marie L., Agnès H & Jocelyne B (2015). Médecine des maladies métaboliques, Revu de formation médicale contenue, société francophone du diabètealfediam, ELSEVIER MASSON, pp 11.

Larry M , Bush, MD , Maria T, Perez (2017) .Infections streptococciques, Le manuel merck, version pour professionnels de la santé.

Flandrois JP (2000) .Bactériologie Médicale. Coll Azay. Puf

TouretS ,Dauwalder O (2019).Microbiologie DCEM1 Faculté Lyon Sud » Minifiches bactériologie.

Santé Canada (2015).Fiche Technique Santé-Sécurité : Agents Pathogènes – Branhamellacatarrhalis.

Mary C. Bowman, David A. Wohl, Andrew H. Kaplan (2011).Infections staphylococciques section x, maladies infectieuses, pg 709.

Wertheim HFL, Melles DC, Vos MC, et al (2005).The role of nasal carriage in Staphylococcus aureus infections. Lancet Infect Dis ; 5(12) :751–762.

Samia GHERNAOUT-BENCHOUK (2013). Prévalence du portage nasal de *Staphylococcus aureus* son rôle dans l'infection du site opératoire. Thèse pour l'obtention du doctorat en sciences médicales. TLEMCEM.

Heiman F L Wertheim, Damian C Melles, Margreet C Vos, Willem van Leeuwen, Alex van Belkum, Henri A Verbrugh, Jan L Nouwen (2005).The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections, Vol 5.

Dominique G (2016). Le blog de l'ORL, dominiquegarcia.over-blog.com

GILLOT C, PIÉRON R, POLICARD A (2019). « RESPIRATOIRE (APPAREIL) - Anatomie », *Encyclopædia Universalis*.

Fraperie P, Marielle M-L (2016). Flores commensales des voies aériennes supérieures, microbiologiemedicale.fr.

Wertheim Hfl ,Melles Dc et al (2005).

Abdelkbir Kh (2014). Les marqueurs biologiques des complications du diabète sucré. Mémoire de magister en physiologie cellulaire et moléculaire. Département de biologie animale université Constantine, Algerie.p.24-28.

La lettre de L'institut Pasteur (2011). Les infections nosocomiales , n72

Auajjar N ,Saouide N , Echchelh A , Chaouch Abdelaziz , Soulaymani A (2014). Role de L'environnement hospitalier dans la prevention des infections nosocomiales: surveillance de la fore des surfaces a l'hopitalelidrissi de kenitra – Maroc , European Scientific Journal 10, No.9 Issn: 1857 – 7881 (Print) E - Issn 1857- 7431

Frédéric B (2017).Rôle d'un laboratoire de Microbiologie de l'environnement Expérience de l'hôpital Saint-Antoine , Microbiologie de l'environnement Unité d'Hygiène et de Lutte contre les Infections Nosocomiales (UHLIN) Hôpital Saint Antoine .

Ben Amar B., Hellou B., Lahici M Et Khiat A., (1998). Hygiène hospitalière ; Ed : comité nationale de formation en hygiène hospitalière, ORAN, 69 p.

HUGRARD L (2003). Hygiène et soins infirmière, 2eme Ed : LAAMARRE, France, 153p.

Vesley D, Streifel A. (1996) .Environmental service. In May- hallc. Hospital epidemiology and infection control Williams & Wilkins, Baltimore, 818-823.

REGARD A , Lyon (2012) . Classification des locaux selon le risque infectieux. CCLIN Sud-Est

Figarella J ,Leyral G. Et Terret M. (2007). Paris. Microbiologie générale et appliquée. P : 103 -104-105.

Fabien S (2017) .Analyses en microbiologie- Environnement microbien (air, surfaces, eau)

Qing Gu., Jinsong Deng., Ke Wang., Yi Lin., Jun Li., Muye Gan., Ligang Ma., Yang Hong., Int. J. Environ. Res (2014) . Public Health.,vol 11 ,6069-6084.

Vincent M (2014). Revue Francophone Des Laboratoires ,P459

DiduchM ,Polkowska Z , Namiesnik J (2016).Food Control ,P188-195.

