

UNIVERSITE KASDI MERBAH-OUARGLA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologiques



Mémoire de

MASTER ACADEMIQUE

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème

Isolement et pré-identification des bactéries responsables des infections du pied diabétique

Présenté par : **BENABDELHAFID Soumia**

Soutenu publiquement le :

15/10/2020

Devant le jury :

Dr. BEN AISSA A.	MCA	Présidente	UKM Ouargla
Mme CHETHOUNA F.	MAA	Examinatrice	UKM Ouargla
Dr. BELDI N.	MCB	Promotrice	UKM Ouargla

Année universitaire : 2019/2020

Remerciements

Tout d'abord, je remercie Dieu le Tout puissant, miséricordieux, qui m'a tracé le chemin de ma vie, qui m'a donné la force, la santé, le courage et surtout la patience pour bien réaliser ce Modeste travail.

*En second lieu, Le vif remerciement s'adresse et le grand respect à ma promotrice du mémoire **Melle BELDI Nadia**, MCB à UKMO, pour son encadrement, sa patience, sa compétence distinctive, sa disponibilité et ses judicieux conseils, et surtout les encouragements qui ont permis de réaliser ce travail.*

*Grand remerciement pour la présidente de jury **Mme BEN AISSA Atika**, MCA à UKMO. Je remercie également **Mme CHETHOUNA Fatma**, MAA à UKMO pour avoir accepté de juger et examiner ce travail et tous les enseignants de département des sciences de la nature et de la vie.*

A tout le personnel du laboratoire Bactériologique de l'EPH Mohammed Boudiaf (Ouargla) l'équipe de travail de la maison de diabète, les médecins d'hôpital Militaire d'Ouargla et tous les techniciens du laboratoire de la faculté pour leurs aides et leurs orientations durant la réalisation de ce travail.

Finalement, je tiens à remercier de tout cœur ma famille et mes parents, pour leur amour et leur compréhension.

Merci encore et encore...

*Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...
Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude,
L'amour, le respect, la reconnaissance...
Aussi, c'est tout simplement que*



*Je dédie ce
Mémoire ...*



*À la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et
mon bonheur
Ma mère Saïda*



*À l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de
bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu le garde dans son
vaste paradis,
Mon Père Saïd*



*Aux personnes qui m'ont énormément aidée et Pour leur soutien moral et leur sacrifice le
long de ma formation
Ma très cher sœur Nadjah*



À ceux qui ont plus particulièrement assuré le soutien affectif de ce travail :
Al Arbi, Lamine, Meriem, Nadjet, Safia, Sabrina, Youcef



À ceux qui ont plus particulièrement assuré le soutien affectif de ce travail :
Ma famille Benabdelhafid



*À celles qui m'ont toujours aidée, écoutée, soutenue et encouragée tout au long de mon
parcours ; celles qui ont toujours été présentes pour moi,
À ma promotrice : Melle BELDI Nadia*

Liste des abréviations

ADH : Arginine

API 20^E : Appareillage et Procédés d'Identification 20 E (E=Entérobactéries)

ATB : Antibiotique

BEA : Bile Azide Escultine

BGN : Bactéries de Gram négatif

BGP : Bactéries de Gram positif

BN : Bouillon nutritif

CHU : Centre Hospitalière Universitaire

CIT : Citrate

DID : Diabète insulino-dépendant

DNID : Diabète non-insulino-dépendant

EPH : Etablissements Publics Hospitaliers

EPSDQ : Équipe de professionnels de la santé de Diabète Québec

GEL : Gélatine (origine bovine)

GN : Gélose nutritive

GSC : Gélose au sang cuit

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène (l'eau oxygénée)

H₂S : Thiosulfate de sodium

HGPO : Hyperglycémie provoquée par voie orale

HMRUC : Hôpital Militaire régional universitaire Constantine

IPD : Infection de pied diabétique

LDC : Lysine décarboxylase

MAC: Mac Conkey

ODC: Ornithine décarboxylase

OMS : Organisation mondiale de la santé

PD : Pied diabétique

pH : Potentiel d'Hydrogène

SCN : Staphylocoques à coagulas négative

SIDA : Syndrome d'immunodéficience acquise

TDA : Tryptophane-désaminase

URE : Urée

VP : Voges-Proskauer

Liste des figures

	Page
Figure 01 : Diabète insulino-dépendant (type 1)	06
Figure 02 : Diabète non insulino-dépendant (type 2)	07
Figure 03 : Les principales complications du diabète	08
Figure 04 : Différents aspects de l'infection du pied diabétique	11
Figure 05 : Schéma de la démarche suivi au cours de notre l'étude	22
Figure 06 : Technique d'ensemencement par stries	25
Figure 07 : Les réactifs utilisés dans la coloration de Gram	27
Figure 08 : Remplissage de la galerie API 20 ^E	29
Figure 09 : La galerie API 20 ^E	30
Figure 10 : Répartition des patients selon la tranche d'âge	32
Figure 11 : Répartition des patients selon le sexe	33
Figure 12 : Répartition des prélèvements positifs et négatifs	34
Figure 13 : Distribution des résultats selon le caractère poly ou mono-microbien des bactéries isolés	34
Figure 14 : Aspects des colonies sur le milieu de culture (GN)	35
Figure 15 : Aspects des colonies sur milieu gélose au sang cuit (halo claire)	35
Figure 16 : Aspects des colonies sur milieu Mac Conkey	36
Figure 17 : Aspects des colonies sur milieu chapman enrichi de mannitol	37
Figure 18 : Aspects des colonies sur milieu Héктоèn	38
Figure 19 : Aspects des colonies sur milieu BEA	39
Figure 20 : Observation microscopique après coloration de Gram (Grossissement x100)	40
Figure 21 : Répartition des cultures bactériennes selon la coloration de Gram	40
Figure 22 : Résultat de l'identification biochimique par galerie API 20 ^E	42
Figure 23 : Test de catalase positive: cas de <i>Staphylococcus aureus</i>	43
Figure 24 : Test de la catalase négative: cas des Streptocoques et les Entérocoques	43
Figure 25 : Pourcentage d'apparition des souches bactériennes identifiées selon les prélèvements	47

Liste des tableaux

	Page
Tableau 01 : Corrélations clinicobactériologiques entre les pathogènes habituellement identifiés et les types de plaies	14
Tableau 02 : Présentation des cas étudiés et l'ensemble des caractéristiques correspondantes	21
Tableau 03 : Répartition des patients selon le type de diabète	33
Tableau 04 : Résultats de la lecture du test de coagulase	44
Tableau 05 : Résultats des souches bactériennes dans les 20 prélèvements de pieds diabétiques	45

Sommaire

	Page
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	01
Première Partie : Synthèse bibliographique	
CHAPITRE I : Généralités sur le diabète	
I.1. Définition du diabète	05
I.2. Classification du diabète	05
I.2.1. Diabète de type 1	05
I.2.2. Diabète de type 2	06
I.2.3. Diabète gestationnel	07
I.3. Complications dues au diabète	07
I.3.1. La micro-angiopathie diabétique	07
I.3.2. La macro-angiopathie diabétique	08
I.4. Prévalence du diabète selon l'organisation mondiale de la santé (l'OMS)	09
I.4.1. Données mondiales	09
I.4.2. Données nationales	09
CHAPITRE II : Le pied diabétique	
II.1. Définition du pied diabétique	11
II.2. Symptomatologie de l'infection du pied diabétique	11
II.3. Physiopathologie des lésions du pied diabétique	12
II.3.1. Facteurs intrinsèques	12
II.3.1.1. Neuropathie	12
II.3.1.2. Artériopathie	13
II.3.1.3. L'infection du pied diabétique	13
II.3.2. Facteurs extrinsèques	13
II.4. Classifications de la plaie	14
II.5. Étiologie bactérienne de l'infection du pied diabétique	14
II.5.1. Les entérobactéries	15
II.5.2. Les <i>Pseudomonas</i>	15

II.5.3. Les streptocoques	15
II.5.4. Les entérocoques	16
II.5.5. <i>Clostridium</i> sulfito-réducteurs	16
II.5.6. Les staphylocoques	16
II.6. La prévention	17

Deuxième partie : Partie pratique

III. Matériel et Méthodes

III.1. Objectifs	20
III.2. Type, période et lieu de l'étude	20
III.2.1. Présentation du site de l'étude	20
III.3. Protocole de l'étude	22
III.4. Méthodes	23
III.4.1. Phase de prélèvement	23
III.4.1.1. Lieux et méthodes utilisées pour les prélèvements	23
III.4.2. Ensemencement et isolement	24
III.4.3. Identification bactérienne	25
III.4.3.1. Aspects macroscopiques	25
III.4.3.2. Aspects microscopiques	26
III.4.3.3. Tests physiologiques	27
III.4.3.4. Identification biochimique par la galerie API 20 ^E	28

IV. Résultats et discussion

IV.1. Résultats	
IV.1.1. Répartition des résultats selon les facteurs étudiés	32
IV.1.1.1. Selon la tranche d'âge	32
IV.1.1.2. Selon le sexe	32
IV.1.1.3. Selon le type de diabète	33
IV.1.2. Résultats de l'analyse microbiologique	33
IV.1.2.1. Résultats préliminaires des prélèvements de pus	33
IV.1.2.2. Nature des cultures microbiennes obtenues	34
IV.1.2.3. Identification morphologique des souches isolées	35
IV.1.2.3.1. Etude macroscopique	35
IV.1.2.3.2. Etude microscopique	40
IV.1.2.3.3. Identification biochimique	41

IV.1.2.3.3.1. Identification des Gram négatifs	41
IV.1.2.3.3.2. Identification des Gram positifs	43
IV.1.3. Répartition des souches bactériennes identifiées du pied diabétique	44
IV.2. Discussion	48
Conclusion	53
Références bibliographiques	55
Annexe	
Résumé	
Abstract	
المخلص	

Introduction

Introduction

Le diabète est la première maladie non transmissible reconnue comme un problème majeur de santé publique à l'échelle mondiale, aussi grave que les épidémies infectieuses telles que le paludisme, la tuberculose et le SIDA. Il est reconnu par l'OMS comme épidémie mondiale (**Karam, 2010**).

Le diabète est une pathologie endocrinienne métabolique chronique qui se caractérise par une élévation de la concentration du sucre dans le sang, cette hyperglycémie est la conséquence soit d'un défaut de sécrétion de l'insuline, soit d'une diminution de son action sur les tissus cibles, sous l'influence des facteurs génétiques ou environnementaux (**Kahina, 2016**).

Le diabète sucré est une maladie très fréquente, c'est la seconde cause de mortalité en Algérie et la cinquième dans le monde (**Haris et al., 2007**).

Si cette maladie silencieuse indolore n'est pas rétablie (par des traitements, des régimes...), de nombreuses complications apparaîtront, des problèmes cardiovasculaires, rénaux (l'insuffisance rénale), ou encore nerveux et oculaires, mais elle cause aussi des complications au niveau des pieds qui sont parmi les plus fréquentes et redoutées (**Lecompte, 2012**).

Le pied diabétique se définit comme un ensemble de lésions cutanées et ostéo-articulaires, localisées au départ au niveau du pied chez le sujet diabétique ces lésions sont liées à des complications neurologiques et/ou artérielles et/ou infectieuses touchant particulièrement les extrémités distales des membres inférieurs chez le diabétique, qui est le facteur pronostic de la cicatrisation (**Andrew et al., 2010**).

L'infection du pied diabétique consiste en une invasion des tissus par des bactéries accompagnée d'une multiplication avec ou sans réponse inflammatoire (**Badri et Tahri, 2016**). Cette infection intervient comme élément aggravant et augmentant le risque d'amputation (**Traore, 2007**). Elle est due à la présence des bactéries pathogènes retrouvées au niveau de la plaie du pied telle que les Cocci Gram positifs (Staphylocoque doré, Staphylocoque à coagulase négative, Streptocoques, Entérocoques), Bacilles Gram négatif (*Proteus, Escherichia coli : E. coli, Klebsiella, Enterobacter, Pseudomonas*) (**Chidiac et al., 2007**).

L'objectif de ce travail repose sur la détermination de la fréquence des bactéries pathogènes responsables des infections du pied diabétique. Pour cela, il faut faire l'isolement et l'identification des souches bactériennes à partir des plaies infectés par différents méthodes microbiologiques.

Afin d'arriver à cerner les objectifs de l'étude, ce travail est divisé en deux parties : la première comprend à une synthèse bibliographique comportant deux chapitres : le premier chapitre contient des informations générales sur le diabète et le second est consacré à donner quelques informations sur le pied diabétique. La deuxième partie contient la méthodologie utilisée, suivie par les résultats obtenus avec une petite discussion. Enfin, on termine par une conclusion avec quelques perspectives.

Première Partie :

Synthèse bibliographique

Chapitre I :

Généralités sur le diabète

Chapitre I : Généralités sur le diabète

I.1. Définition du diabète

Le diabète est une maladie métabolique chronique caractérisée par des taux élevés de glucose dans le sang (**Pedgrift, 2011 ; OMS, 2017**), ou hyperglycémie (**American Diabetes Association, 2013**) qui perturbe le métabolisme des glucides, et par conséquent des lipides et des protéines (**Wens *et al.*, 2007**) . Elle est liée à une déficience, soit de la sécrétion, soit de l'action de l'insuline (**Jean-Pierre, 2009 ; Nam, 2013 ; Joseph & Golden, 2014**).

L'insuline est une hormone produite par le pancréas, indispensable à la pénétration du glucose sanguin dans les cellules. Lorsqu'elle fait défaut, le taux de sucre augmente dans le sang (**Durand, 2012**).

Selon l'OMS, le diabète est défini par :

Une glycémie à jeun supérieure ou égale à 1,26g/l (7mMol/l) à deux reprises réalisées à 15 jours d'intervalles, est suffisante pour affirmer le diagnostic. Ou des symptômes de diabète (polyurie, polydipsie, amaigrissement) plus une glycémie quel que soit l'heure du prélèvement supérieure ou égale à 2g /l. Il n'y a pas lieu de demander une hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO) (**OMS, 2018**).

S'il n'est pas traité correctement il peut engendrer de graves complications affectant le cœur, les vaisseaux, les yeux, les reins et les nerfs. Un bon contrôle de la maladie (donc de la glycémie) peut permettre de réduire notablement ces risques de complications (**Raverot, 2003 ; Margaret, 2014**).

I.2. Classification du diabète

I.2.1. Diabète de type 1

Le diabète de type 1, ou diabète insulino-dépendant (DID) ou juvénile, est une maladie auto-immune chronique (**Djigui, 2007 ; Nobel & Valdes, 2011**) détruisant les cellules β (indispensables à la sécrétion d'insuline) des îlots de Langerhans du pancréas (**Buffet & Vatie, 2010**) (voir : **Figure 01**). Il survient généralement chez les sujets jeunes (enfants, adolescents ou jeunes adultes).

Conduisant à un déficit majeur de la sécrétion d'insuline, l'hyperglycémie ne se révèle que lorsque 90% des cellules sont détruites (**Marchall *et al.*, 2005 ; Monnier & Fumat, 2010**).

Ainsi les personnes atteintes du diabète de type 1 sont insulinodépendantes (dépendant des injections d'insuline) (OMS, 2014). Les symptômes de DID sont les suivants: excrétion excessive d'urine (polyurie), sensation de soif (polydipsie), faim constante, perte de poids, altération de la vision et fatigue. Ces symptômes peuvent apparaître brutalement. Il peut aussi se déclarer par l'apparition d'une complication aiguë telle que l'acidocétose (accumulation excessive de corps cétonique dans l'organisme) (Jean-Pierre, 2009).

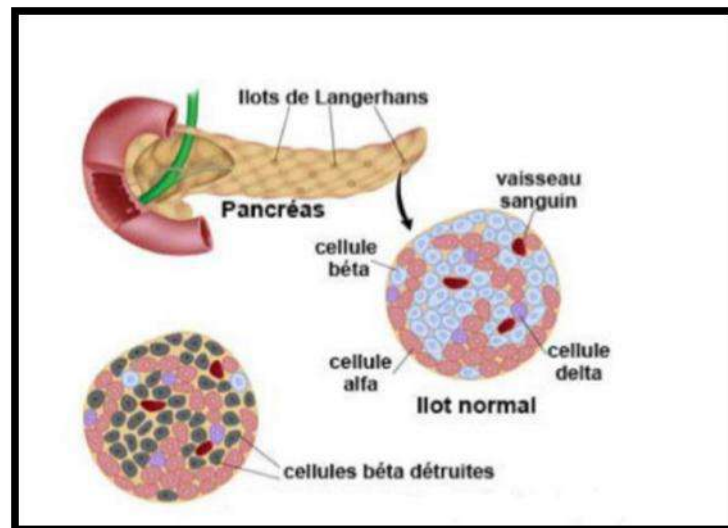


Figure 01 : Diabète insulino-dépendant (type 1) (<https://www.pinterest.com/pin>).

I.2.2. Diabète de type 2

Le diabète de type 2, encore nommé non-insulino-dépendant (DNID) (Nam, 2013 ; OMS, 2016), ou diabète de la maturité, non auto-immune, caractérisé par une résistance à l'insuline c'est-à-dire l'incapacité de l'organisme à réagir correctement à l'action de l'insuline produite par le pancréas (Jean-Pierre, 2009) (Figure 02), et une carence relative de la sécrétion d'insuline. Il représente 90 à 95% des diabètes, mais on estime qu'environ 50% des diabètes de type 2 sont méconnus car peu symptomatiques (Monnier & Fumat, 2010).

Le DNID est découvert de façon fortuite lors d'un examen ou d'une complication le plus souvent neuropathie (lésion des nerfs périphérique) et infection cutanéomuqueuse, l'affection est alors suspectée lorsque des antécédents familiaux de diabète de type 2 existent (Jean-Pierre, 2009 ; OMS, 2017).

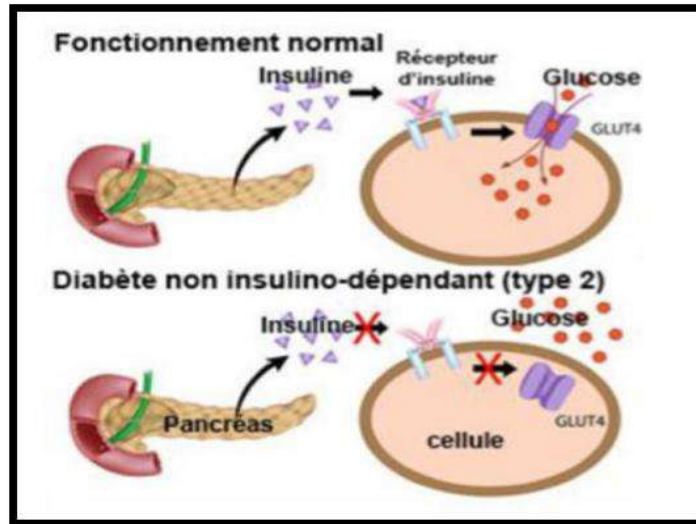


Figure 02 : Diabète non insulino-dépendant (type 2) (<https://www.pinterest.com/pin/>).

