

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de BLIDA -1-



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire

Mémoire de Fin d'Etudes En vue de l'obtention du diplôme de
Master en Sciences Biologiques
Option : Microbiologie-Bactériologie

THEME

Effet antibactérien de l'huile essentielle de *Lavandula*
***Angustifolia* vis-à-vis les bactéries isolées du pied diabétique**

Présenté par :

HADJER ZINEB WASSILA

Devant le jury :

Mr. GUETARNI D.	USDB1	Président
M ^{me} DEBIB A.	USDB1	Examinatrice
M ^{me} BOUJEMA N.	USDB1	Promotrice
Dr Ziane	CHU mustapha Bacha	Co-propotrice

Année Universitaire : 2015-2016

Remercîments

Avant tout, mes remerciements infinis sont adressés à « Dieu le Tout Puissant » de m'avoir donné le courage la volonté et la santé pour achever ce travail.

Au moment où s'achève ce travail, permettez-moi de remercier du fond du cœur, tous ceux et toutes celles qui, pendant cette période de thèse, m'ont dirigée, soutenue, aidée et encouragée.

Je tiens à remercier

A ma promotrice Mme. Boujema N. Pour avoir accepté de tenir ce rôle,

A co-promotrice Dr Ziane H.

Pour votre soutien, vos conseils qui m'ont été précieuse, votre aide et le temps qu'il a bien voulu me consacrer et sans qui ce mémoire n'aurait jamais vu le jour

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions

Merci à toute l'équipe du laboratoire de bactériologie de l'EPH de Kolea et CHU Mustapha Bahca

Nos sincères reconnaissances à tous nos enseignants pour leur efforts fournis durant toute la période d'étude ainsi qu'à tous ceux qui ont élaboré d'une façon ou d'une autre à notre formations

Enfin, pour leur soutien sans faille et permanente, je tiens à remercier de tout cœur mon époux -qui m'avoir encouragé et aider-, mes parents, pour ses amours et ses compréhension.

Dédicace

*Au terme de ce modeste travail, il m'est agréable d'adresser mes dédicaces :
En premier lieu, à mes parents aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime,
le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Que Dieu vous protège*

A mon époux Belkacem a votre compréhension, et votre soutien,

A mes chères sœurs et mes chers frères.

Amina , Meriem, Hammama, Nessredine, Hakim, Khireeddine

A mes chères niece et neveux;

Raounak, Ranim, Sara, Lina, Youssra, Mohamed, Ahmed, I shak, Ilyess, Ayoub

A mes meilleures amies :

*Hanane, Sara, Sonia, Imene, Djazia, Ahlem et tous mes collègues dans mes classes celle du
primaire à l'université ; classe de Microbiologie en particulier.*

Wassila

Résumé

Notre étude a porté sur la recherche de différents germes responsables des infections du pied diabétique qui constitue à nos jours un problème majeur de santé publique, et qui est à l'origine de la majorité des amputations des membres inférieurs. 70 prélèvements de pus ont été réalisés, issues de plaies infectées du pied des patients diabétiques de la wilaya d'Alger et de Tipaza.

Les résultats obtenus au cours de notre étude ont affiché une prédominance masculine avec un taux de 65.71 %, par contre un taux de 34.28% représente les femmes. Les patients appartenant à la tranche d'âge 45-65 ans sont les plus touchés, la majorité des patients avaient un diabète de type II. Parmi les 58 cultures positives 56.89 % sont de nature poly-microbienne et 43.10 % sont mono-microbienne. Sur les 98 souches isolées les Entérobactéries viennent en premier lieu 45.91 %, suivi par les *Staphylocoques* avec une fréquence de 26.53 %. Suivi par les *Streptocoques* qui représente un taux de 13.26 %, et les *Pseudomonas* avec une faible prévalence de 7.14 %.

L'antibiogramme effectué a montré que les Entérobactéries ont présenté une résistance vis-à-vis les β - lactamines, et des *Saphylocoques* vis à vis la Pénicilline et l'Oxacilline et aussi à la Méricilline (MRSA). Les *Pseudomonas* ont montré une résistance élevée vis-à-vis l'Aztreonam, tandis que les *Streptocoques* ont montré une résistance très élevée vis à vis la Vancomycine.

L'usage intensif des antibiotiques a contribué à l'émergence de bactéries multi résistantes des infections du pied diabétique. Pour cela une thérapie alternative doit être adaptée. L'étude de l'huile essentielle de *Lavandula angustifolia*, a montré une forte activité bactéricide sur toutes les souches testées, dont *Staphylococcus aureus* est l'espèce qui a montré une grande sensibilité. Contrairement aux *Pseudomonas* qui ont présenté une faible sensibilité.