Golberg A., Linshiz G., Kravets I., Stawski N., Hillson N J., Yarmush M L., Marks R S., Konry T., Droplet (2014) . Microfluidics for Bacteria Detection, P86341.

Pagnier I., Valles C., Raoult D., La ScolB (2015).Microbial Pathogenesis,P14-20.

EMORI TG, GAYNESRP (1993). An overview of nosocomial infection, including the role of the microbiology laboratory Clin Microbiol Rev, 6(4):428-42.

Cclin (2000).Controles Microbiologiques De L'environnement Hospitalier,Hygienes, VIII - N°3

Jd Cavallo , G. Antoniotti, N. Baffoy, S. Guignement-Coudrais, J. Hajjar, C. Horn, C. Le Gouhir, A. Le Guyader, B. Lejeune, M. Mounier, V. Salomon (2002).Surveillance microbiologique de l'environnement dans les établissements de santé Air, eaux et surfaces

Madigan M &MartinkoJ (2008).Brock .Biologie des micro-organismes.11e édition. PEARSON. France. pp354.

DRAME B. (2001). Microméthode d'identification et l'étude de la sensibilité des entérobactéries: intérêts thérapeutique. Thèse pharm. Université Dakar, n ° 86.

CHU-PS (2003) .Bactériologie d'accueil [en ligne]. Disponible sur : <<http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/index.html>>. (13 MAI 2019)

Elmeskini K. (2011). Etude épidémiologique des infections à Pseudomonas aeruginosa. [En ligne]. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Mohamed V faculté de médecine et de pharmacie -Rabat.p4

Euzéby JP. (2011). Abrégé de Bactériologie Générale et Médicale à l'usage des étudiants de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,

Larry M. Bush, MD; Maria T. Perez, MD (2017).Infections à entérocoques ,d'accueil [en ligne]. Disponible sur : <<https://www.msmanuals.com/fr/professional/maladies-infectieuses/cocci-gram-positifs/infections-%C3%A0-ent%C3%A9rocoques>>. (13 Mai 2019).

Katia Stucki, Mathieu Nendaz, Stephan Harbarth (2014).Infections A Entérocoques : Du Plus Simple Au Plus Complexe,Med Suisse; 10. 1918-1923

La place de la transmission directe interhumaine est reconnue comme prépondérante par rapport à la transmission liée à l'environnement.

CTIN (2002) .Surveillance microbiologique de l'environnement dans les établissements de santé Air, eaux et surfaces. *Ministère chargé de la santé, DGS/DHOS,*

| **Annexe**

Annexe

Annexe 01

La Composition des différents milieux utilisés dans l'étude expérimentale

Milieu de Chapman

Extrait de viande (bovin ou porcin)	1g
Peptone de caséine et de viande (bovin et porcin)	10g
Chlorure de sodium.....	75g
Mannitol.....	10g
Agar.....	15g
Rouge de phénol.....	0,025g

pH=7,6

Préparation : 111g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave : 15 minutes à 120°C.

Gélose nutritive

Peptone.....	10.0g
Extrait de viande.....	5g
Chlorure desodium.....	5g
Agar.....	10.g

pH=7.3

Gélose Mueller-Hinton

Infusion de viande de boeuf.....	300ml
Peptone de caséine.....	17.5g
Amidon de mais.....	1.5g
Agar.....	10.0g

pH= 7.4

Préparation : 37g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 116°C, 15min

Bouillon coeur-cervele (BHIB) :

Infusion de cervelle de veau.....	12.5g
Infusion de coeur de boeuf.....	5.0g
Peptone.....	10.0g
Glucose.....	2.0g
Chlorure de sodium.....	2.0g

Annexe

Phosphatase di sodique.....5g

pH= 7.4

Préparation : 37g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 120°C, 20min.

Milieux MAC

Peptone.....20g

Lactose..... 10g

Sels biliaires.....1.5g

Cristal violet.....0.001g

Rouge neutre.....0.05g

Chlorure de

sodium.....5g

Agar.....15g

pH = 7,1

Gélose au Sang

Gélose nutritive additionné de sang. Le sang est ajouté stérilement dans le milieu stérile en surfusion.