I.2.3. Diabète gestationnel

Le diabète gestationnel (aussi appelé diabète de la grossesse), est défini par l'OMS comme un trouble de la tolérance glucidique conduisant à une hyperglycémie de sévérité variable. Il se manifeste par une augmentation de la glycémie vers la fin du deuxième et au troisième trimestre de la grossesse. Il résulte d'une résistance des cellules à l'action de l'insuline, causée naturellement durant la grossesse par les hormones du placenta (EPSDQ, 2014) débutant ou diagnostiqué pour la première fois pendant la grossesse, quels que soit le traitement nécessaire et l'évolution dans le post-partum (Vambergue, 2010).

I.3. Complications dues au diabète

La chronicité de l'hyperglycémie est liée à l'apparition et au développement de multiples complications dégénératives ou chroniques, qui touchent de nombreux organes (les yeux, les reins, les nerfs, le cœur et les vaisseaux) (Jean-Pierre, 2009) (voire : Figure 03).

A long terme, les complications du diabète sont classiquement divisées en deux catégories :

I.3.1. La micro-angiopathie diabétique

C'est l'altération des petits vaisseaux sanguins : artérioles, veinules et capillaires (de diamètre inférieur à 30 μm) (Geoffroy, 2005). Trois tissus sont particulièrement le siège de cette micro-angiopathie : la rétine (la rétinopathie), le glomérule rénal (la néphropathie) et le nerf périphérique (les neuropathies) (Noubel, 2009 ; Ondoua, 2012).

L'état d'hyperglycémie chronique va engendrer des anomalies fonctionnelles, de ces petits vaisseaux, qui vont progressivement permettre l'installation des différentes maladies annexes (Abdelkbir, 2014).

I.3.2. La macro-angiopathie diabétique

Le terme de macro-angiopathie diabétique a été introduit par opposition à la micro-angiopathie qui touche la micro-circulation. On désigne sous le terme de macro-angiopathie, l'atteinte des gros vaisseaux (des artères de calibre supérieur à 200 μ m) (Guillet, 2010) responsables de cardiopathies ischémiques, vasculaires cérébrale, atteinte des membres inférieurs (Schlienger, 2013). La macro-angiopathie résulte de l'hyperglycémie et de l'hyperinsulinémie. L'hyperglycémie provoque les mêmes modifications que sur les petits vaisseaux (Abdelkbir, 2014).

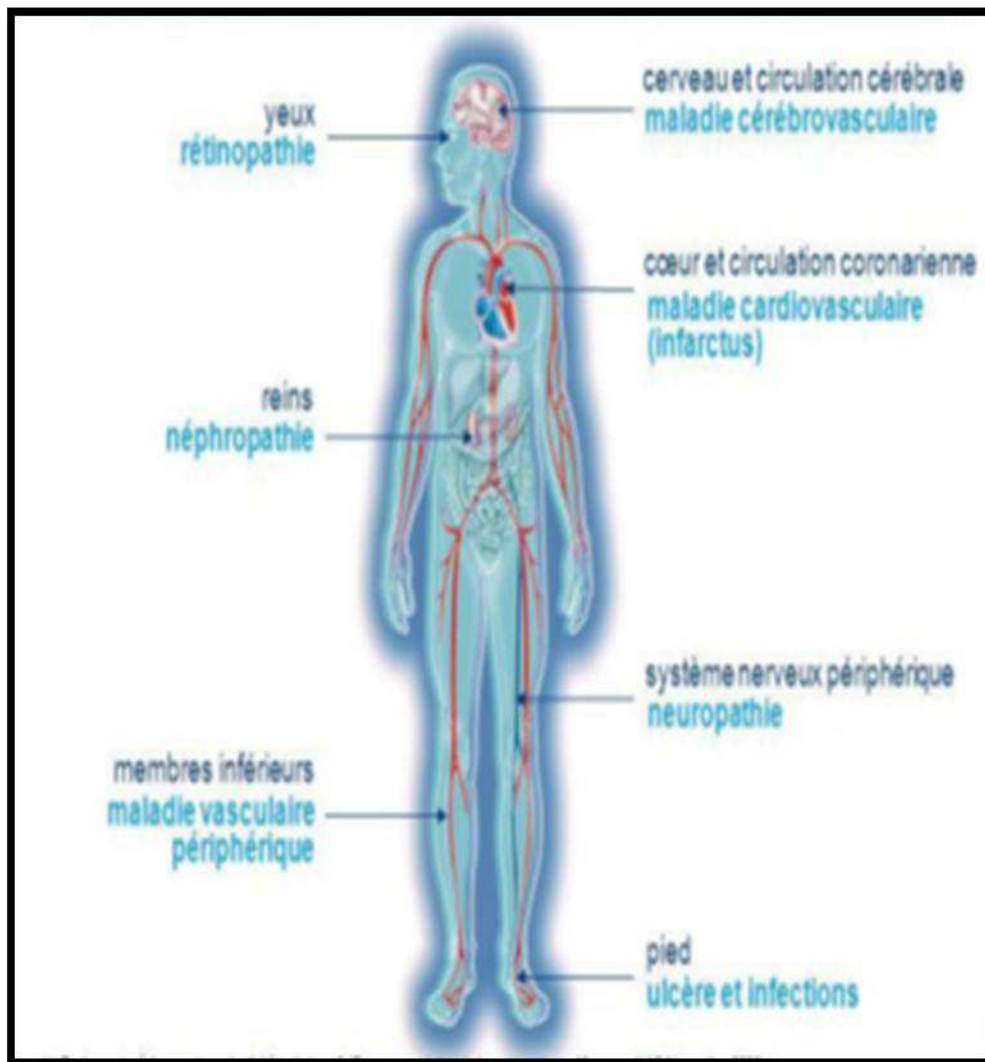


Figure 03 : Les principales complications du diabète (Abdesselam A *et al.*, 2017).

I.4. Prévalence du diabète selon l'organisation mondiale de la santé (l'OMS)

I.4.1. Données mondiales

Le diabète est un problème majeur de santé publique qui touche l'ensemble de la population mondiale et dont l'incidence est en augmentation (**Strainchamps, 2011**). On estime qu'en 2011, environ 350 millions de personnes sont atteintes de diabète, soit 6% de la population mondiale. A peu près, 80% de ces personnes vivent dans des pays en développement. D'ici 2030, on s'attend à une augmentation de ce chiffre global à quelque 440 millions soit 7.8% de la population adulte (**Dumont & Richard, 2011**).

La prévalence mondiale du diabète chez les adultes de plus de 18 ans est passée de 4,7% en 1980 à 8,5% en 2014 (**Mathers & Loncard, 2006**).

Près de la moitié des décès dus à l'hyperglycémie surviennent avant l'âge de 70 ans. L'OMS prévoit qu'en 2030, le diabète sera la 7^{ème} cause de décès dans le monde (**Mathers & Loncard, 2006**) avec une population de 366 millions de diabétiques (**Wild et al., 2004**).

I.4.2. Données nationales

Le diabète est la seconde cause de mortalité en Algérie et la cinquième dans le monde, le nombre de diabétique en Algérie est passé d'un million de personnes en 1993 à plus de 2.5 millions en 2007 (**Keddad, 2017**).

En Algérie, le diabète constitue l'un des problèmes majeurs de la santé publique, en particulier le diabète de type II et ce en raison de l'explosion de son incidence (**Craig et al., 2014**). Sur une population estimée à 32 millions d'habitants, et selon la fédération algérienne des associations des diabétiques, le nombre de diabétiques a atteint le chiffre de 2 millions dont 21% d'insulinodépendants. Selon la société algérienne de diabétologie, 90% de la population des diabétiques présentent le diabète de type II et 10% de type I (**International Diabetes federation, 2015**).

En 2001, l'Atlas du diabète plaçait l'Arabie Saoudite en tête des pays les plus touchés avec 19.6% de la population versus 9.6% pour l'Algérie (**Keddad, 2017**).

Chapitre II:

Le pied diabétique

CHAPITRE II : Le pied diabétique

II.1. Définition du pied diabétique

Selon le Consensus international de 2007 : le pied diabétique est une infection, ulcération ou destruction des tissus profonds du pied, associée à une neuropathie et/ou un artériopathie périphérique des membres inférieurs chez le diabétique. On regroupe sous le terme « pied diabétique » l'ensemble des manifestations pathologiques atteignant le pied et directement en rapport avec la maladie diabétique sous-jacente (**Mathieu, 2014**).

Cette complication diabétique se définit par l'ensemble des lésions cutanées et ostéo-articulaires, localisées au départ au niveau du pied chez le sujet diabétique. En effet, le pied est une région à haut risque d'amputation chez le diabétique (**Ait Lhaj ou Said, 2014**) (montré dans la : **Figure 04**).

Le pied diabétique, est une des complications majeures qui atteignent les diabétiques avec d'autres complications : cardiovasculaires, insuffisance rénale et oculaires (**Léfrère, 2016**).



Figure 04 : Différents aspects de l'infection du pied diabétique

(A) Infection superficielle ; (B) Infection profonde

(**Mesmin, 2004** ; www.centre-podologique.com).

II.2. Symptomatologie de l'infection du pied diabétique

Les Signes habituels d'infection sont : l'augmentation du volume de l'exsudat, induration, érythème péri-lésionnel, absence de sensation douloureuse (neuropathie sensitive), sécheresse des pieds (neuropathie autonome), déformations d'orteils et des pieds (neuropathie motrice) (**Ait Lhaj Ou Said, 2014**) , chaleur locale, présence de pus, tissu friable, base de

l'ulcère devient humide, jaunâtre ou grise, mauvaise odeur, risque infectieux important (ostéite, septicémie), cicatrisation retardée (**Rachel, 2014**).

II.3. Physiopathologie des lésions du pied diabétique

Les pieds des diabétiques sont exposés à développer des troubles trophiques potentiellement graves et pouvant aboutir à des amputations. Le risque est favorisé par la conjonction des complications neurologiques, artérielles et infectieuses. Trois mécanismes diversement associés peuvent être impliqués (facteurs pathogéniques) dans l'apparition du pied diabétique (**Pedgrift, 2011**).

- ✓ La neuropathie.
- ✓ L'artériopathie des membres inférieurs (l'ischémie résultant d'une artériopathie des membres inférieurs).
- ✓ L'infection (**Maroselli, 2002 ; Grimaldi, 2005**).

La neuropathie périphérique et l'artériopathie des membres inférieurs sont deux complications du diabète. L'infection est un phénomène qui peut s'y rajouter. L'intervention de ces trois mécanismes est variable, mais ils sont souvent intriqués (**Maroselli, 2002**).

II.3.1. Facteurs intrinsèques

II.3.1.1. Neuropathie

Selon les études, la neuropathie multiplierait de 8 à 18 fois le risque d'ulcération et de 2 à 15 fois le risque d'amputation. La neuropathie est fortement impliquée dans le mécanisme de pied diabétique, en association avec une ischémie. La présence ou non d'une neuropathie détermine le grade de risque podologique (**Mathieu, 2014**). La neuropathie est plus fréquente en cas de mauvais contrôle glycémique (**Gurnell, 2009**).

L'accumulation de sucre dans les cellules nerveuses va les altérer et gêner leur fonction. La neuropathie autonome entraîne quant à elle une diminution de la sécrétion sudorale conduisant à une sécheresse cutanée avec apparition de crevasses et de fissures au niveau des pieds (**Vandeleene & Leemrijse, 2009**).

L'atteinte des micro-vaisseaux va encore accélérer ce processus, conduisant à une baisse de la sensibilité, ce phénomène est très grave en particulier aux niveaux des extrémités et des plaies vont apparaître aux pieds sans qu'il s'en aperçoive (**Ménat, 2005**).

II.3.1.2. Artériopathie

L'artériopathie est plus fréquent et plus grave chez le patient diabétique, et représente un facteur d'aggravation très important responsable de retard de cicatrisation et de gangrène à l'origine d'amputation. L'artérite augmente avec l'âge et la durée du diabète. L'artérite associée à une neuropathie constitue un facteur majeur de risque pour l'apparition des plaies (Mathieu, 2014).

L'artériopathie des membres inférieurs est plus fréquente et de localisation plus diffuse et plus distale chez le patient diabétique. Son évolution est plus grave, souvent indolore (Malgrange, 2008).

II.3.1.3. Infection du pied diabétique

L'infection du pied diabétique est définie par une invasion tissulaire avec multiplication des microorganismes entraînant des dégâts tissulaires avec ou sans réponse inflammatoire de l'organisme (Stahl, 2006 ; Bernard *et al.*, 2007). L'infection du pied diabétique pouvant être superficielle mais avec un risque d'atteinte profonde pouvant menacer les tissus, les gaines et tendons, et surtout les structures osseuses (Ha Van, 2008).

Les infections du pied sont une complication majeure du diabète et conduisent finalement au développement de la gangrène et de l'amputation des membres inférieurs (Raja, 2007). Dans le cas du pied diabétique, cette infection est en règle secondaire à une plaie cutanée. Le diagnostic est clinique et non microbiologique puisque la plaie est obligatoirement colonisée par la flore commensale du patient ou par des espèces bactériennes provenant de l'environnement ou des flores endogènes du patient (Stahl, 2006).

L'infection est souvent poly-microbienne chez le diabétique et de diffusion rapide. Elle est favorisée par le déséquilibre glycémique qu'elle aggrave et l'artériopathie qui empêche l'apport des facteurs anti-infectieux circulant dans le sang des patients (cellules, médiateurs chimiques, antibiotiques) (Senneville, 2008 ; Pedgrift, 2011).

II.3.2. Facteurs extrinsèques

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).

II.4. Classifications de la plaie

L'objectif d'une classification des plaies du pied diabétique est de documenter et grader la sévérité de la plaie et évaluer le pronostic (délai de cicatrisation, risque d'amputation, etc.) pour permettre une prise en charge standardisée et adaptée à chaque type de plaie (Pedgrift, 2011) (Annexe 01).

II.5. Étiologie bactérienne de l'infection du pied diabétique

La nature du pathogène influe directement sur le type de la plaie du pied et sa gravité notamment (illustré dans le Tableau 01).

Tableau 01 : Corrélations clinicobactériologiques 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	<i>Streptocoques β-hémolytiques</i> <i>Staphylococcus aureus</i>
Plaie chronique (≥ 1 mois) Plaie antérieurement traitée par antibiotiques	<i>Streptocoques β-hémolytiques</i> <i>Staphylococcus aureus</i> Entérobactéries
Plaie traitée par des céphalosporines d'évolution défavorable	Entérocoques
Lésion macérée	<i>Pseudomonas sp.</i> (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 (<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>streptocoques β hémolytiques</i> , staphylocoques à coagulase négative, entérocoques), et de bacilles à Gram négatif (entérobactéries, bacilles à Gram négatif non fermentatifs, <i>Pseudomonas sp.</i>), ± corynébactéries, ± <i>Candida sp.</i>
Odeur nauséabonde, Nécrose, Gangrène	Cocci à Gram positif aérobies, Entérobactéries, Bacilles à Gram négatif non fermentatifs, <i>Pseudomonas sp.</i> Anaérobies stricts

II.5.1. Les entérobactéries

Les entérobactéries sont une famille très hétérogène pour ce qui est de leur pathogénicité et de leur écologie. Les espèces qui composent cette famille sont en effet soit parasites (*Shigella*, *Yersinia pestis*), soit des espèces commensales rencontrées généralement en cas d'infection chronique ou déjà traitées (*E. coli*, *Proteus mirabilis* : *P. mirabilis*, *Klebsiella sp.*), soit encore saprophytes (*Serratia sp.*, *Enterobacter sp.*) (**Richard et al., 2008**).

Les entérobactéries ce sont des bacilles Gram négatifs, non sporulés, mobiles par flagelles péritriches ou immobiles, aéro-anaérobies facultatifs. Ces bactéries sont également catalases positives, oxydases négatives, nitrates réductases positives, ont des besoins nutritionnels relativement simples et fermentent les sucres en divers produits finaux (**Madigan et Martinko, 2007**).

II.5.2. Les *Pseudomonas*

Les *Pseudomonas* sont des bactéries ubiquistes, pathogènes opportunistes bacilles à Gram négatif à extrémité effilée ou arrondie, régulière, fines très mobiles par ciliature polaire, non sporulés, généralement, aérobies strictes, non-exigeantes (**Mezaache, 2012**).

Pseudomonas aeruginosa (*p. aeruginosa*) est un pathogène opportuniste responsable d'infections nosocomiales graves et d'infections potentiellement mortelles chez les personnes immunodéprimées (**Ben Haj et al., 2011**).

II.5.3. Les streptocoques

Des bactéries appartenant au genre *Streptococcus* (du grec *streptos*: collier, *kokkos*: graine) sont des cocci à Gram positif très répandues, habituellement en paires ou en chaînette, non-sporulant aéro-anaérobie facultative, catalase négative, métabolisme habituellement fermentatif. La fasciite nécrosante est une maladie potentiellement grave atteignant les tissus cutanés profonds. Elle est la plupart du temps causée par une bactérie du type streptocoque A (**Paul, 2004**).

On distingue ainsi les streptocoques β -hémolytiques qui lysent les hématies avec destruction complète du stroma globulaire autour des colonies, les streptocoques α hémolytiques qui ne provoquent qu'une lyse incomplète avec souvent un reflet verdâtre au milieu de la culture (*Streptococcus viridans*) et enfin les streptocoques non hémolytiques (**Académie Nationale de pharmacie, 2017**).

II.5.4. Les entérocoques

Les *Enterococcus* appartiennent à un genre différent des streptocoques, bien qu'ils s'en rapprochent par certains caractères, notamment l'aspect morphologique et le métabolisme de type anaérobie. La présence chez les entérocoques d'un acide teichoïque de la paroi porteur de l'antigène D les rapproche plus particulièrement des streptocoques du groupe D. Ils sont des cocci Gram positif, se présentent sous forme de cellules isolées, par paire ou encore en chaînette oxydase positif, généralement catalase négatif. Certaines espèces présentent une activité pseudo-catalase. Ils sont généralement des anaérobies facultatifs et non mobiles. Ils peuvent être pathogènes opportunistes et sont alors responsables d'infections urinaires, d'infections abdominales d'origine intestinale, de septicémies ou d'endocardites à porte d'entrée urinaire, génitale ou intestinale (**Bouvet, 2013**).