Mots clés : Pied diabétique, huile essentielle, *Lavandula angustifolia*, infection, résistance

الملخص

دراستنا معنية بالبحث عن الجراثيم المختلفة المسؤولة عن حالات اصابة قدم السكرى الذى يشكل فى ايامنا مشكلة رئيسية من مشاكل الصحة العامة,والذى هوسبب لمعظم عمليات بتر السفليين.70 عينة قيح ماخوذة من جروح متعفنة بالقدم لمرضى السكرفى مستشفى الجزائر(مصطفى باشا) و مستشفى القليعة .

بينت النتائج المتحصل عليهاخلال دراستن أن أغلبية المصابين من جنس الذكوربنسبة (65.71 %) بينمانسبة

النساءكانت (34.28 %). لاحظنا أن فئة العمرالتي تتراوح مايبين45-65

هي الاكثر اصابة من بين 58عينة ايجابية عزلت65.89%كانت متعددة البكتيريا،و(43.10%) احادية البكتيريا،

احتلت العصيات ذات الغرام السالب المرتبةالأولى بنسبة (45.91) متبوعة

ب *Staphylococcus aureus* (26.53%) ثم *Streptocoque* (13.26%) و *Pseudomonas* بنسبة

(7.14%).

بينت نتائج الأنتيبيوغرام أن *Entérobactéries*

تمثل نسبة مقاومة عالية للبيتا لاكتامين،وكذلك *Staphylococcus aureus* للبيبيسيلين والأوكزاسيلين،والميثيسيلين

(*Staphylococcus aureus* المقاومة للميثيسيلين).اضهرت ايضا *Pseudomonas* مقاومة عالية للازترينونام وكذلك

Streptococcus للفنكوميسين.

الاستعمال المفرط للمضادات الحيوية ساهم في انتشار البكتيريا المقاومة لهذه المضادات المسؤولة عن التهاب القدم

السكري. و لهذا تطرقنا للبحث عن طب بديل. ان دراسة زيت الخزامة *Lavandula angustifolia* اثبتت فعاليتها على

مختلف انواع البكتيريا التي تم اختبارها. حيث اظهرت نشاطا قويا على *Staphylococcus aureus* . على عكس

Pseudomonas التي اضهرت حساسية ضعيفة.

الكلمات المفتاحية : القدم السكري, زيت اساسي, *Lavandula angustifolia* , تعفن, المقاومة.

Abstract

Our study concerned the research for various responsible germs infections of the diabetic foot who constitutes in our days a major problem of public health, and who is at the origin of the majority of the amputations of lower limbs. 70 takings of pus were realized, stemming from wounds infected by the foot of the patient's diabetics of Algeir's hospital Mustapha Bacha and the hospital of Koléa.

The results obtained during our study showed a male predominance of 65.71 %, while a female prevalence of 34.28 %. The patients belonging to the agegroup 45-65 years are the most affected, the majority of the patients had a type II diabetes. Among 58 positive cultures 56.89 % are of poly-microbial nature and 43.10 % are mono-microbial. On 98 isolated stumps Entérobactériaceae comes first of all 45.91 %, followed by *Staphylococcus* with a 26.53 % frequency. Followed by the *Streptococcus* which represents a prevalence of 13.26 %, and *Pseudomonas* with low prevalence of 7.14 %.

The made antibiogramme showed that *Entérobactériaceae* presented a resistance closed view β - lactamines, and *Staphylococcus* towards the Penicillin and the Oxacilline and also to Mécicilline (MRSA). *Pseudomonas* showed a raised resistance towards l'Aztreonam, whereas *Streptococcus* posted a very high resistance to Vancomycine.

The intensive use of antibiotics contributed to the emergence of resistant multi-bacteria of the infections of the diabetic foot. That's why an alternativetherapy must be adapted. The study of the essential oil of *Lavandula angustifolia*, showed a strong bactericidal activity on all the tested stumps, of which *Staphylococcus aureus* is the specie which showed a big sensibility. Contrary to *Pseudomonas* which presented a lowsensibility.

Keywords: Diabetic foot, essential oil, *Lavandula angustifolia*, infection, resistance