Milieu BEA

BioTrypcase.....17g

Bio-Thione.....3g

Extrait de levure.....5g

Bile de boeuf.....10g

Chlorure de sodium.....5g

Citrate de sodium.....1g

Esculine.....1g

Citrate de fer ammoniacal.....0.5g

Azide de sodium.....0.25g

Agar.....13.5g

pH = 7,1

Bouillon Nutritif

Extrait de viande sec.....5g

peptone.....10g

Chlorure de sodium 5g

Eau distillée1000 ml

PH = 7. 2 -7. 4

Annexe

Préparation : 20g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 121°C, 15min

Citrate de Simmons

Citrate de sodium.....	2, 0g
Bleu de bromotymole.....	0, 08g
Chlorure de sodium.....	5, 0g
Sulfate de magnésium.....	0, 2g
Phosphate dis potassique.....	1, 0g
Phosphate mono-amonique.....	1, 0g
Gélose.....	15g

E-Mannitol-Mobilité

Mannitol.....	2g
Rouge de phénol a 1%.....	4ml
Peptone trypsine de viande	20g
Nitrate de potassium.....	1, 0g
Agar.....	4g

PH=7.6-7.8

F-Urée-indole

Urée.....	20g
L-tryptophane.....	3g
Ethanol à 0,9.....	1, 0 Cm3
Rouge de phénol à 1 %.....	2, 5ml
Chlorure de sodium.....	5g
Phosphate diacide de potassium	1g
Phosphate monoacide de potassium.....	1g
Eau distillée.....	1000ml

PH=7

GELOSE TSI (Triple Sugar Iron)

Peptone.....	20,00g
Chlorure de sodium	5,00 g
Extrait de bœuf.....	3,00g
Citrate ferrique ammoniacal.....	0,30g
Extrait de levure	3,00g
Thiosulfate de sodium	0,30g
Saccharose	10,00g

Annexe

Rouge de phénol	0,025g
Lactose	10,00g
Agar.....	12,00g
Glucose monohydraté.....	1,00g

Clark Et Lubs

Peptonetrypsique de viande.....	6g
Glucose.....	5g
Hydrogénophosphate de potassium.....	5g
Eau distillée.....	1litreg

pH = 7

King A

Peptone	20,0g
Glycérol.....	10,0g
Sulfate de potassium (K ₂ SO ₄)	10,0g
Chlorure de magnésium (MgCl ₂)	1,4g
Agar	12,0g

pH = 7,1

King B

Peptone	20,0g
Glycérol.....	10,0g
Hydrogénophosphate de potassium (K ₂ HPO ₄).....	1,5g
Sulfate de magnésium heptahydraté (MgSO ₄ ,7 H ₂ O).....	1,5g
Agar	12,0g

pH= 7,2

Gélose Au Cétrimide

Peptone	26,0g
Bromure de tétradonium (cétrimide).....	0,2g
Acide nalidixique.....	0,015g
Sulfate de potassium (K ₂ SO ₄)	10,0g
Chlorure de magnésium (MgCl ₂).....	1,4g
Agar.....	10,0g

pH = 7,1

Annexe

Annexe 02

Réactifs

1. Sérum physiologique :

Chlorure de Sodium.....	9g
Eau distillée	1000 mL

2. Réactifs de la coloration de Gram

Violet de gentiane

Phénol.....	2.0 g
Violet de gentiane.....	1.0 g
Éthanol à 90°.....	10 ml
Eau distillée.....	100 ml

Lugol

Iodure de potassium.....	2.0 g
Iode métalloïde.....	1.0 g
Eau distillée	300 ml

Fuschine de ziehl

Fuchine basique.....	1.0g
Phénol.....	5.0 g
Éthanol à 90°	10 ml
Eau distillée	100 ml

Annexe

Annexe 03

Tableau I : Classification des lésions du pied en grades et stades de gravité selon l'université du Texas. (Mutluoglu M et al., 2013)