II.5.5. *Clostridium* sulfite-réducteurs

Ceux sont des bacilles à Gram positif, anaérobie strict, fermentatif, se trouvent notamment dans le sol et les intestins de l'homme et autres animaux, certaines espèces sont pathogènes (**Paul, 2004**).

Ces bactéries contiennent des endospores qui provoquent généralement leur déformation (**Tortora et al., 2003**). Si les spores germent dans des tissus anaérobies, les bactéries se développent et sécrètent la toxine à qui dégrade le tissu musculaire. Cette multiplication s'accompagne souvent d'une accumulation de gaz (principalement de l'hydrogène résultant d'une fermentation des glucides) et de produits toxiques provenant de la dégradation des tissus musculaires. Les *Clostridium perfringens* sont le plus souvent retrouvés dans les plaies peu graves (**Prescott et al., 2010**).

II.5.6. Les staphylocoques

Le staphylocoque est l'un des pathogènes bactériens les plus importants dans la pratique clinique (**Bagnoli et al., 2018**). Ce sont des cocci à Gram positif classiquement disposés en amas. L'espèce la plus importante est *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). Les autres staphylocoques appelés staphylocoques à coagulase négative (SCN). *S. aureus* produit de nombreuses toxines qui contribuent à sa pathogénicité en accroissant sa capacité à pénétrer dans l'organisme et les tissus. Elle est responsable aussi bien d'infections communautaires que nosocomiales par opposition, les SCN sont en règle générale des bactéries opportunistes essentiellement responsables d'infections nosocomiales. Leur transmission intra ou interhumaine s'opère généralement par contact direct. Plus rarement, elle peut être indirecte à

partir d'une source environnementale (vêtements, draps, matériels médicaux) (**Verdier et al., 2015**).

En outre, *S .aureus* a la capacité de devenir rapidement résistante aux antibiotiques tel que l'oxacilline ce qui rend cette bactérie redoutable pour les patients hospitalisés (**Tortora et al., 2003**).

II.6. La prévention

Les patients à risque doivent être éduqués en ce qui concerne les facteurs de risque et l'importance des soins du pied, incluant l'auto-inspection et la surveillance, l'hygiène quotidien, l'utilisation des chaussures adaptés, le bon contrôle glycémique et la reconnaissance précoce des lésions nécessitant une prise en charge spécialisée (**Schols et al., 2009**).

Deuxième partie :

Partie pratique

Matériel et Méthodes

III. Matériel et Méthodes

Le matériel utilisé est constitué de : la verrerie, l'appareillage et différents réactifs (voir : **Annexe 02**).

III.1. Objectifs

Les objectifs de ce travail sont :

- ✓ Isolement et identification biochimique des principales souches bactériennes responsables des infections du pied diabétique des patients admis à l'EPH Mohamed Boudiaf et la maison du diabète.
- ✓ Déterminer la fréquence des bactéries pathogènes responsables de l'infection du pied diabétique de différents patients.

III.2. Type, période et lieu de l'étude

Ce travail est une étude épidémiologique, analytique et prospective. Elle a été réalisée sur une période d'un mois (du 2^e Février au 5 Mars 2020) chez 20 patients admis au niveau de l'Hôpital Mohammed Boudiaf et la maison de diabète de Ouargla, suite à une infection du pied diabétique.

III.2.1. Présentation du site de l'étude

❖ EPH Mohammed Boudiaf

L'hôpital d'Ouargla est situé au centre de la ville. Il s'étale sur une superficie globale de 18199 mètres carrés et sa capacité peut atteindre les 625 lits et 17 services avec 30 lits chacun. L'hôpital est constitué de plusieurs services.

❖ Maison de diabète

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

❖ Données recueillies

Ce travail a été effectué grâce à des fiches d'exploitation préalablement établies, comportant pour chaque patient diabétique les données nécessaires à notre étude. Elles comprennent (**Tableau 02**) :

- ✓ Nom et Prénom.
- ✓ L'âge.
- ✓ Le sexe.

- ✓ Le type de diabète.
- ✓ Le type d'ulcère.
- ✓ Le traitement.

Tableau 02 : Présentation des cas étudiés et l'ensemble des caractéristiques correspondantes.

Patients	Sexe	Age	Type de diabète	Type d'ulcère	Traitement diabétique
P 1	H	67 ans	II	Cedème	Prend des ATB
P 2	H	69 ans	II	Plaie simple	Sans ATB
P 3	H	45 ans	II	Plaie simple	Prend des ATB
P 4	H	68 ans	II	Plaie causée par brûlure	Prend des ATB
P 5	H	44 ans	II	Plaie causée par brûlure	Prend des ATB
P 6	H	56 ans	II	Plaie simple	Prend des ATB
P 7	H	64 ans	II	Plaie simple	Prend des ATB
P 8	H	60 ans	II	Plaie simple	Prend des ATB
P 9	H	63 ans	II	Plaie simple	Prend des ATB
P 10	H	58 ans	II	Plaie simple	Prend des ATB
P 11	F	71 ans	II	Plaie simple	Prend des ATB
P 12	H	52 ans	II	Plaie simple	Prend des ATB
P 13	H	56 ans	II	Pied amputé	Prend des ATB
P 14	H	41 ans	II	Plaie simple	Prend des ATB
P 15	H	63 ans	II	Plaie simple	Prend des ATB
P 16	H	75 ans	II	Plaie simple	Prend des ATB
P 17	H	51 ans	II	Plaie simple	Prend des ATB
P 18	F	72 ans	II	Pied amputé	Prend des ATB
P 19	H	56 ans	II	Plaie simple	Prend des ATB
P 20	H	63 ans	II	Plaie simple	Prend des ATB

F : Femme ; H : Homme ; P : Patient ; ATB : Antibiotiques.

III.3. Protocole de l'étude

Le protocole de l'étude est présenté dans la **Figure 05** :

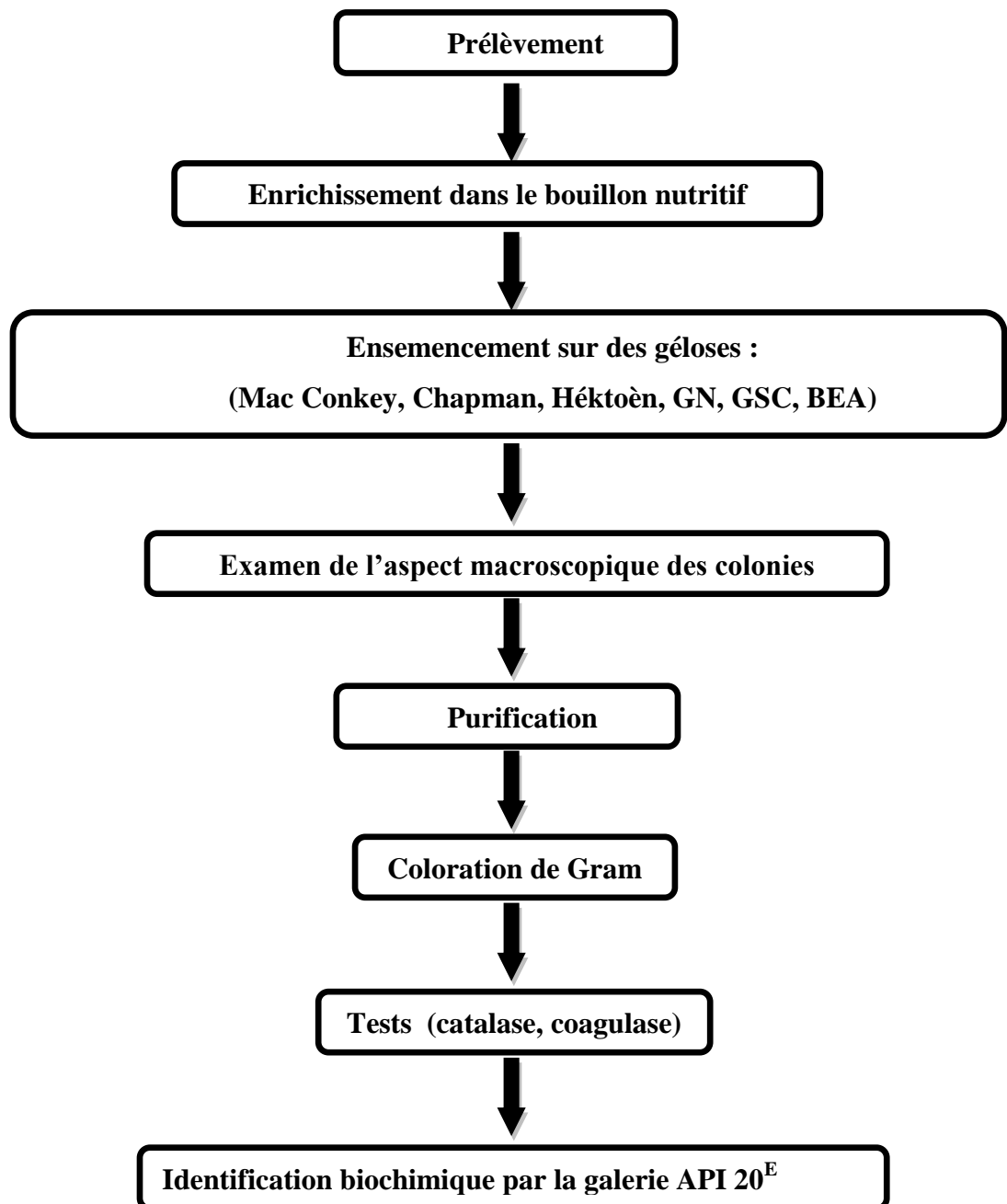


Figure 05 : Schéma de la démarche suivi au cours d'étude.

III.4. Méthodes

III.4.1. Phase de prélèvement

III.4.1.1. Lieux et méthodes utilisées pour les prélèvements

❖ préparation de la plaie des pieds infectés

Avant tout prélèvement, la plaie doit être préparée :

- ✓ On réalise un débridement au moyen d'une curette ou d'un scalpel stérile. Il faut éliminer les parties molles nécrosées, les tissus dévitalisés et contaminés et les tissus fibreux.
- ✓ Ensuite, la plaie doit être nettoyée avec une compresse stérile imbibée de sérum physiologique stérile pour l'élimination de la flore bactérienne colonisante (**Lipsky, 2004**).

❖ Technique de prélèvement

Le prélèvement est la clé d'un diagnostic bactériologique. Il doit être effectué dans les meilleures conditions d'asepsie bactériologique. Parmi les méthodes utilisées, on a choisi la méthode d'écouvillonnage.

➤ L'écouvillonnage

Après nettoyage, on procède à l'écouvillonnage qui consiste à passer un écouvillon de coton (écouvillon stérile) sur une surface de 1 cm² de la lésion infectée dans un mouvement de zigzag combiné à une rotation. Ensuite, on a replacé l'écouvillon délicatement dans son tube par un bouillon nutritif d'enrichissement (BN) pour enrichir immédiatement les prélèvements réalisés (**Denis, 2011 ; Chibi, 2015**). Ce prélèvement doit être pratiqué lors de plaies superficielles (**Calhoun *et al.*, 2002 ; Dow G, 2003 ; Ramparany, 2016**) (**Annexe 03**).

❖ Transport des prélèvements

L'acheminement des échantillons au laboratoire doit être effectué dans les deux heures qui suivent le prélèvement et dont l'analyse doit être immédiate (**Denis, 2011**).

III.4.2. Ensemencement et isolement

Dans cette étude, la recherche est focalisée sur les bactéries les plus fréquemment responsables d'infection de la plaie : les bacilles à Gram négatifs et les cocci à Gram positifs (les entérocoques, les staphylocoques, les streptocoques).

❖ Technique d'ensemencement

L'ensemencement est réalisé par la mise sur les milieux de cultures d'une goutte de pus (gélose Mac Conkey, gélose Chapman, gélose nutritive(GN), gélose Bile Azide Escultine (BEA), gélose au sang cuit (GSC), gélose Héктоèn) (voire la **Figure 06**).

Chaque culture fraîche, obtenue sur BN a été ensemencée sur les milieux suivants :

- **Gélose nutritive** : ce milieu permettant la culture des bactéries peu exigeantes (www.foodscience.bio-rad.fr).
- **Le milieu de Mac Conkey**: permet d'isoler les bactéries à gram négatif, grâce à l'action des deux inhibiteurs le cristal violet et les sels biliaires (**Biokar, 2009**).
- **La gélose Héктоèn** : est un milieu pour l'isolement des entérobactéries, deux indicateurs sont présents dans le milieu : le bleu de bromothymol (indicateur de pH), la fuschine acide (qui se colore en présence d'aldéhyde) (www.foodscience.bio-rad.com).
- **Le milieu de Chapman** : est un milieu sélectif, permettant la croissance des germes halophiles, la forte concentration en chlorure de sodium inhibe la croissance de la plupart des bactéries autres que les staphylocoques (**Bio-Rad, 2007 ; Chibi, 2015**).
- **Gélose au sang cuit** : c'est un milieu d'isolement enrichi sur lequel les streptocoques se développent bien. Il permet la lecture du caractère hémolytique (www.foodscience.bio-rad.fr).
- **Gélose Bile Azide Escultine** : est un milieu utilisé pour la recherche des entérocoques (**Chibi, 2015**).

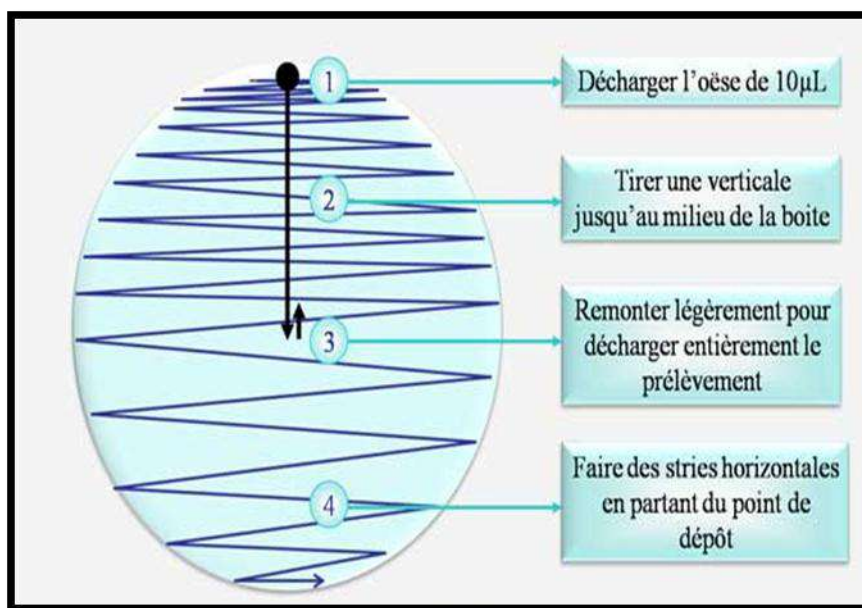


Figure 06 : Technique d'ensemencement par stries (www.Mimobio.fr).

❖ Isolement et purification

Après l'incubation des milieux ensemencés pendant 24h à 48h à 37°C, on procède à la purification des colonies bactériennes par ré-isolement (repiquage) successif sur les milieux solides (les mêmes milieux d'isolement), afin d'obtenir la pureté des souches avant d'entamer l'identification. La composition et le mode de préparation des milieux qui ont servi à la présente étude sont rapportés en détail dans l'**Annexe 04**.

III.4.3. Identification bactérienne

L'identification des souches purifiées est réalisée en suivant une procédure de plusieurs étapes successives, basées sur la recherche et la détermination d'un certain nombre de caractères:

- ✓ Morphologiques (coloration de Gram).
- ✓ Physiologiques (catalase et coagulase).
- ✓ Biochimiques (galeries Api 20^E).

III.4.3.1. Aspects macroscopiques

L'identification macroscopique est une étude basée sur l'observation macroscopique des colonies directe à l'œil nu, constituée par des milliards de descendants d'une seule cellule bactérienne et permet de décrire la taille, l'aspect, la forme, la couleur, la consistance, le contour et l'opacité des colonies. L'étude de l'aspect des colonies nécessite l'observation à l'œil nu (**Danis et al., 2007**).

L'observation des colonies est une description directe faite sur boîtes d'isolement, permettant au moins une distinction des souches les unes des autres afin de les purifier.

III.4.3.2. Aspects microscopiques

❖ Coloration de Gram (double coloration)

La coloration de Gram est une étape clé dans ce travail. Cette étape est essentielle pour apprécier la présence et la morphologie des germes, comme elle permet de diviser le monde bactérien en deux grandes catégories (Gram positif, Gram négatif). Cette division est principalement liée à une différence de structures chimiques de la paroi cellulaire bactérienne (Delarras C, 2007 ; Romdhane, 2011 ; Solbi, 2013).

❖ Technique

1) Préparation d'un frottis

- ✓ Déposer une goutte d'eau physiologique stérile sur une lame propre.
- ✓ Prélever une colonie bien isolée à l'aide d'une pipette pasteur stérile, en étalant bien la goutte sur la lame par un mouvement régulier et circulaire.
- ✓ Laisser sécher le frottis : passer 3 fois la lame dans la petite flamme (veilleuse) du bec bunsen pour fixer l'échantillon à la chaleur.

2) L'étape de coloration

Sur le frottis fixé :

- ✓ Déposer quelques gouttes de violet de Gentiane, laisser agir pendant 1 minute. Jeter l'excès de colorant.
- ✓ Laver très brièvement en faisant couler de l'eau sur la lame au-dessus du frottis (pas directement sur le frottis).
- ✓ Recouvrir la lame d'une solution de lugol, laisser agir durant 1 minute. Jeter la solution de lugol.
- ✓ Rincer la lame brièvement à l'eau.

3) L'étape de décoloration

- ✓ Décolorer en faisant couler de l'alcool (90%) sur la lame jusqu'à ce que le violet ne s'écoule plus du frottis (5 à 10 secondes)
- ✓ Lavage à l'eau.

4) L'étape de recoloration

- ✓ Déposer quelques gouttes de fuchsine, laissé agir pendant 30 secondes à 1minute (Figure 07).
- ✓ Laver à l'eau puis sécher entre deux feuilles de papier filtre, puis à la chaleur.

5) La lecture

Au microscope optique :

- ✓ Observation microscopique (objectif x 100), les bactéries à Gram positive apparaissent en violet foncé et les Gram négatifs ont une coloration rose (Danis *et al.*, 2007).



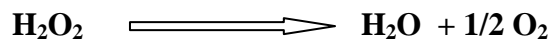
Figure 07 : les réactifs utilisés dans la coloration de gram.