Grade		I	II	III
Stade	Hyperkératose Lésion cicatrisée	Ulcère superficiel	Ulcère profond avec atteinte tendon ou capsule	Ulcère profond avec atteinte os ou articulation
A : sans infection ni ischémie	0	0	0	0
B : infection	12,5	8,5	28,6	92
C : ischémie	25	20	25	100
D : infection et ischémie	50	50	100	100

Tableau II : Définition et classification de l'infection du pied diabétique . (IWGDF, 2015)

Stade de gravité	Critères diagnostiques
1 - Pas d'infection	Absence de symptômes ou de signes d'infection
2 - Infection légère	Infection n'atteignant que la peau et le tissu sous-cutané (pas d'atteinte des structures plus profondes et absence des signes systémiques décrits plus bas). Au moins deux des constatations suivantes doit être présentes : <ul style="list-style-type: none"> • Induration ou tuméfaction locales, • Erythème de 0,5 à 2 cm autour de l'ulcère • Sensibilité ou douleur locales, • Chaleur locale, • Emission purulente (liquide épais, opaque à blanchâtre ou sanguinolent) Les autres causes de réaction inflammatoire cutanée doivent être éliminées (traumatisme, goutte, épisode aigu de neuro-arthropathie de Charcot, fracture, thrombose, insuffisance veineuse, ...)
3 - Infection modérée	Erythème de plus de 2 cm associé à l'un des signes précédents (tuméfaction, douleur, chaleur, purulence) ou Atteinte de structures plus profondes que la peau et le tissu sous-cutané, comme un abcès, une ostéomyélite, une arthrite septique, une fasciite. Absence de réponse inflammatoire systémique (voir plus bas)
4 - Infection sévère (sepsis)	Toute infection du pied avec signes du syndrome de réponse inflammatoire systémique. Cette réponse se manifeste par au moins 2 des signes suivants : <ul style="list-style-type: none"> • Température > 38° ou < 36°C • Fréquence cardiaque > 90 bpm • Fréquence respiratoire > 20 cycles/min • Leucocytose > 12 000 ou < 4 000/mm³ 10% ou plus de formes immatures
5 - Sepsis sévère	<ul style="list-style-type: none"> • TA < 90/mm ou d > 40mm • oligo-anurie • encéphalopathie aiguë • hypoxie, coagulopathie

Annexe

Tableau III: Antibiotiques utilisés pour l'étude de l'antibiorésistance des souches isolées (CA-SFM)

ATB testée pour les Gram positive	Charge du disque (µg)	ATB testée pour les Gram négative	Charge du disque (µg)
Aminosides Amikacine (AN)	30	Aminosides Amikacine (AN)	30
Lincosamides Clindamycine (CM)	2	Monobactame Aztréonam (ATM)	30
Céphalosporine 1ère génération Céfalexine (CN)	30	Fluoroquinolone Ciprofloxacine (CIP)	5
Céphalosporine 3ème génération Céfotaxime (CTX)	30	Polypeptide Colistine (CS)	50
Macrolides Erythromycine (E)	15	Pénicillines Pipéracilline (PIP)	75
Divers Acide fusidique (FA)	10	Carboxypénicillines Ticarcilline + acide clavulanique (TCC)	75/10
Streptogramines Pristinamycine (PT)	15	Carboxypénicillines Ticarcilline (TIC)	10
Pénicillines Pénicilline G (P)	6	Aminosides Tobramycine (TM)	75
Divers Rifampicine (RA)	30		
Tétracyclines Tétracycline (TE)	30		
Glycopeptides Teicoplanine (TEC)	30		
Pénicillines Oxacilline (OX)	1 ou 5		
Fluoroquinolone Ofloxacin (OFX)	5		

Résumé:

Parmi les complications du diabète les infections du pied diabétique, constituent un problème majeur et croissant dans le monde entraînant des conséquences médicales, sociales et économiques

Notre objectif est d'évaluer la prévalence des bactéries impliquées dans ses infections et vérifiée la présence de relation entre ses trois flores bactériennes et aussi de tester l'efficacité de certains antibiotiques sur ses souches.

L'ensemble de résultat montrent que les CGP sont retrouvées en majorités des cas notamment les staphylocoques qui est le plus fréquente dans les trois endroits étudiés le pied diabétique (28,98%), la cavité nasale (35,6%) et l'environnement hospitalier (34,79%). Pour les BGN fermentaires, on retrouve *Proteus* est la bactérie la plus dominante dans le pied diabétique et la cavité nasale (40%), par contre dans l'environnement hospitalier en retrouve *E. coli avec* (33%), mais les BGN non fermentaire présentent des résultats clairsemés dans les différents endroits étudiés, ou cela l'espèce *pseudomonas* représente la majorité de cas 14,5% dans l'environnement et la similarité de ce germe entre la cavité nasale et le pied diabétique infectée (1,32% et 6,2%). Notre souche *S. aureus* acquière le profil de résistance SARM, et les entérocoques isolés du pus résistent à la vancomycine mais les Streptocoques isolés du pus résistent à la plupart des antibiotiques testé La souche de *Pseudomonas aerogenosae* affichent un taux de résistance seulement vis-à-vis la famille de Carboxypénicillines

Mot clé : Infection, Pied diabétique, CGP, BGN, Environnement hospitalier, cavité nasale, antibiorésistance Bactérie.

Abstract:

Diabetic foot infections are a major and growing problem in the world with medical, social and economic.

Our goal is to evaluate the prevalence of bacteria involved in its infections and to verify the presence of a relationship between its three bacterial flora and also to test the effectiveness of certain antibiotics on its strains.

All the results show that the CGP are found in the majority of cases including staphylococci. which is the most common among the three places studied diabetic foot (28.98%), nasal cavity (35.6%), hospital environment (34.79%). For fermentative BGNs, *Proteus* is the most dominant bacterium in the diabetic foot and nasal cavity (40%), whereas *E. coli* is the most common in the hospital environment (33%), but non-fermentative BGNs have sparse results in the various locations studied, or that the *pseudomonas* species accounts for the majority of cases 14.5% in the environment and the similarity of this germ between the nasal cavity and the infected diabetic foot (1.32% and 6.2%). Our *S. aureus* strain acquires the MRSA resistance pattern, but Streptococci and enterococci isolated from pus are resistant to vancomycin

The strain of *Pseudomonas aerogenosae* isolated from the IPD showed a resistance rate only vis-à-vis the carboxypenicillin family

Keyword: Infection, Diabetic foot infection, CGP, BGN, Hospital environment, nasal cavity, antibiorésistance, bacteria.

المخلص:

من بين مضاعفات مرض السكري ، تعد التهابات القدم السكرية مشكلة رئيسية ومتنامية في العالم لها عواقب صحية واجتماعية واقتصادية. هدفنا هو تقييم مدى انتشار البكتيريا المتسببة في الالتهاب والتحقق من وجود علاقة بين الأماكن البكتيرية الثلاث وكذلك اختبار فعالية بعض المضادات الحيوية على سلالاتها.

تبين مجموعة النتائج أنها وجدت في غالبية الحالات بما في ذلك المكورات موجبة الجرام CGP، وهي الأكثر شيوعًا في الأماكن الثلاثة التي تمت دراستها القدم المصابة بالسكري (28.98٪) ، تجويف الأنف (35.6٪) ، وبيئة المستشفى (34.79٪). بالنسبة BGN المخمرة ، نجد أن *Proteus* هي البكتيريا الأكثر انتشارًا في القدم السكرية وتجويف الأنف (40٪) ، و في بيئة المستشفى (33٪) ، لكن بالنسبة BGN غير المخمر له نتائج متفرقة في المواقع المختلفة التي تمت دراستها ، و النوع *pseudomonas* يمثل غالبية الحالات بنسبة 14.5 ٪ في بيئة المستشفى وتتشابه نسبة هذه الجرثومة بين تجويف الأنف والقدم المصابة بالسكري. تكتسب سلالة المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للمرض MRSA، ولكن المكورات المعوية المعزولة من القيح تقاوم السلالة المعزولة من الفانكوميسين من ال IPD تُظهر مقاومة فقط لعائلة Carboxypenicillin

الكلمات المفتاحية: التهاب، مرض القدم السكرية، CGP، BGN، بيئة المستشفى، تجويف الأنف، مقاومة مضادات الميكروبات، بكتيريا.