III.4.3.3. Tests physiologiques

a) Test catalase

❖ Principe

La catalase est une enzyme qui catalyse la décomposition de l'eau oxygénée H_2O_2 (peroxyde d'hydrogène) en H_2O et O_2 . Elle empêche l'accumulation d' H_2O_2 qui est un produit toxique pour le métabolisme aérobie de nombreuses bactéries. Selon la réaction suivante :



La recherche de catalase est utilisée systématiquement pour la différenciation des staphylocoques dotés d'une catalase positive et les entérobactéries dotés d'une catalase négative (Jaouhar, 2017).

❖ **Technique**

Pour chaque souche, une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes est déposée sur une lame stérile, et on y ajoute une colonie prélevée directement avec une pipette pasteur en milieu gélosé (Joffin & Layeral, 2005 ; Chaala, 2013).

❖ **Lecture**

Le dégagement des bulles gazeux indique la présence de catalase, donc la bactérie est dite catalase positive. Par contre l'absence de dégagement des bulles de gaz montre un test négatif, donc la bactérie est dite catalase négative.

b) Test coagulase❖ **Principe**

La coagulase ou staphylocoagulase est une enzyme capable de faire la coagulation du plasma sanguin. Ce test permet la différenciation des espèces du genre *Staphylococcus*.

❖ **Technique**

La détection de cette enzyme (la coagulase) s'est effectuée en mélangeant dans un tube à essai avec 0,5 ml de plasma humain et 0,5 ml d'une culture de staphylocoques de 24h en bouillon nutritif. Porter le mélange à l'étuve à 37°C et incuber pendant 24 h. Les souches de *S. aureus* provoquant la coagulation du plasma le plus souvent dans les trois premières heures. La formation d'un coagulum indique un test positif (Afissa, 2014).

❖ **Lecture**

-Coagulation du plasma \implies coagulase positive \implies *S. aureus*.

-Pas de coagulation du plasma \implies coagulase négative \implies staphylocoque à coagulase négative (autre espèces du staphylocoque).

III.4.3.4. Identification biochimique par la galerie API 20^E❖ **Principe**

La galerie API 20^E (Figure 08 et Figure 09) comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés par une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites durant l'incubation se traduisent par un virage coloré spontané par l'addition des réactifs (Bahlouli et Idiri, 2015).

❖ **Technique : Préparation de la galerie**

- A l'aide d'une pipette, prélever une seule colonie bien isolée à partir du milieu de culture. Utiliser préférentiellement des cultures jeunes (18-24 heures).
- Réaliser une suspension bactérienne dans un tube contenant 10 ml d'eau physiologique stérile, en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu.
- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau physiologique ou déminéralisée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Introduire la suspension dans les tubes de la galerie à l'aide de la même pipette (pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant).
- Pour les tests CIT, VP, GEL, remplir tube et cupule.
- Pour les autres tests, remplir uniquement les tubes (et non les cupules).
- Pour les tests : ADH, LDC, ODC, H₂S, URE créer une anaérobiose en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
- Refermer la boîte d'incubation.
- Incuber à 36 °C ± 2°C pendant 18-24 heures.

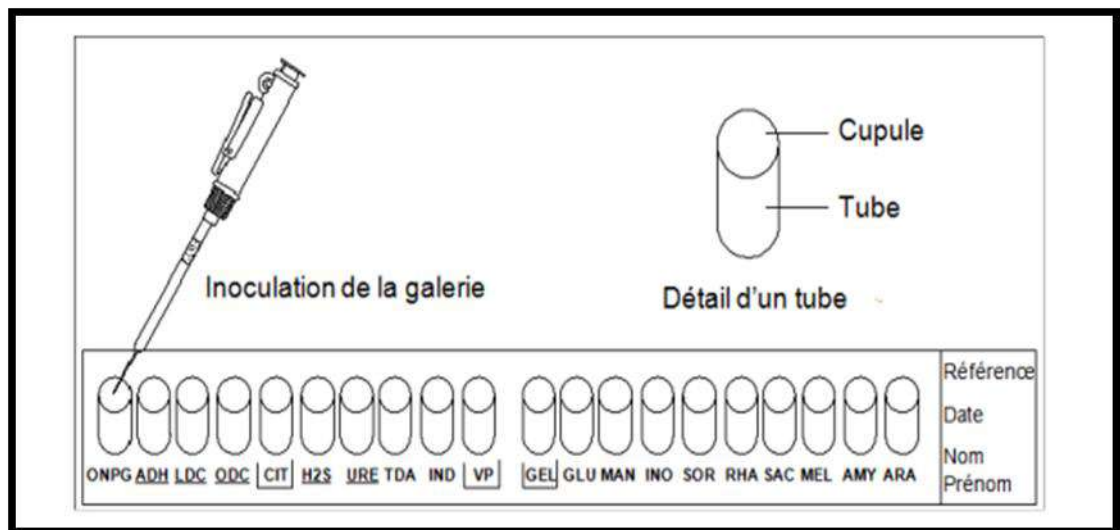


Figure 08 : Remplissage de la galerie API 20^E ([www.bio-top.net /Microbio/tp/Api.htm](http://www.bio-top.net/Microbio/tp/Api.htm)).

❖ Lecture :

- ✓ La lecture de la galerie doit se faire en se référant au code de lecture, l'identification est obtenue à l'aide d'un tableau d'interprétation et la fiche des résultats de la galerie API 20^E sont illustrés dans les **Annexes 05** et **06**.



Figure 09 : La galerie API 20^E.

Résultats et discussion

IV. Résultats et discussion

IV.1. Résultats

IV.1.1. Répartition des résultats selon les facteurs étudiés

Les résultats effectués sur les 20 prélèvements ont été établis en fonction des paramètres : l'âge, le sexe, type de diabète, la culture bactérienne.

IV.1.1.1. Selon la tranche d'âge

L'âge moyen des patients était de 65 ans. La répartition des malades en fonction des différentes tranches d'âge observées a été illustrée et représentée dans l'Annexe 07 et la Figure 10. Il existe une prédominance des tranches d'âge de 60 à 70 ans et de 50 à 60 ans. Ce là correspond respectivement à 40% et 30% de la population étudiée.

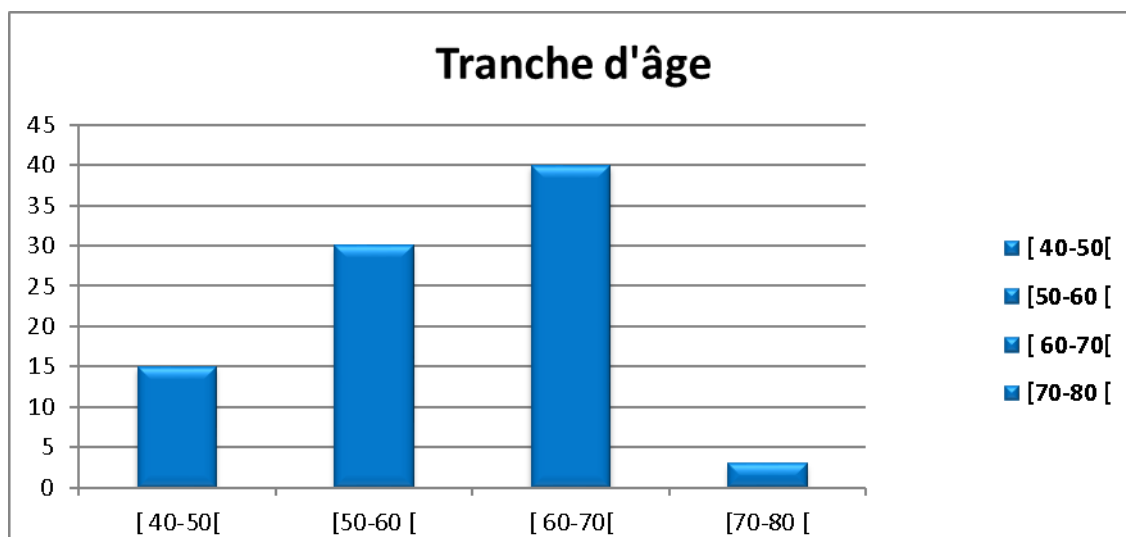


Figure 10 : Répartition des patients selon la tranche d'âge.

IV.1.1.2. Selon le sexe

La répartition de la population (Homme/Femme) est hétérogène. D'après les résultats obtenus, l'Annexe 08, Figure 11 : on observe une prédominance masculine, soit : 18 Hommes (90 %) et de 2 Femmes (10%).

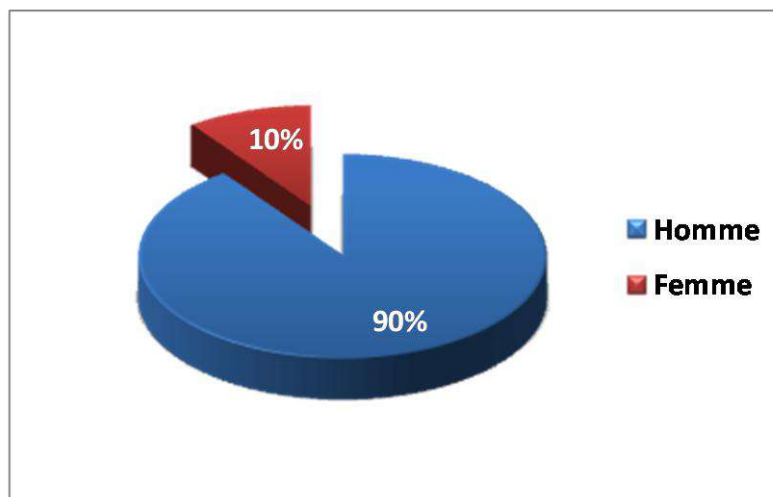


Figure 11 : Répartition des patients selon le sexe.

IV.1.1.3. Selon le type de diabète

Dans cette étude, la totalité des patients diabétiques présente un diabète de type 2 (Annexe 09, Tableau 03).

Tableau 03 : Répartition des patients selon le type de diabète.

Type de diabète	Type I	Type II
Les patients	Aucun cas	20
Pourcentage	0%	100%

IV.1.2. Résultats de l'analyse microbiologique

Après réalisation de l'écouvillonnage sur les plaies superficielles, on procède à l'étude bactériologique des échantillons.

IV.1.2.1. Résultats préliminaires des prélèvements de pus

Les résultats obtenus au cours de l'étude montrent que sur les 70 prélèvements de pus du pied diabétique effectués on a enregistré 53 cultures positives avec un taux de 75.71%. Les 17 cultures restants représentent un taux de 24.28 %, ces derniers sont négatifs (Annexe 10, Figure 12).

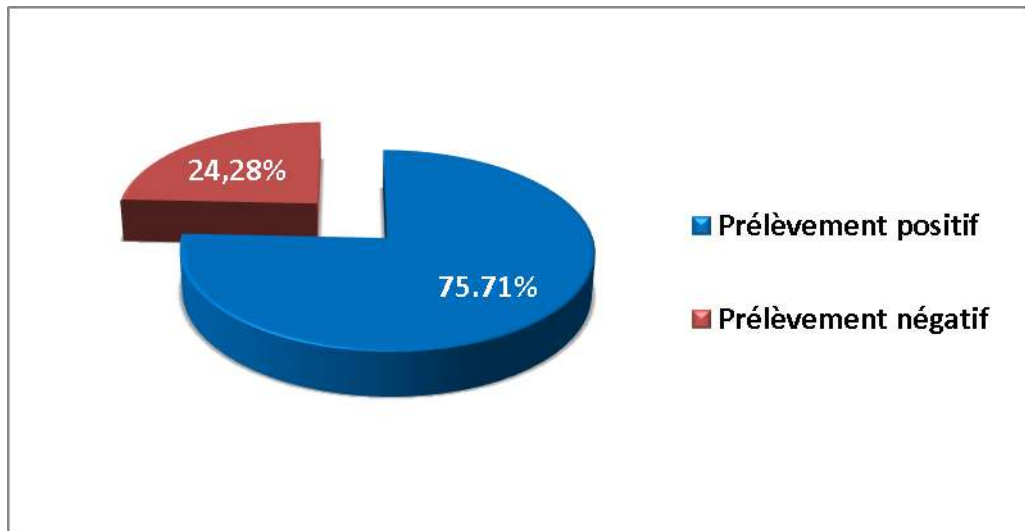


Figure 12 : Répartition des prélèvements de pus positifs et négatifs.

IV.1.2.2. Nature des cultures microbiennes obtenues

Après l'isolement et l'identification des différentes bactéries, les résultats mentionnés dans l'**Annexe 11** et la **Figure 13** montrent que sur les 59 prélèvements réalisés une fréquence de 20,33% (12 cas) des cultures poly-microbiennes. Par contre, un taux de 79,66 % représente des cultures mono-microbiennes (47 cas).

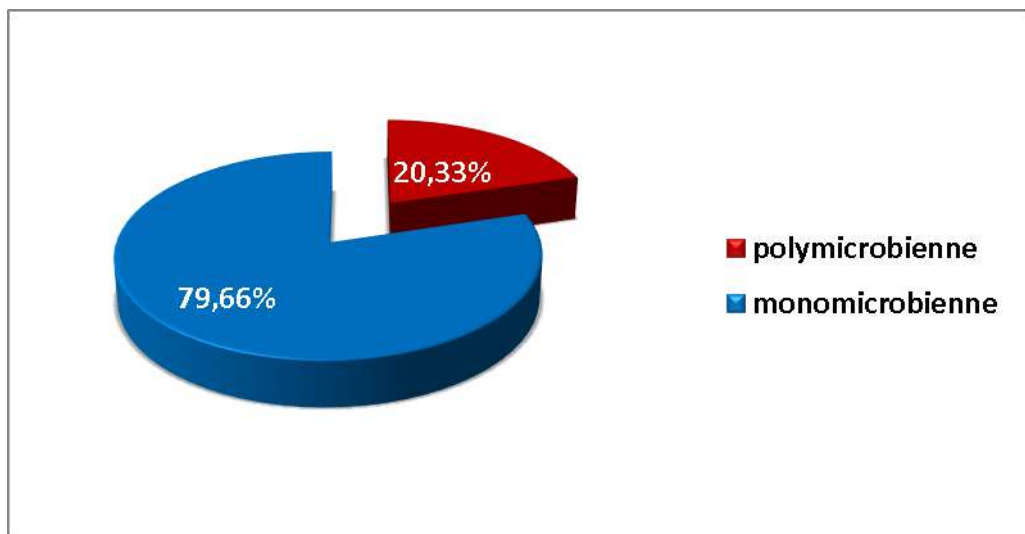


Figure 13 : Distribution des résultats selon le caractère poly ou mono-microbien des bactéries isolées.

IV.1.2.3. Identification morphologique des souches isolée

IV.1.2.3.1. Etude macroscopique

L'étape 1^{ère} du diagnostic bactérien et du biotypage d'une souche est la description macroscopique des colonies isolées.

- ❖ **Aspect sur gélose ordinaire** : petites colonies blanchâtres aux diamètres variables, ces colonies sont bombées et d'un bord régulier (**Figure 14**).

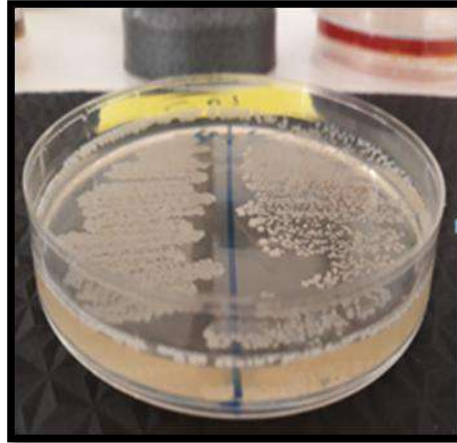


Figure 14 : Aspects des colonies sur le milieu de culture (GN).

- ❖ **Sur gélose au sang cuit** :

La présence des colonies de certains streptocoques se traduit par un halo : c'est le caractère hémolytique avec 2 types :

- Alpha : halo verdâtre.
- Beta : halo claire (**Figure 15**).



Figure 15 : Aspects des colonies sur milieu gélose au sang cuit (halo claire).

❖ Sur milieu Mac conkey :

L'observation macroscopique a donnée plusieurs types de colonies :

Des petites colonies opaques ou bien mates, lisses, Bombées ou légèrement bombées avec un bord régulier et parfois irrégulier.

Après la purification des (04) prélèvements d'une période d'incubation de 24 h sur milieu Mac Conkey. **(Figure 16)** On observe :

- ✓ Un tapis des colonies, brillantes avec une couleur beige rosâtre, bombées d'un bord régulier dans le prélèvement N°17.
- ✓ Des colonies vertes avec un bord irrégulier dans le prélèvement N°15.
- ✓ Des colonies jaunes (incolores), d'un bord irrégulier dans le prélèvement N°14.
- ✓ La présence des colonies de couleur rose foncé dans le prélèvement N°13.
 - La présence des colonies roses : acidification du milieu, indique que la bactérie fermente le lactose (lactose+).
 - La présence des colonies jaunes ou incolores : pas d'acidification du milieu, indique que la bactérie ne fermente pas le lactose (lactose-).

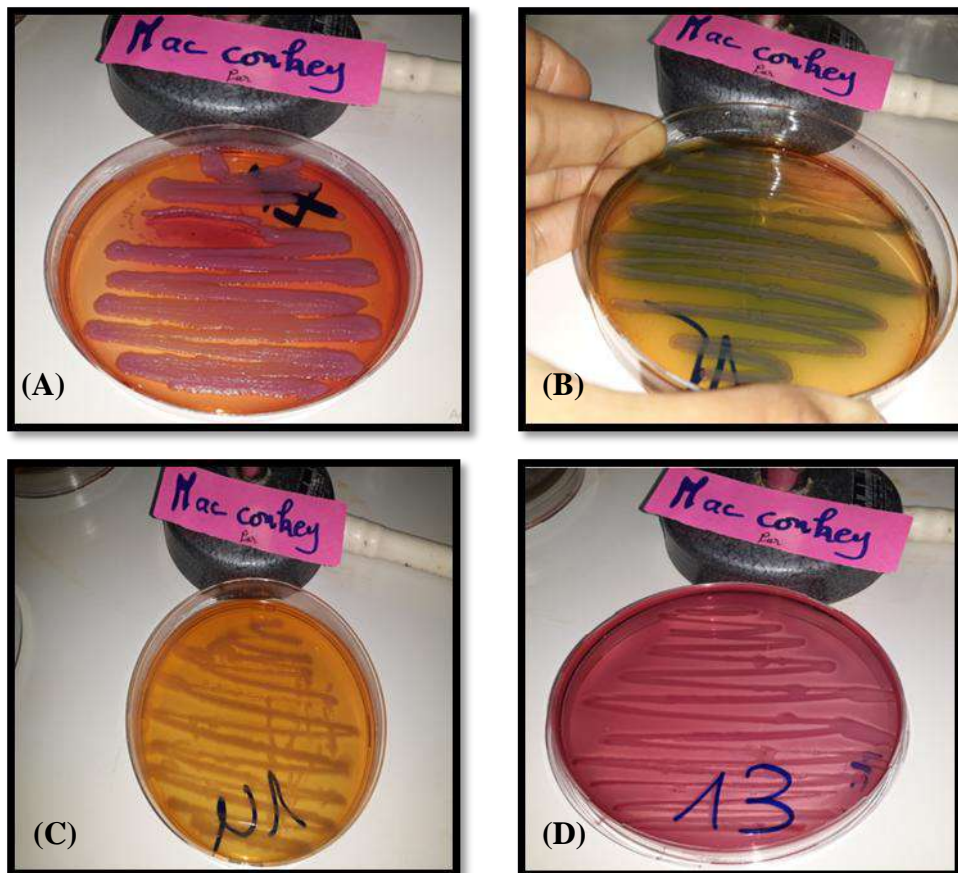


Figure 16 : Aspects des colonies sur milieu Mac Conkey.

(A) Le prélèvement N°17 ; (B) Le prélèvement N°15 ; (C) Le prélèvement N°14 ; (D) Le prélèvement N°13

❖ Milieu Chapman :

Ce milieu est un milieu sélectif des bactéries halophiles et plus particulièrement les bactéries fermentant le mannitol.

➤ Aspect des colonies

Après l'incubation de la culture des 19 prélèvements purs sur milieu Chapman, on a observé des colonies qui apparaissent pigmentées typiquement en jaune doré, crémeuses de diamètre 1 à 2 mm dans les boîtes N°04, 06, 07, 09, 10, 11, 12, 14, 15, 16 et 18 avec un virage de couleur de milieu de culture au jaune qui indique la fermentation de mannitol (mannitol +), ex (le prélèvement N°4, *S. aureus*). Les autres colonies des prélèvements N°02, 03, 05, 08, 13, 17, 19 et 20 sont de couleur blanchâtre sans virage de couleur de milieu donc absence de fermentation de mannitol (mannitol -), ex (le prélèvement N°3: Staphylocoque blanche) (Figure 17).

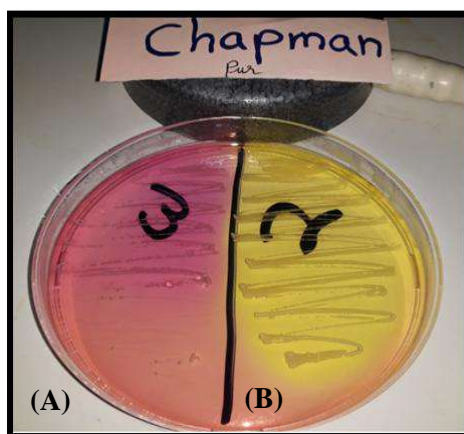


Figure 17 : Aspects des colonies sur milieu Chapman enrichi de mannitol.

(A) Le prélèvement N°3: Staphylocoque blanche ; (B) Le prélèvement N°4: *Staphylococcus aureus*

❖ Milieu Héктоэн :

Après la purification des 12 prélèvements d'une période de 24h sur milieu Héктоэн (Figure 18), on observe :

- ✓ Des colonies jaunes saumon et bombées dans les prélèvements N° 3, 4, 6, 13, 14 et 17.
- ✓ Des colonies vertes avec un centre noir, bombées dans les prélèvements N° 2, 15, 16 et 18.
- ✓ Dans les prélèvements N°11 et 12 : les couleurs des colonies bombées (vertes-bleuâtres).

- Des colonies jaunes : indiquent que la bactérie fermente des glucides qui sont présents dans le milieu (acidification du milieu).
- Des colonies vertes ou bleu : indiquent que la bactérie ne fermente pas les glucides (pas acidification du milieu).

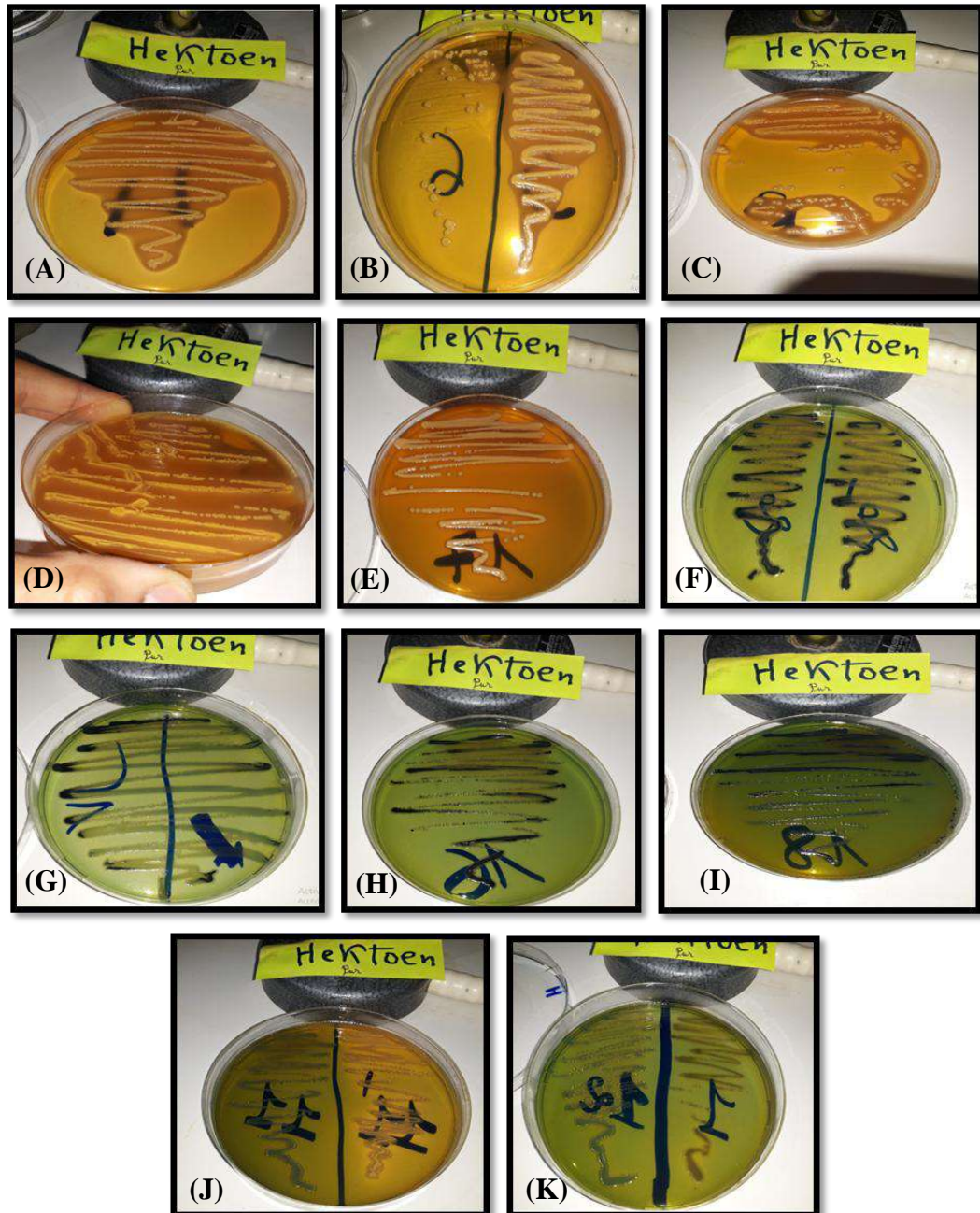


Figure 18 : Aspects des colonies sur milieu Héктоэн.

(A) Le prélèvement N°4 ; (B) Le prélèvement N° 6 et 3 ; (C) Le prélèvement N°13 ; (D) Le prélèvement N°14 ; (E) Le prélèvement N°17 ; (F) Le prélèvement N°2; (G) Le prélèvement N°15 ; (H) Le prélèvement N°16; (I) Le prélèvement N°18 ; (J) Le prélèvement N°11; (K) Le prélèvement N°12

❖ Milieu BEA :

Après la purification des 05 prélèvements avec une période d'incubation de 24h sur milieu BEA (**Figure 19**), on observe :

- ✓ Des petites colonies translucides brillantes entourant d'un halo noir dans les prélèvements N° 11.
- ✓ Dans le prélèvement N° 15: des petites colonies translucides brillantes sans halo noir.
- ✓ Des colonies marron entourant d'un halo noir dans les prélèvements N° 16, 17, 12 et 18.
 - Présence d'un halo noir : indique que la bactérie hydrolyse l'exuline (exuline +).
 - Absence de halo noir : indique que la bactérie n'hydrolyse pas l'exuline (exuline-).

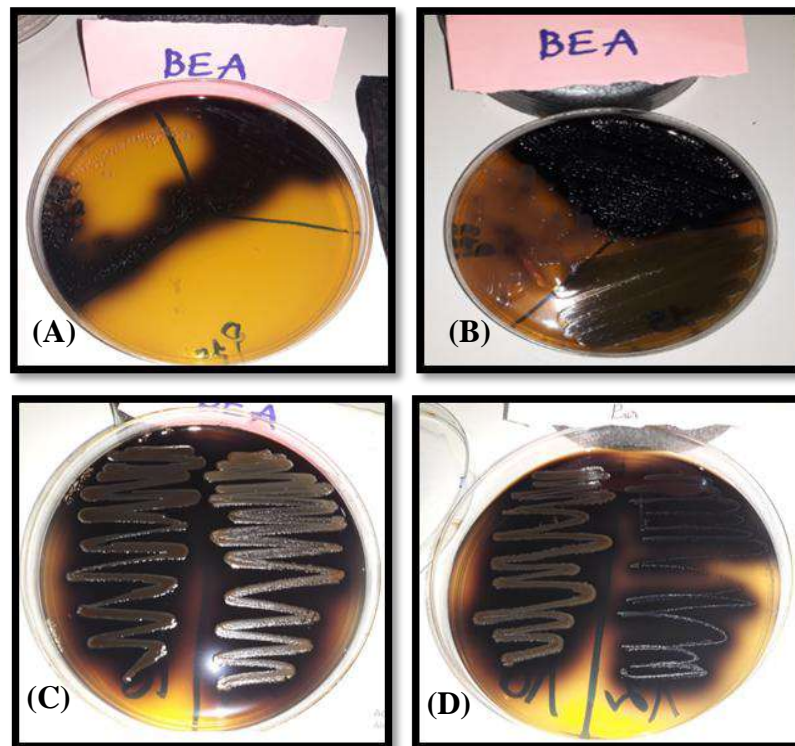


Figure 19 : Aspects des colonies sur milieu BEA.

(A) Le prélèvement N°11 ; (B) Le prélèvement N°15 ; (C) Le prélèvement N°16 et 17 ; (D) Le prélèvement N°12 et 18

IV.1.2.3.2. Etude microscopique

❖ Coloration de Gram

Après réalisation de la coloration de Gram, on observe les colonies isolées sur milieux de culture. Sur Chapman, nous avons observé des Cocci en grappes de raisin à Gram positif. Les colonies isolées des milieux Mac Conkey et Héктоèn sont sous forme des bacilles à gram négatif (**Figure 20**).

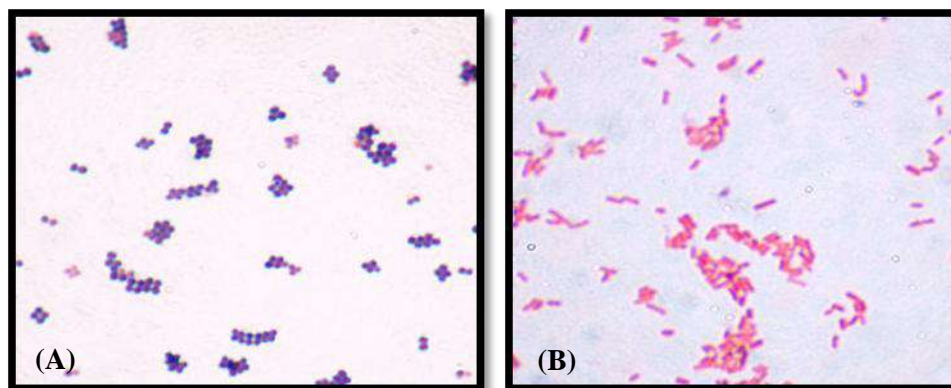


Figure 20 : Observation microscopique après coloration de gram (Grossissement x100).

(A) *Staphylococcus aureus* ; (B) *Escherichia coli*

❖ Répartition de la flore bactérienne selon la coloration de Gram

Les résultats mentionnés dans l'Annexe 12 et la Figure 21 indiquent que les bactéries à Gram positif sont les plus dominantes avec un taux de 60%, alors que le pourcentage des bactéries à Gram négatif est de 40%.

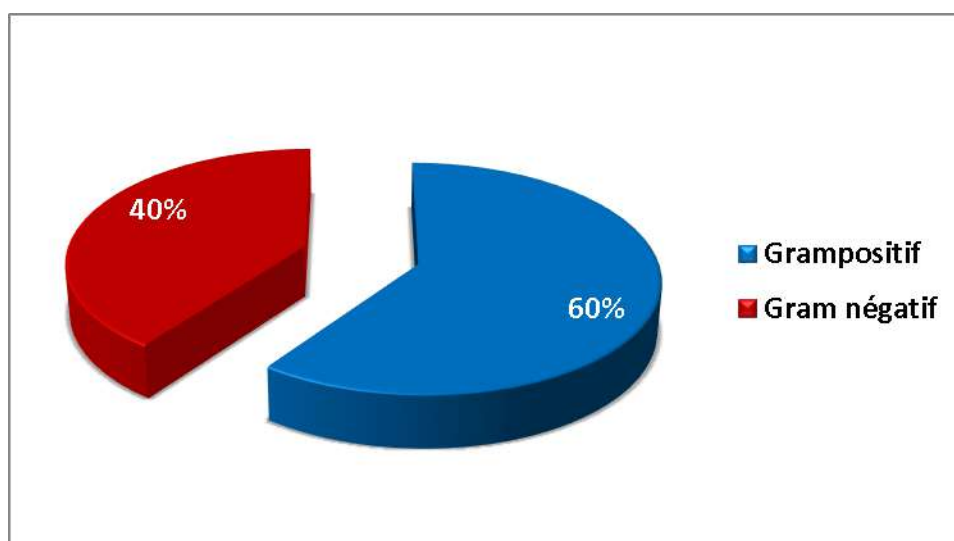


Figure 21 : Répartition des cultures bactériennes selon la coloration de Gram.

IV.1.2.3.3. Identification biochimique

IV.1.2.3.3.1. Identification des Gram négatifs

❖ Galerie API 20^E

- ✓ Résultats d'identification biochimique des colonies prélevées des milieux Mac Conkey et des milieux Héктоèn a l'aide de galerie API 20^E (1, 2, 3, 6, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18) (Figure 22).



L'espèce : *Xantho-Maltophilia*



L'espèce : *Proteus mirabilis* (les prélèvements N° 2 et 15)



L'espèce : *Citrobacter amalonaticus*



L'espèce : *Escherichia coli* (les prélèvements N° 6 et 13)

Figure 22 : Résultat de l'identification biochimique par galerie API20^E.



L'espèce : *Listonella damsela*



L'espèce : *Morganella morganii*



L'espèce : *Proteus vulgaris* (les prélèvements N° 2 et 15)



L'espèce : *Providencia rettgeri*



L'espèce : *Klebsiella pneumoniae*

Figure 22 (suite) : Résultat de l'identification biochimique par galerie API20^E.

IV.1.2.3.3.2. Identification des Gram positifs

❖ Test de la catalase

Toutes les bactéries Gram positif, isolées sur milieu Chapman ont une catalase positive (Figure 23 et Figure 24).



Figure 23 : Test de catalase positive : cas de *Staphylococcus aureus*.



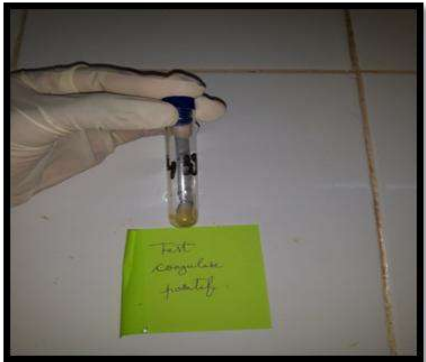
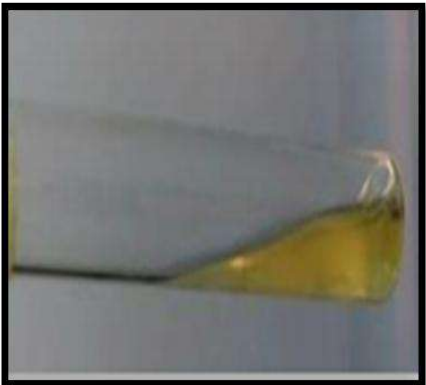
Figure 24 : Test de la catalase négative : cas des Streptocoques et les Entérocoques.

❖ Test de caogulase

Parmi les 20 souches de staphylocoques isolées des pieds infectés, seules 10 souches présentent une coagulase positive (Tableau 04).

- *S. aureus* : coagulase positive.
- Staphylocoque à coagulase négative (blanc) : coagulase négative.

Tableau 04 : Résultats de la lecture du test de coagulase.

Observation	Interprétation	Conclusion
 <p style="text-align: center;">coagulase +</p>	Présence de l'enzyme coagulase dans l'inoculum ajouté au plasma sanguin	La bactérie présente dans l'inoculum est une <i>Staphylococcus aureus</i> , la seule capable de produire la coagulase et la formation de coagulum. Elle est dite coagulase +
 <p style="text-align: center;">coagulase -</p>	Absence de l'enzyme coagulase dans l'inoculum ajouté au plasma	La bactérie est incapable de produire une coagulase. Elle est dite coagulase -

IV.1.3. Répartition des souches bactériennes identifiées du pied diabétique

Les résultats des 20 prélèvements représentés dans le tableau ci-dessous montrent que les bactéries *S. aureus* ont été isolées dans 11 prélèvements, Staphylocoque blanc dans 8 prélèvements. Ensuite, dans 6 prélèvements on a *Enterococcus sp.* Puis *P. vulgaris* dans 5 prélèvements, *P. mirabilis*, *Streptococcus sp.* Ont été trouvées dans 4 prélèvements, *E. coli* dans 2 prélèvements ainsi que pour *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*), *P. rettgeri* dans 2 prélèvements. *Citrobacter amalonaticus* (*C. amalonaticus*), *Listonella damsela* : *L. damsela*, *Morganella morganii* (*M. morganii*), *Xantho-Maltophilia* ont été isolées dans un seul prélèvement (voir : **Tableau 05**).

Tableau 05 : Résultats des souches bactériennes dans les 20 prélèvements de pieds diabétiques.

N° des prélèvements.	Les souches bactériennes identifiées.
1	- <i>Xantho-Maltophilia</i>
2	-Staphylocoque blanc - <i>Proteus mirabilis</i> (2 souches)
3	- Staphylocoque blanc - <i>Citrobacter amalonaticus</i>
4	- <i>Staphylococcus aureus</i>
5	- <i>Staphylococcus aureus</i>
6	- <i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Escherichia coli</i>
7	- <i>Staphylococcus aureus</i>
8	- Staphylocoque blanc
9	- <i>Staphylococcus aureus</i>
10	- <i>Staphylococcus aureus</i>
11	- <i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Listonella damsela</i> - <i>Streptococcus sp</i>
12	- <i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Morganella morganii</i> - <i>Enterococcus sp</i>
13	- Staphylocoque blanc - <i>Escherichia coli</i> (2 souches) - <i>Streptococcus sp</i>
14	- <i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Proteus vulgaris</i> (2 souches) - <i>Enterococcus sp</i>
15	- <i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Proteus mirabilis</i> (2 souches) - <i>Streptococcus sp</i>

Tableau 05 (suite): Résultats des souches bactériennes dans les 20 prélèvements de pieds diabétiques.

N° des prélèvements.	Les souches bactériennes identifiées.
16	- <i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Providencia rettgeri</i> (2 souches) - <i>Enterococcus sp</i>
17	- Staphylocoque blanc - <i>Klebsiella pneumonia</i> (2 souches) - <i>Enterococcus sp</i> (2 souches)
18	- <i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Proteus vulgaris</i> (2 souches) - <i>Streptococcus sp</i> - <i>Enterococcus sp</i>
19	- Staphylocoque blanc
20	- Staphylocoque blanc

La **Figure 25** et l'**Annexe : 13** présentent le pourcentage d'apparition des bactéries isolées dans les 20 prélèvements.

La distribution des souches pathogènes prélevées à partir des plaies infectées du pied diabétique présente une prédominance de *S. aureus* à un pourcentage de 22 % des germes isolés, suivie des souches de staphylocoque à coagulase négative (staphylocoque blanc) (16%), ensuite le taux de l'espèce *Enterococcus sp* avec 12 %, *Proteus vulgaris* : *P. vulgaris* (10 %).

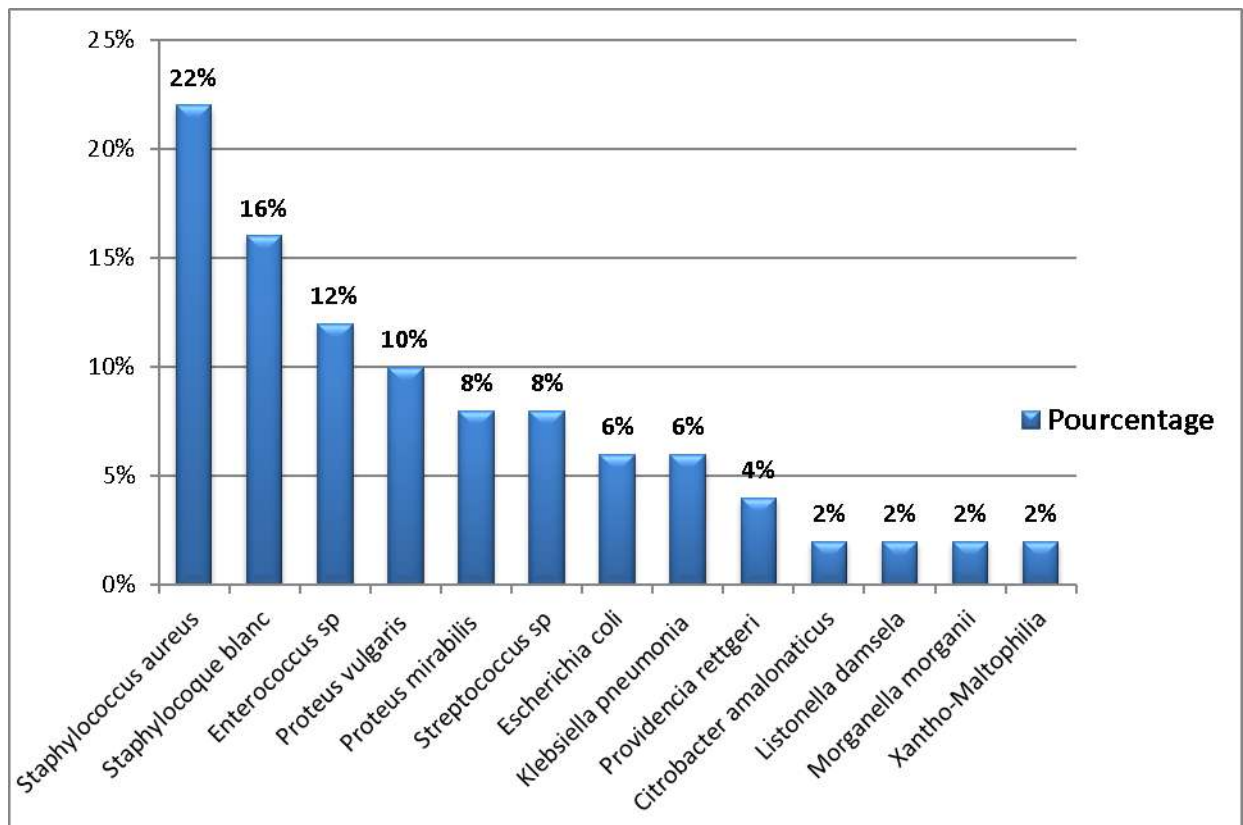


Figure 25 : Pourcentage d'apparition des souches bactériennes identifiées selon les prélèvements.

IV.2. Discussion

L'infection du pied diabétique est une atteinte fréquente (**Darbellay et al., 2011**). Elle constitue un problème majeur de santé publique grâce à ces conséquences graves sur les sujets diabétiques atteints (**Fincke et al., 2010**). Les ulcères du PD nécessitent un bilan étiologique précis puisque c'est la cause de 85% de l'amputation des membres inférieurs (**Ha Van, 2008**).

Dans cette étude, l'âge moyen des 20 patients était de 65 ans. Il concorde avec l'âge trouvé dans la littérature. Le nombre de patients le plus important est celui des tranches d'âge de 60 à 70 ans et de 50 à 60 ans, elles correspondaient respectivement à 40% et 30%. Cette catégorie d'âge était dominante de la tranche d'âge ≥ 60 ans chez 57,54% des cas d'une étude faite par Yahia-Berouiquet en 2008 sur les plaies du pied chez les diabétiques au niveau de CHU de Tlemcen et selon Mezhoud et Khalfallah, au niveau de l'hôpital militaire régional universitaire de Constantine (HMRUC) en 2018. L'âge moyen des patients hospitalisés était de 65 ans (**Yahia-Berrouiquet, 2008 ; Mezhoud et Khalfallah, 2018**). Ceci peut être expliqué car l'âge avancé est un facteur classique de risque. Donc, les personnes âgées vivant avec le diabète pour une longue durée sont les plus susceptibles de développer un ulcère du pied.

Selon les résultats trouvés, il existe une prédominance masculine avec un taux de 90% (18 Hommes) contre 10% (2 Femmes). En comparant avec l'étude réalisée par **Faraoun et al., 2013** au niveau du CHU d'Oran où le sexe masculin était prédominant dans l'atteinte du pied diabétique avec 57.60% et 56.55% de l'étude de **Yahia-Berrouiquet, 2008** réalisée au niveau du service de médecine interne au CHU de Tlemcen. Ce qui concorde avec l'étude réalisée par **Lamchahab et col.**, où le sexe masculin était prédominant de l'atteinte du pied diabétique avec un pourcentage de 83.33% de 45 patients (**Lamchahab et al., 2011 ; Ibrahim et al., 2012**). Ceci peut être expliqué par :

- Le fait que les Hommes respectent moins le régime alimentaire que les femmes (**Grimaldi, 2005**).
- Les facteurs de risque multiples chez l'Homme dans notre pays par rapport à la Femme, représentés essentiellement par son activité particulière favorisant des microtraumatismes (activité physique régulière, port de brodequins) (**Kavan, 2004**).
- Le tabagisme masculin prédominant est aussi un facteur de risque de développer des complications chez les personnes diabétiques telles que le pied diabétique, diminution

de l'oxygénation de la plaie et anomalies de la coagulation dans les petits vaisseaux sanguins (**Bertoglio, 2005**).

- Cette prévalence de sexe masculine s'explique par le mauvais suivi thérapeutique. Les raisons sont multiples : la non acceptation du diabète, la tradithérapie (**Quassimi, 2015**). Elle pourrait être expliquée aussi par le fait que les Femmes sont plus assidues et minutieuses dans les soins (**Grimaldi, 2000**).

Dans notre étude, la totalité des 20 patients diabétiques avaient le diabète de type 2 avec un taux de 100%. Cette valeur concorde avec les fréquences retrouvées dans les autres études. Ces résultats sont confirmés par l'étude réalisée au niveau de service d'endocrinologie CHU d'Oran en 2013 et le service de Dermatologie à l'Hôpital militaire Moulay Ismail de Meknès en 2015 respectivement où le diabète de type 2 est le prédominant chez les deux sexes, 93.58% contre 91.03%, ainsi que 87.76% de diabète de type 2 contre 6% de diabète 1 (**Faraoun et al., 2013 ; Quassimi, 2015 ; Moussa et al., 2016**). Ceci est due du fait que plusieurs facteurs de risque sont étroitement associés à l'apparition de ce type de diabète (diabète type 2), à savoir un excès de poids (l'obésité) et l'absence d'activité physique (**Krzywicki, 2011**).

Concernant l'analyse bactériologique, sur 70 prélèvements réalisés 75.71% sont positifs pour 53 prélèvements, 24.28% sont négatifs pour 17 prélèvements. Ces résultats sont éloignés de ceux rapportés par **Oztem (2006)** en Turquie où les pourcentages des prélèvements positifs et négatifs est de 35.2% et 28.2% respectivement (**Oztem, 2006**). Aussi, ces pourcentages se rapprochent des données d'une étude réalisée au niveau de l'EPH-Mohamed Boudiaf à Ouargla par **Gasmi et Sahraoui (2018)** qui montre que 90.6 % des pus analysés sont positifs. Les 10 prélèvements de pus ont été déclarés négatifs (absence d'infection) avec un pourcentage de 10 %.

Ces résultats montrent que la fréquence des cultures positives est beaucoup plus importante que celle des cultures négatives (**Figure 12**). Une étude réalisée à l'HMRUC en 2018 par **Mezhoud et Khalfallah** a montré que le nombre des cultures positives reste toujours prédominant avec 70.86 %.

Le résultat de cette étude montre que la plupart des cultures (59 prélèvements) étaient mono-microbiennes dans un taux de 79.66% (47 cas) et poly-microbiennes dans 20.33% (12 cas). Des résultats sont similaires à ceux de mon étude à l'hôpital de Kolea par (**Bounnaas & Meddour, 2005**) ont été rapportés par un taux de 62 % et à celui obtenu au

CHU de Blida par **Nakkab (2001)** qui a enregistré une fréquence de 59.15% a aussi objectivé la prédominance des cultures mono-microbiennes. Par contre, les résultats de **Lushiku (2006)** ont montré que l'infection du pied diabétique est souvent polymicrobiennes et inclut les bacilles à Gram négatif et positif surtout dans les cas chroniques. Le microbiote des plaies chroniques se constitue à partir de la flore cutanée, de l'environnement et des flores commensales des cavités avoisinant la lésion. Cette flore est donc mixte. Cela peut expliquer les plaies poly-microbiennes (**Recommandations pour la pratique clinique, 2007**).

La prédominance des bactéries Gram positif dans les infections du pied diabétique a aussi été signalé par **Dezfulian et al., (2011)** et **Kavitha et al., (2014)**. Cependant, **Djahmi et al., (2013)** signalent la prédominance des bactéries Gram négatif dans ces infections. Cette différence de résultats peut être expliquée par les techniques utilisées pour le prélèvement (**Uçkay et al., 2013**).

Cette étude est réservée à établir le profil bactériologique de l'infection des plaies chez les diabétiques. On a opté pour la technique de prélèvement par écouvillonnage adapté aux infections superficielles. Cette méthode (l'écouvillonnage) a été réalisée après un débridement de la plaie et un nettoyage au sérum physiologique (**Shaw et al., 2010 ; Ha Van, 2008 ; Iraj et al., 2013**). Afin d'enrichir les bactéries, l'écouvillon destiné à la mise en culture a été plongé immédiatement après prélèvement dans un bouillon nutritif qui joue un double rôle d'enrichissement direct administré en première intention pour réduire son effet pendant l'acheminement de prélèvement au laboratoire. Toutefois, on a introduit dans cette étude bactériologique la mise en culture avec un procédé de recherche des bactéries dans des milieux spécifiques (**Praz & Houriet, 2002**).

La méthode écouvillonnage a été utilisée dans notre étude puisque l'écouvillon est souvent utile pour évaluer les contaminants sur une petite surface, il permet d'identifier si une tâche visible est constituée des bactéries (**laboverdict, laboratoire accrédité**).

Les résultats de l'identification biochimique des bactéries ont révélé une diversité des espèces isolées à partir des pieds diabétiques. Dans cette étude, les prélèvements positifs prédominants sont des souches *S. aureus* avec un pourcentage de 22%, suivie de 16 % de staphylocoque à coagulase négative, 12 % des *Enterococcus sp*, 10% *P. vulgaris*, 8% pour les *P. mirabilis*, *Streptococcus sp*, avec 6% (*E. coli* et *k. pneumonia*), 4% pour *P. rettgeri* et 2% pour chacune des espèces suivantes : *C. amalonaticus*, *L. damsela*, *M. morgani*, *Xantho-Maltophilia*. Cela est confirmé par l'étude effectuée par **Akhi et al.** en 2015 en Iran qui

montre que la bactérie aérobie prédominante isolée des pieds diabétiques était *S. aureus* à 28% pour les cocci gram positif ; suivie de la famille des enterobacteriaceae à 24% pour les bacilles gram négatif (**Lushiku, 2006 ; Akhi et al., 2015**).

Plusieurs études réalisées sur ce sujet objectivent que le *S. aureus* est la bactérie la plus pathogène fréquemment isolée dans les infections du pied diabétique. Dans 57 % des cas au CHU d’Auvergne, Clermont-Ferrand, dans 17,28% des cas au CHU de Sétif, Algérie (**Prompers et al., 2007**) et dans 54,8%, des Casa au CHU Marrakech (**Tesfaye et al., 2005**). Ce résultat est également identique à celui de mon travail (**Saseedharn et al., 2018 ; Lavery et al., 2006 ; M’Bemba et al., 2014**). Ce germe est le plus isolé quand il s’agit d’une plaie chronique (récente) (**Grosjean et al., 2009**).

Conclusion

Conclusion

Les infections de pied diabétique (IPD) sont un problème majeur de santé publique, c'est une complication fréquente silencieuse et grave du diabète. Elles sont responsables d'une grande morbidité avec le risque de l'amputation des membres inférieurs.

Cette étude montre que plusieurs facteurs augmentent le risque des infections du pied diabétique : le sexe masculin, la tranche d'âge élevée (de 60 à 70 ans) et l'atteinte avec le diabète de type II.

Les résultats de l'étude bactériologique ont montré que :

S. aureus est présente dans 22% des germes isolés, suivie de 16 % des staphylocoques à coagulase négative (SCN), ensuite des *Enterococcus sp* présente avec 12 %, 10% pour *P. vulgaris*, 8% pour les *P. mirabilis* et *Streptococcus sp*, 6% représentée par *E. coli* et *k. pneumonia*, 4% pour *P. rettgeri* et enfin 2% pour chaque une des espèces suivantes : *C. amalonaticus*, *L. damsela*, *M. morganii*, *Xantho-Maltophilia*.

D'après nos résultats, on déduit que l'atteinte infectieuse de pied diabétique est monobactérienne dans la majorité des cas. Cette infection est prédominée par les bactéries de Gram positif (BGP) suivie par les bactéries de Gram négatif (BGN).

Ce travail doit être suivi par des études plus approfondies qui doivent être basés sur :

- Etaler la durée de l'étude pour pouvoir sélectionner un nombre important de bactéries et procéder par la suite à la sélection des souches d'intérêt (bactéries multi-résistantes).
- Approfondir l'identification par des tests biochimiques et moléculaires.
- Etudier l'effet de certaines huiles essentielles sur nos souches bactériennes d'intérêt.
- Etudier l'activité antagoniste que possèdent certains microorganismes contre nos souches bactériennes identifiés avec un large spectre d'antibio-résistance.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- **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, Algérie. p.24-28.
- **Abdesselam, A., Bendaoudir. (2017).** Dosage des minéraux chez des rats diabétiques recevant un régime supplémenté en micro-algue verte (spiruline). Université de Tlemcen. Diplôme de master en Biologie << Physiopathologie cellulaire >>. p04.
- **Académie Nationale de pharmacie. (2017).**
- **Afissa, H, S. (2014).** Etude de l'antibiorésistance des souches de staphylocoques isolées à partir des dispositifs médicaux à l'hôpital de Mohamed Boudiaf Ouargla. (Mémoire de master, Université Kasdi Merbah-Ouargla.
- **Ait Lhaj Ou Said, Z. (2014).** Prise en charge en milieu d'urgence du pied diabétique [En ligne]. Thèse de doctorat en médecine. Université de Médecine et de Pharmacie Marrakech.p.2-38.
- **Akhi, M. T., Ghotaslou, R., Asgharzadeh, M., Varshochi, M., Pirzadeh, T., et al. (2015).** Bacterial etiology and antibiotic susceptibility pattern of diabetic foot infections in Tabriz, Iran. *GMS hygiene and infection control*, 10.
- **Amara, I., Khaldi, Z. (2015).** Isolement, identification et étude de l'antibiorésistance des souches bactériennes isolées à partir de services de réanimation et d'hémodialyse de CHU Ouargla (Mémoire de master). Université Ouargla.
- **American Diabetes Association. (2013).** Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*, 36(Suppl 1), S67.
- **Andrew S, Powlson P, Anthony P. (2010).** The treatment of diabetic foot infections. 65(3) : p3–9.
- **Atlas, D. (2015).** International diabetes federation. *IDF diabetes atlas*. Brussels: International Diabetes Federation.
- **Badri G, Tahri N. (2016).** Aspect bactériologique des infections du pied diabétique. Mémoire de master : Microbiologie appliquée à la santé et à l'environnement. Université de Larbi Tébessi-Tébessa. 34p.
- **Bagnoli, F., Rappuoli, R., & Grandi, G. (Eds.). (2018).** *S. aureus: microbiology, pathology, immunology, therapy and prophylaxis* (Vol. 409). Springer.

- **Bahlouli, S., Idiri, N. (2015).** Criblage de souches d'entérobactéries productrices de carbapénèmes au niveau des laboratoires d'analyses médicales de la wilaya de Béjaia. (Mémoire de master). Université A. mira – Bejaia.
- **Ben Haj Khalifa A, Moissenet D, Vu Thien H, Khedher M. (2011),** Les facteurs de virulence de *P. aeruginosa*. mécanismes et modes de régulations. In Annales de biologie clinique (Vol. 69, No. 4, pp. 393-403).
- **Bernard L et al. (2007).** Recommandations pour la pratique clinique. Prise en charge du pied clinique infecté .Med Mal inf 37 :26-50.
- **Bertoglio, J. (2005)** .Diabétique du sevrage tabagique chez le diabétique. Dabetes voice volume 50, p : 36-39.
- **Biokar. (2009).**Gélose de Mac Conkey. www.solabia.com.
- **Bio-Rad. (2007).**Chapman - mannitol sait agar. www.afnor-validation.org.
- **Boukhemis, A., Boutersa, A. (2015).** Identification et antibiorésistance de souches d'*E. coli* et de *K. pneumoniae* des infections urinaires à l'aide des moyens classiques et des moyens automatisés. (Mémoire de master). Université des Frères Mentouri Constantine.
- **Bounaas, I., Meddour Y. (2005).** Etude cytot bactériologique des divers pus, Hôpital de Kolea. Thèse soutenue le 02.10.2005. Université de Saad Dahleb.p :71-73.
- **Bousseboua, H. (2002).** Techniques d'étude des bactéries. Dans Microbiologie générale.
- **Bouvet, A. (2013).** Cours bactériologie médicale streptocoques-entérocoque.
- **Buffet, C., & Vatieer, C. (2010).** Endocrinologie diabétologie nutrition. Edition Masson Paris p :15-177.
- **Calhoun, J. H., Overgaard, K. A., Stevens, C. M., Dowling, J. P., & Mader, J. T. (2002).** Diabetic foot ulcers and infections: current concepts. Advances in Skin & Wound Care, 15(1), 31-42.
- **Chaal, W. (2013).** Occurrence et profil d'antibioresistance des *S. aureus* isolée De produits alimentaires (Thèse de doctorat). Université d'Es-senia Oran.
- **Chibi, A. (2015).** Evaluation de formation de biofilm par *Pseudomonas aeruginosa* et *S. aureus* isolées de CHU Tlemcen (Mémoire de master). Université de Tlemcen.
- **Chidiac, C., Bru, J. P., Choutet, P., Decazes, J. M., Dubreuil, L., Leport, C., ... & Weinbreck, P. (2007).** Recommandations pour la pratique clinique Prise en charge du pied diabétique infecté Texte long. Médecine et maladies infectieuses, 37, 26-50.

- **Craig, M. E., Jefferies, C., Dabelea, D., Balde, N., Seth, A., & Donaghue, K. C. (2014).** Definition, epidemiology, and classification of diabetes in children and adolescents. *Pediatric diabetes*, 15(S20), 4-17.
- **Danis, F., Poly, M.C., Martin, C., Bingen, E. & Quentin, R. (2007).** Bacilles à Gram négatif non fermentaire, Genre *Pseudomonas*. In *Bacteriologie Médicale, techniques usuelle*, pp.330- 343. Edited by E. Masson.
- **Darbellay, P., Uçkay, I., Dominguez, D., Mugnai, D., Filtri, L., Lew, D., & Assal, M. (2011).** Traitement du pied diabétique infecté: une approche multidisciplinaire par excellence. *Revue médicale suisse*, (292), 894.
- **Delarras, C. (2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire: Aliments, produits cosmétiques, eaux, produits pharmaceutiques. Éditions Médicales Internationales, Lavoisier. Paris, p : 476.
- **Delarras, C. (2014).** Pratique en microbiologie de laboratoire ? Recherche des bactéries et de levures- moisissures, Édition lavoisier, Paris ISBN : 987-2-7430-1565-7.
- **Denis, F. (2011).** Bactériologie médicale technique usuelles Elsevier Masson, 2011 :430-524.
- **Dezfulian, A., Salehian, M. T., Amini, V., Dabiri, H., Rad, M. A., Aslani, M. M., ...& Zali, M. R. (2011).** Bacteriological study of diabetic foot infections in an Iranian hospital. *Iranian Red Crescent Medical Journal*, 13(8), 590.
- **Djahmi, N., Messad, N., Nedjai, S., Moussaoui, A., Mazouz, D., Richard, J. L., ... & Lavigne, J. P. (2013).** Molecular epidemiology of *S. aureus* strains isolated from inpatients with infected diabetic foot ulcers in an Algerian University Hospital. *Clinical Microbiology and Infection*, 19(9), E398-E404.
- **Djigui Diakit, D. (2007).** Complications métaboliques aiguës du diabète en milieu de réanimation au point «g» de janvier 2001 à décembre 2005. Thèse de médecine.p.29.
- **Dow, G. (2003).** Bacterial swabs and the chronic wound: when, how, and what do they mean? *Ostomy Wound Manage*, 49, 8-13.
- **Dumont I., Richard J.L. (2011).** Groupe International de Travail sur le Pied Diabétique Consensus International sur la Prise en Charge et la prévention du Pied Diabétique. 358.
- **Durand, A.C. (2012).** La sixième complication du diabète. Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire. [En ligne] Préparée à l'UFR d'odontologie de BREST.

- **Équipe de professionnels de la santé de Diabète Québec. (2014).** Diabète Québec.
- **Faraoun, K., Benasla, L., Tahar-Abbas, F., Fazaz, I., Sahnine, K., Benkhelifa, T., ...& Mohammedi, F. (2013).** P2061 Pied diabétique : aspects cliniques et facteurs favorisants selon le sexe. *Diabetes&Metabolism*, 39, A83.
- **Fincke, B. G., Miller, D. R., & Turpin, R. (2010).** A classification of diabetic foot infections using ICD-9-CM codes: application to a large computerized medical database. *BMC health services research*, 10(1), 192.
- **Geoffrey, K. (2005).** Rôle des sphingolipides dans la modification de la prolifération des cellules mésangiales rénales en réponse au produit avancé de glycation (AGE): implication dans le développement de la néphropathie diabétique (Doctoral dissertation, Thèse Doctorat en biochimie, Université Paris VII. Denis Didero. 31-97).
- **Grimaldi, A. (2000).** Diabétologie Questions d'internat Université Pierre et Marie Curie Faculté de médecine .p :142-10.
- **Grimaldi, A. (2005).**Traité de diabétologie. Tome 03 Edition Médecine science, Flammarion Paris. p : 733-766.
- **Grosjean, J., Clavé, D., Archambaud, M., & Pasquier, C. (2009).** Bactériologie et Virologie pratique. Groupe de Boeck. Bruxelles 55-170.
- **Guillet, C. (2010).** Implication des produits terminaux de glycation dans les complications liées au diabète. *Nutrition clinique et métabolisme*, 24(3), 109-114.
- **Gurnell, M. (2009).** Endocrinologie. De Boeck Supérieur. 144.
- **Ha Van, G. (2008).** Conduite à tenir face à une plaie du pied chez un diabétique. *La Revue de médecine interne (Paris)*, 29.
- **Haris, M., Rathur, MR., Andrew, JM., Boulton MD. (2007).**The diabetic foot. *Elsevier Clinics in Dermatology* 25, 109 – 120.
- **Ibrahim, H., Trabelsi, N., Fendri, N., Loukil, A., Trimeche, A., &Mami, F. B. (2012, September).** Études des facteurs de risque des lésions du pied chez le diabétique. In *Annales d'Endocrinologie (Vol. 73, No. 4, p. 388)*. Elsevier Masson.
- **International Diabetes federation IDF diabetes atlas 7ème ed Brussels. (2015).** Begium : international Diabetes federation. Disponible sur, ([http:// www. diabetes atlas.org /](http://www.diabetesatlas.org/)) (consulté le 30.01.2017).
- **Iraj, B., Khorvash, F., Ebnesahidi, A., &Askari, G. (2013).**Prevention of diabetic foot ulcer. *International journal of preventive medicine*, 4(3), 373-376.

- **Jacques, M ., Marie ,L., Agnès, H & Jocelyne B.(2015).** Médecine des maladies métaboliques, Revu de formation médicale contenue, société francophone du diabète al fediam, ELSEVIER MASSON, pp 11.
- **Jaouhar, M. (2017).** Validation d'un protocole de désinfection des surfaces d'un service hospitalier. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah Faculté des sciences et Techniques. Mémoire de master. 74p.
- **Jean-Pierre, Wainsten. (2009).** Larousse médical (5e èd). Paris, France.
- **Joffin, J.N., &Leyral G.(2005).** Microbiologie Technique. Tome 1 Dictionnaire des techniques. Académie de bordeaux et crdp d'Aquitaine, 171-189.
- **Joseph, J. J., & Golden, S. H. (2014).** Type 2 diabetes and cardiovascular disease: what next?. Current opinion in endocrinology, diabetes, and obesity, 21(2), 109.
- **Kahina, C. (2016).** Incidence de diabète de type 2 comportement alimentaire glucidique et lipidique. Mémoire Master recherche : Biologie Cellulaire Physio et Physiopathologie. P1-2-7-8-9-10-19-53-54.
- **Karam, Y. (2010).** La pratique de l'éducation thérapeutique des patients diabétiques par les médecins généralistes des ESSB: Cas de la délégation de Salé. Institut National D'Administration Sanitaire : Master de Management des Services de Santé.p: 1.
- **Kavan, A. (2004).** Chaussures thérapeutiques en prévention des ulcères du pied chez le diabétique. Minerrva, 3 (8), 126.
- **Kavitha, K. V., Tiwari, S., Purandare, V. B., Khedkar, S., Bhosale, S. S., &Unnikrishnan, A. G. (2014).** Choice of wound care in diabetic foot ulcer: a practical approach. World journal of diabetes, 5(4), 546 -556.
- **Keddad, A. (2017).** Epidémiologie du diabète dans le monde et en Algérie. Uncategorized.
- **KrzywicKi, C. (2011).**L'impact medical hospitalier de la prise en charge du pied diabétique .MASHEM.N° :157.
- **LA PRISE, E. C. D. P. (2011).** Caroline Pedgrift Krzywicki.
- **Laboverdict, laboratoire accrédité.** Écouvillons/Éponges Verdict se spécialise dans l'analyse d'échantillons d'air et de matériaux. Repéré à http://www.laboverdict.com/ecouvillonseponges.php?fbclid=iwar1cjdpstycnem_ggofcafffc8xazlwscv35nshmiq15xcmkbtu2mtk.

- **Lamchahab, F. Z., El Kihal, N., Khoudri, I., Chraibi, A., Hassam, B., et al. (2011).** Factors influencing the awareness of diabetic foot risks. *Annals of physical and rehabilitation medicine*, 54(6), 359-365.
- **Lavery, L. A., Armstrong, D. G., Wunderlich, R. P., Mohler, M. J., Wendel, C. S., et al. (2006).** Risk factors for foot infections in individuals with diabetes. *Diabetes care*, 29(6), 1288-1293.
- **Lecompte, S. (2012).** Etude du rôle du gène PROX1 dans le diabète de type 2 (Doctoral dissertation).
- **Léfrère, J. (2016).** Identification et profil de résistances de *Serratia marcescens* aux antibiotiques, Thèse de doctorat : Microbiologie. Université Badji Mokhtar-annaba. 142p.
- **Lipsky, B. A. (2004).** A report from the international consensus on diagnosing and treating the infected diabetic foot. *Diabetes/metabolism research and reviews*, 20(S1), S68-S77.
- **Lushiku, E. B. (2006).** Le pied diabétique. *Rev Med*, 27, S315-32.
- **M'Bemba, J., Aslangul, E., & Larger, E. (2014).** Le pied diabétique aux urgences. *Journal Européen des Urgences et de Réanimation*, 26(2), 87-96.
- **Madigan, M., & Martinko, J. (2007).** Brock. Biologie des micro-organismes. 11 e édition. Edition Person Education France, 599-601.
- **Malgrange, D. (2008).** Physiopathologie du pied diabétique. *La revue de médecine interne*, 29, S231-S237.
- **Margaret. (2014).** Charte du diabète pour le Canada, Document d'accompagnement, www.mydiabetescharter. pp 1.
- **Maroselli, C. (2002).** Le pied diabétique: physiopathologie, nouvelles thérapeutiques et place du pharmacien d'officine (Doctoral dissertation).
- **Marshall, W. J., Bangert, S. K., & Raynaud, E. (2005).** Biochimie médicale: physiopathologie et diagnostic. Elsevier.
- **Mathers, C. D., & Loncar, D. (2006).** Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS medicine*, 3(11), e442.
- **Mathieu, J. (2014).** Evaluation de l'apport d'un réseau dans la prévention du pied diabétique: bilan de l'action " Pied diabétique " menée par le réseau Diabcoeur en 2004 (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).
- **Ménat, E. (2005).** La diététique du diabète. Alpen Editions sam.

- **Mesmin, D. (2004).** Le pied diabétique. A report from the international consensus on diagnosing and treating the infected diabetic foot. B. A. Lipsky, Diabetes Metab Res Rev, pp 18.
- **Mezaache, S. (2012).** Localisation des déterminants de la suppression de quelques souches de *pseudomonas* isolées de la rhizosphère de la pomme de terre, (Doctoral dissertation, Université de Sétif 1-Ferhat Abbas).
- **Mezhoud Raoune, Khalfallah Narimene. (2018).** Profil de résistance des bactéries associées à l'infection du pied diabétique au niveau de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine (HMRUC) (Mémoire de Master). Université des Frères Mentouri Constantine.
- **Monnier & Fumat. (2010).** Monnier Louis; Fumat Carole. Diabétologie. Issy-les-Moulineaux : Elsevier Masson. 2010.
- **Moussa, M. B., Khalfallah, M., Boubaker, I. B. B., Nouira, R., Slim, A., et al. (2016).** Profil bactériologique et thérapeutique du pied diabétique infecté: étude prospective de 100 patients. Tunis Med, 94(2), 95-101.
- **Nakkab, S. (2001).** Examen cyto-bactériologique des pus cutanés et sous cutanés chez les diabétiques. EPH de Blida .Université de Saad Dahleb, p : 53-65.
- **Nam, H .2013 .**Atlas du diabète de la fid. Fédération Internationale du Diabète, 6eme édition, pp 22.
- **Noble, J. A., & Valdes, A. M. (2011).** Genetics of the HLA region in the prediction of type 1 diabetes. Current diabetes reports, 11(6), 533- 42.
- **OMS. (2018).**Diabète. [En ligne] 76.
- **OMS. Programme Diabète de l'OMS. (2017) .**www.who.int, diabètes.fr. [En ligne] 27 novembre. [Citation : 29 janvier 2017.] 3.
- **Ondoua, J. M. (2012).** Je me porte bien avec mon diabète. Un manuel d'éducation pour le patient diabétique et le public en Afrique: Un aide-mémoire pour le professionnel de santé. Editions L'Harmattan.
- **Organisation mondiale de la santé (OMS). (2016).**Aide-mémoire N°138.
- **Oztem, K. (2006).** Risk factors for infection of diabetic foot with multiantibiotique resistant microorganissms.
- **Paul, S. (2004).**Bactériologie. 6e édition. Dunod .Paris. pp513.
- **Pedgift, C. (2011).** L'impacte médical hospitalier de la prise en charge du pied diabétique.73.

- **Pers, P. J. O., Piver, B., Demoersman, J., & Beuzit, S. (2012).** La sixième complication du diabète.
- **Praz, G., & Houriet, P. (2002).** Infections et diabète: le pied diabétique: Maladies infectieuses. Médecine et hygiène, 60(2408), 1830-1834.
- **Prescott., Harley., Klein., Wiley., Sherwood et al.(2010)** .Microbiologie, 3^{ème} édition. Boeck Université .Paris, p965.
- **Prompers, L., Huijberts, M., Apelqvist, J., Jude, E., Piaggese, A., et al. (2007).**High prevalence of ischaemia, infection and serious comorbidity in patients with diabetic foot disease in Europe. Baseline results from the Eurodiale study. Diabetologia, 50(1), 18-25.
- **Qassimi, F. (2015).**Le pied diabétique : Expérience du service de dermatologie à l'Hopital Militaire Moulay Ismail de Meknes [En ligne]. Thèse de doctorat en médecine. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah Faculté de Médecine et de Pharmacie Meknes .p.90-92-107.
- **Québec, D. (2014).** Qu'est-ce que le diabète.
- **Rachel, L. (avril 2014).** Les pansements indications et utilisations recommandées. La vanelle.
- **Raja, N. S. (2007).** Microbiology of diabetic foot infections in a teaching hospital in Malaysia: a retrospective study of 194 cases. Journal of microbiology immunology and infection, 40(1), 39.
- **Ramparany, L. (2016).** Manuel de prélèvement des échantillons primaires version 4. Institut Pasteur de Madagascar.
- **Raverot, G. (2003).** Endocrinologie, métabolisme: examen national classant, 2e cycle des études médicales. Éd. du "Concours médical.
- **Recommandations pour la pratique clinique. (2007).** Prise en charge du pied diabétique infecté .Texte long.Médecine et maladies infectieuses 37, 26-50.
- **Richard, J. L., Sotto, A., Lemaire, X., Jourdan, N., Bouziges, N., et al. (2008).** Activité in vitro de l'ertapénème vis-à-vis de souches bactériennes isolées de plaies infectées du pied chez des patients diabétiques. Médecine et maladies infectieuses, 38(3), 146-152.
- **Romdhane, M. (2011).** Immobilisation des bactéries isolées à partir des zones minières sur des supports polymériques pour la bioremédiation (Mémoire de master). Université de Manouba.

- **Saseedharan, S., Sahu, M., Chaddha, R., Pathrose, E., Bal, A., et al. (2018).** Epidemiology of diabetic foot infections in a reference tertiary hospital in India. *Brazilian journal of microbiology*, 49(2), 401-406.
- **Schlienger, J. L. (2013).** Complications du diabète de type 2. *La Presse Médicale*, 42(5), 839-848.
- **Senneville, E. (2008).** Infection and diabetic foot. *La revue de médecine interne*, 29, S243.
- **Shaw, J. E., Sicree, R. A., & Zimmet, P. Z. (2010).** Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes research and clinical practice*, 87(1), 4-14.
- **Solbi, S. (2013).** Effet du repiquage de *Pseudomonas aeruginosa* sur les caractères morphologiques, biochimiques et sensibilités aux antibiotiques (Doctoral dissertation).
- **Stahl, P.J. (2006).** Recommandations pour la pratique clinique. Prise en charge du pied diabétique infecté. [En ligne]. Société de pathologie infectieuse de la langue française (SPILF) CHU de Grenoble.
- **Strainchamps, N. (2011).** Etude des marqueurs prédictifs de risque cardiovasculaire chez les patients diabétiques de type 2. Thèse Pour le doctorat en médecine Université Paris Descartes 72.
- **Schols JM, Heyman H, Meijer EP. (2009).** Nutritional support in the treatment and prevention of pressure ulcers: An overview of studies with arginine enriched oral nutritional supplement. *J Tissue Viability*; 18 : 72-9.
- **Tesfaye, S., Chaturvedi, N., Eaton, S. E., Ward, J. D., Manes, C., et al. (2005).** Vascular risk factors and diabetic neuropathy. *New England Journal of Medicine*, 352(4), 341-350.
- **Tortora, G., Funke, B., & Case, C. (2003).** Les maladies infectieuses du système digestif. Introduction à la microbiologie. Editions du Renouveau Pédagogique Inc (ERPI), Canada, pp348- 351.
- **Traore, B. (2007).** Problématique de la prise en charge des néphropathies diabétiques, dans le service de Néphropathie et d'hémodialyse d'hôpital du Point G au Mali. Thèse, Méd, 1-36.
- **Uçkay, I., Gariani, K., Pataký, Z., & Lipsky, B. A. (2013).** Diabetic foot infections: state-of-the-art. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 16(4), 305-316.
- **Vambergue, A. (2010).** Le diabète gestationnel. *Diabetes&Metabolism* (en anglais), 36(6), 511-700.

- **Vandeleene D., Leemrijse T. (2009).** Delmi M Le pied diabétique .In Valtin B. Leemrijse T. (Eds) pathologie du pied et de la cheville Masson , paris ; 635-656.
- **Verdier, I., Gérard, Lina, Yves, G., François V. (2015).** Cours de Bactériologie Médicale: *Staphylococcus*. <http://www.microbes>.
- **Wens, J., Sunaert, P., Nobels, F., Feyen, L., Van Crombruggen, P., et al. (2007).** Recommandations de Bonne Pratique: Diabète sucré de type 2. Société scientifique de médecine générale.
- **World Health Organization. (2014).** Global status report on noncommunicable diseases 2014 (No. WHO/NMH/NVI/15.1). World Health Organization.
- **Yahia-Berrouiguet, A. (2008).** P109 Les plaies du pied chez le diabétique: Épidémiologie et prise en charge au CHU Tlemcen. *Diabetes & Metabolism*, 34, H74.

Références électroniques

- <https://www.pinterest.com/pin> (consulté le : 11/05/2020)
- [www .Centre-podologique.com](http://www.Centre-podologique.com) (consulté le : 10/04/2020)
- www.bio-top.net /Microbio/tp/Api.htm (consulté le : 01/06/2020)
- www.caducee.net/DossierSpecialises/endocrinologie/diabete-sucre.asp#diagnostic (consulté le : 22/05/2020)
- www.foodscience.bio-rad.fr (consulté le : 23/05/2020)
- www.foodscience.bio-rad.com (consulté le : 07/08/2020)
- www.Mimobio.fr (consulté le : 19/08/2020)

Annexe

Annexe 01 :

Tableau 06 : Classification de l'infection des plaies du pied diabétique d'après le Consensus international sur le pied diabétique (Chidiac *et al.*, 2007).

Grade1	Pas de symptôme ni de signe d'infection
Grade2	Atteinte cutanée uniquement (sans atteinte des tissus sous-cutanés, ni systémique) avec au moins deux des signes suivants : <ul style="list-style-type: none"> ▪ Chaleur locale, sensibilité locale ou douleur ▪ Érythème > 0,5–2 cm autour de l'ulcère ▪ Tuméfaction locale ou induration ▪ Décharge purulente (sécrétion épaisse, opaque à blanchâtre ou sanguinolente) ▪ Les autres causes de réaction inflammatoire de la peau doivent être éliminées (par exemple : traumatisme, goutte, pied de Charcot aigu, fracture, thrombose, stase veineuse)
Grade3	Érythème > 2 cm et une des constatations décrites ci-dessus ou <ul style="list-style-type: none"> ▪ Infection atteignant les structures au-delà de la peau et du tissu sous-cutané, comme un abcès profond, une lymphangite, une ostéite, une arthrite septique ou une fasciite ▪ Pas de signes systémiques
Grade4	Quelle que soit l'infection locale, si présence de signes systémiques manifestés par au moins deux des caractéristiques suivantes : <ul style="list-style-type: none"> ▪ Température > 38 °C ou < 36 °C ▪ Fréquence cardiaque > 90 battements par minute ▪ Fréquence respiratoire > 20 cycles par minute ▪ PaCO₂ < 32 mm Hg ▪ Leucocytes > 12 000 ou < 4 000 /mm³ ; 10 % de formes leucocytaires immatures.

(%) : pourcentage indiquant le risque d'amputation.

Annexe 02: Matériel utilisé.

- ✓ Ecouvillons stériles
- ✓ Microscope optique
- ✓ Pipettes pasteurs
- ✓ Boîtes de pétries
- ✓ Etuve réglée à 37°C.
- ✓ Lames et lamelles
- ✓ Bec bunsen
- ✓ Bain marie
- ✓ Tubes à essai
- ❖ **Les milieux de culture**
- ✓ Gélose Mac Conkey (MAC)
- ✓ Gélose Chapman
- ✓ Gélose nutritive(GN)
- ✓ Gélose Bile Azide Escultine (BEA)
- ✓ Gélose au sang cuit(GSC)
- ✓ Gélose Héктоэн
- ❖ **Les produits liquides**
- ✓ Eau distillée
- ✓ Sérum physiologique (Bouillon nutritif)
- ❖ **Tests biochimiques**
- ✓ Galeries API 20^E
- ✓ Eau oxygénée à 10 volumes
- ❖ **Réactifs**
- ✓ Violet de Gentiane
- ✓ Lugol
- ✓ Alcool à 90°
- ✓ Fuschine
- ✓ Huile de vaseline
- ✓ VP1, VP2
- ✓ Réactif de Kovacs
- ✓ TDA (Perchlorure de fer)
- ✓ Nitrate réductase

Annexe 03 : Les sites de prélèvements



Patient 01



Patient 02



Patient 03



Patient 04



Patient 05



Patient 06



Patient 07



Patient 08



Patient 09



Patient 10



Patient 11



Patient 13



Patient 14



Patient 15



Patient 17

Figure 26 : Aspect clinique des plaies superficielles chez les patients diabétiques.

Annexe 04 : Milieux de culture**❖ Gélose nutritive (Bahlouli et idiri, 2015)**

Peptone.....	10.0g
Extrait de viande.....	5g
Chlorure de sodium.....	5g
Agar.....	10.0g

pH=7.3

Auto-clavé à 121C° pendant 20 min.

❖ Milieux Mac Conkey (Boutersa et boukhmis, 2015)

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

Stériliser à 121 °C pendant 15 min.

❖ Milieu de Chapman (Chibi, 2015)

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 : 120C° pendant 15min.²

❖ **Gélose au Sang (Bahlouli et idiri, 2015)**

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

❖ **Gélose Héктоèn (Amara et khaldi, 2015)**

Protéase peptone..... 12g

Extrait de levure3g

Lactose12g

Sucrose12g

Salicine2g

Mélange de sel biliaire..... 9g

Chlorure de sodium5g

Thiosulfate de sodium.....5g

Citrate d'amminium ferrique.....1.5g

Fuchsine acide0.1g

Bleu de bromothymol..... 0.065g

Agar..... 15g

pH = 7.5

❖ **Milieu Gélose Bile Esculine (Boutersa et boukhmis, 2015)**

Peptone17g

Tryptone pepsique de viande.....3g

Extrait de levure.....5g

Bile de bœuf.....10g























Chlorure de sodium.....5g

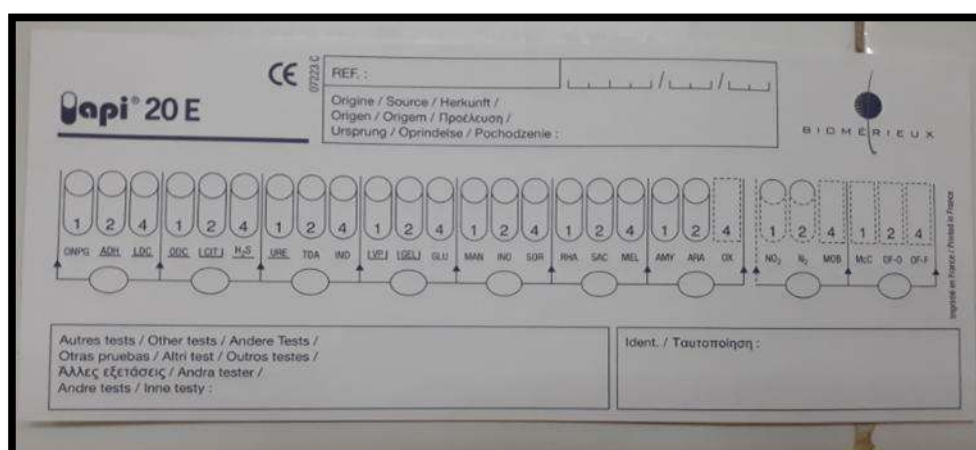
Citrate de sodium.....	1g
Esculine.....	1g
Citrate de fer ammoniacal.....	0.5g
Azide de sodium.....	0.25g
Agar.....	13.5g
pH = 7,1	

❖ **Bouillon nutritif (Amara et khaldi, 2015)**

Tryptone	10,0 g
Extrait de viande.....	5,0 g
Chlorure de sodium.....	5,0 g
pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,2.	

Annexe 05: Tableau de la lecture de la galerie biochimique API 20^E.

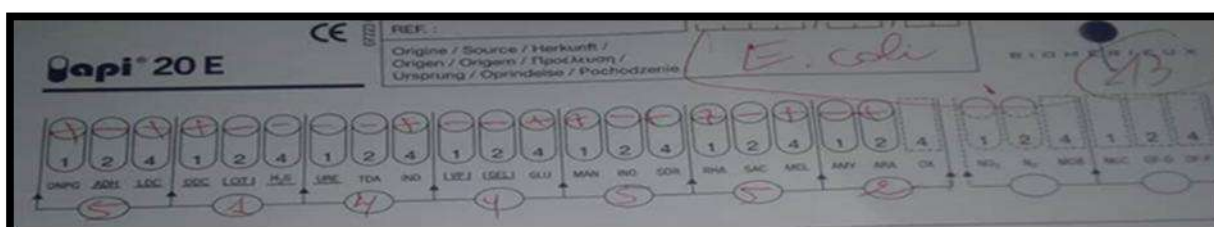
Microtube	Substrat	Caractère recherché	Lecture directe ou indirecte (Test si nécessaire)	Résultat +	Résultat -
ONPG	Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	β -galactosidase	Lecture directe		
ADH LDC ODH	Arginine Lysine Ornithine	Arginine dihydrolase Lysine décarboxylase Ornithine décarboxylase	Lecture directe		
CIT	Citrate	Utilisation du citrate	Lecture directe		
H ₂ S	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S	Lecture directe		
URE	Urée	Uréase	Lecture directe		
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de Perchlorure de Fer		
IND	Tryptophane	Production d'indole	Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de réactif de Kovacs		
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	Lecture indirecte (Attendre 10 minutes) Test : ajouter 1 goutte de KOH et d' α -naphthol		
GEL	Gélatine emprisonnant des particules de charbon	Gélatinase	Lecture directe		
GLU à ARA	Substrat carboné	Utilisation de substrat carboné	Lecture directe		
NO ₂ / N ₂	Nitrates (NO ₃)	Nitrate réductase	Lecture indirecte dans la cupule GLU Test : ajouter 1 goutte de réactif de Griess Ajouter de la poudre zinc en cas de résultat négatif		

Annexe 06 : Fiche de lecture des résultats de la galerie API20^E.

Un exemple de la lecture :



a. L'API 20^E : d'*Escherichia coli*



b. Résultats reportés sur la fiche d'identification.



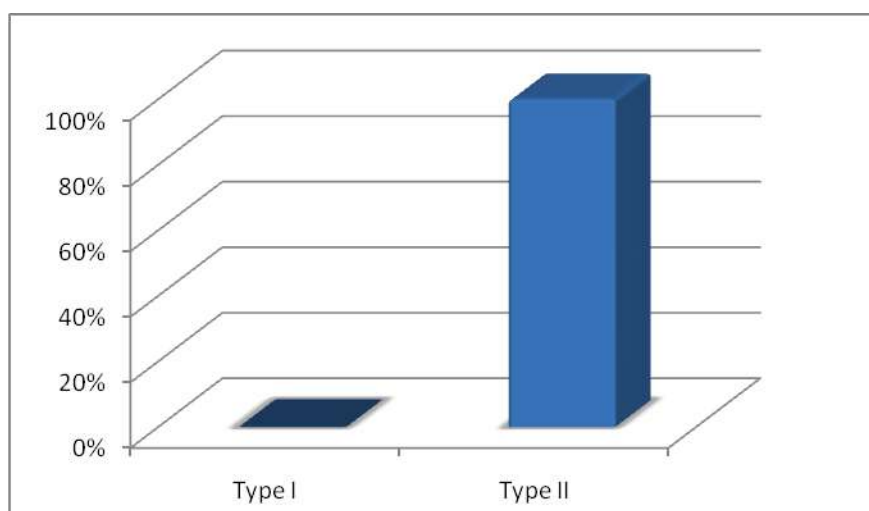
c. Se référer au catalogue pour identifier la souche à l'aide du code.

Annexe 07 :**Tableau 07 :** Répartition des patients selon la tranche d'âge.

Tranche d'âge	[40-50[[50-60 [[60-70[[70-80 [
Nombre des patients	3	6	8	3
Pourcentage	15 %	30 %	40 %	15 %

Annexe 08 :**Tableau 08 :** Répartition des patients en fonction de sexe.

Sexe	Homme	Femme	Totale
Nombre	18	2	20
Pourcentage	90%	10%	100%

Annexe 09 :**Figure 27 :** Répartition des patients selon le type de diabète.**Annexe 10 :****Tableau 09:** Répartition des prélèvements de pus positifs et négatifs.

positivité et la négativité	Prélèvement(+)	Prélèvement(-)	Totale
Nombre de prélèvement	53	17	70
Pourcentage	75.71%	24.28%	100%

Annexe 11 :**Tableau10 :** Répartition des résultats selon la nature des cultures obtenues.

Culture	Nombre	Pourcentage
Poly -microbienne	12	20.33%
Mono-microbienne	47	79.66%
Totale	59	100%

Annexe 12 :**Tableau 11 :** Répartition des bactéries selon leurs Gram.

Bactéries	Gram positif	Gram négatif	Totale
Nombre	36	24	60
Pourcentage	60%	40%	100%

Annexe 13:**Tableau 12 :** Répartition des souches bactériennes identifiées.

Bactéries	Nombre	Pourcentage
<i>Xantho-Maltophilia</i>	1	2%
<i>Staphylococcus aureus</i>	11	22%
Staphylocoque blanc	8	16%
<i>Proteus mirabilis</i>	4	8%
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	1	2%
<i>Escherichia coli</i>	3	6%
<i>Listonella damsela</i>	1	2%
<i>Morganella morganii</i>	1	2%
<i>Proteus vulgaris</i>	5	10%
<i>Providencia rettgeri</i>	2	4%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3	6%
<i>Enterococcus sp</i>	6	12%
<i>Streptococcus sp</i>	4	8%
TOTAL	50	100%

Résumé :

Isolement et identification des bactéries responsable d'infection du pied diabétique

Les infections des pieds diabétiques (IPD) constituent un problème majeur de santé publique. C'est la conséquence la plus fréquente responsable des amputations de celles-ci. Ce travail prospectif est basé sur la recherche des bactéries pathogènes responsables des infections des plaies des pieds chez les patients diabétiques. Les prélèvements superficiels sont été effectués par écouvillonnage. L'identification de ces germes a été basée sur l'étude des caractères morphologiques, culturels et biochimiques grâce à des galeries API 20^E. Les résultats des prélèvements étaient mono-microbiens (79.66%) et montrent que parmi les 50 souches bactériennes isolées les *S. aureus* ont occupé le premier rang avec 11 souches (22%). Au total, les BGP sont les plus dominantes. Toutefois, nos résultats montrent une diversité bactérienne dans les IPD.

Mots clés : Infection du pied diabétique, patients diabétiques, identification, bactéries pathogènes, *S. aureus*.

Abstract:

Isolation and identification of bacteria responsible for diabetic foot infection

Diabetic foot infections are a major problem in public health, it's the most frequent consequence of responsible for foot amputations. This prospective work is based on the research of pathogenic bacteria responsible for foot wound infection in diabetic patients. Surface samples are taken by swabbing. The identification of these germs was based on the study of morphological, cultural and biochemical characteristics using by API 20^E galleries. The results of the samples were mono-microbial (79.66%), showed that among the 50 bacterial strains isolated *S. aureus* ranked first with 11 strains (22%). In total, BGP are the most dominant. However, our results show bacterial diversity in IPD.

Key word: Diabetic Foot Infection, Diabetic Patients, Identification, Pathogenic Bacteria, *S. aureus*.

المخلص:

عزل و تحديد البكتيريا المسؤولة عن عدوى القدم السكرية

تعد عدوى القدم السكرية مشكلة على الصحة العمومية، هي من أكثر النتائج شيوعا المسؤولة عن بتر هذه الأقدام. قمنا بإجراء هذا العمل للبحث عن البكتيريا المسببة لعدوى جروح القدم لمرضى السكري. حيث أخذنا العينات من سطح الجرح عن طريق تقنية المسح. استند التعرف على هذه الجراثيم إلى دراسة الخصائص المرفولوجية و البيو كيميائية الحيوية باستخدام نظام Api 20^E. كانت نتائج العينات أحادية الميكروبات (79.66%)، حيث أظهرت أنه من بين 50 سلالة بكتيرية معزولة، احتلت *S. aureus* المرتبة الأولى ب 11 سلالة قدرت بنسبة (22%). بشكل عام، BGP هو المسيطر. ومع ذلك، تظهر نتائجنا تنوعًا بكتيريا في عدوى القدم السكرية.

الكلمات المفتاحية: عدوى القدم السكرية، مرضى السكري، الهوية، البكتيريا المسببة للأمراض، مكور عقدي أوروبيس.