Liste des figures

Figure 1: Mal perforant plantaire	08
Figure 2 : Pied de Charcot	09
Figure 3 : Espèce de <i>Lavandula angustifolia</i>	15
Figure 4: Répartition des patients en fonction du sexe	30
Figure 5: Répartition des patients en fonction de l'âge	31
Figure 6: Répartition des patients en fonction de l'âge et du sexe	32
Figure 7: Répartition des patients en fonction du type de diabète	32
Figure 8 : Répartition des patients externes et internes	33
Figure 9: Répartition des prélèvements positifs et négatifs	34
Figure 10: Répartition des résultats selon la nature des cultures obtenues	34
Figure 11: Répartition des résultats selon le groupe de germes identifiés	35
Figure 12: Répartition des résultats selon les germes identifiés.....	35
Figure 13 : Répartition globale des différentes espèces isolées.....	36
Figure 14: Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez Entérobactéries	37
Figure 15: Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches de <i>Pseudomonas sp</i>	38
Figure 16: Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches de <i>Proteus</i> <i>sp</i>	38
Figure 17: Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches d' <i>E. coli</i> ..	39
Figure 18: Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches de <i>Klebsiella</i>	40
Figure 19: Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches d' <i>Enterobacter</i>	41
Figure 20: Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches de <i>Staphylococcus aureus</i>	42
Figure 21: Répartition des souches de <i>staphylococcus aureus</i> selon la résistance à la méthicilline (MRSA)	42
Figure 22: Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches de <i>Streptococcus</i>	43
Figure 23: Etude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de <i>Lavandula angustifolia</i>	AnxII

Liste des abréviations

ADH : Arginine dihydrolase.

ATB : Antibiotique.

ATCC : American type culture collection.

BGN : Bacilles à Gram Négatif.

BGT : Bouillon glucosé tomponné.

BHIB : Bouillon coeur cerveau.

BMR : Bactéries multirésistantes.

CGP : Cocci à Gram Positif.

CIT : Citrate perméase.

DHB : Dermo-hypodermite bactérienne.

DHBN : Dermo-hypodermite bactérienne nécrosante.

DID : Diabète insulino-dépendant.

DNID : Diabète non insulino-dépendant.

EPH : Etablissement Public Hospitalier.

FN : Faciite nécrosante.

GLU : Glucose.

GN : Gélose nutritive.

GSF : Gélose au sang frais.

H₂O₂ : Peroxyde d'Hydrogène.

H₂S : Hydrogène Sulfuré.

HAT : Hypertension artérielle.

HE : Huile Essentielle.

LDC : Lysine décarboxylase.

MD : Malade diabétique.

Mel : Melibiose.

MH : Muller Hinton.

MRSA : Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*.

MSSA : Methicillin-Sensible *Staphylococcus aureus*.

N₂ : Azote.

NA Cl : Chlorure de sodium.

NO₂ : Nitrites.

NO₃ : Nitrates.

ODC : Ornithine décarboxylase.

ONPG: Ortho-nitro-phenyl-galactosidase.

PLP : Protéine liant les pénicillines.

RHA : Rhamnose.

RM : Rouge de méthyle.

SAC : Saccharose.

SOR : Sorbitol.

TDA : Tryptophane désaminase.

TSI : Triple Sugar Iron.

URE : Uréase.

USB : Unité de soin Boufarik.

VP : Réaction de Voges-Proskauer.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Gradation du Risque d'ulcération des pieds chez le diabétique selon le Groupe International de Travail sur le pied diabétique.....	10
Tableau 4 : Répartition des patients selon le sexe et l'âge.....	33
Tableau 5 : Résultats de l'activité antibactérienne de l'essence de la Lavandula angustifolia sur les différentes souches isolées.....	46
Tableau 06 : Résultats de la concentration minimale inhibitrice.....	49

Sommaire

Introduction	1
Chapitre I : Revue bibliographique	
1. Généralités sur le diabète	3
1.1. Définition.....	3
1.2. Types de diabète	3
1.2.1. Diabète de type I.....	3
1.2.2. Diabète de type II	3
1.3. Complication de diabète	3
1.3.1. Complications micro-angiopathiques	4
1.3.2. Complications macro-angiopathiques	4
2. Pied diabétique	4
2.1. Epidémiologie.....	4
2.2. Facteurs pathogéniques.....	5
2.2.1. Facteurs pathogéniques internes	5
2.2.1.1-Neuropathies diabétiques	5
2.2.1.2-Artériopathie des membres inférieurs	6
2.2.1.3- Infections.....	6
2.2.2. Facteurs externes	9
3. Infections nosocomiales	10
3.1. Germes responsables des infections nosocomiales	11
4. Généralités sur le pus	11
4.1. Définition.....	11
4.2. Mécanismes de formation.....	11
4.3. Signes cliniques du pied diabétique.....	11
4.4. Principaux germes responsables de l'infection du pied diabétique.....	12

5. Antibiotiques et antibioresistance	12
5.1. Différents types de résistance bactérienne.....	13
5.2. Mécanisme de la résistance bactérienne aux antibiotiques.....	13
6. La lavande et l'activité antibactérienne	14

Chapitre II : Matériel et Méthodes

1. Matériel

1.1. Matériel biologique.....	17
1.2. Matériel non biologique.....	18

2. Méthodes.....

2.1. Méthode de prélèvement.....	18
2.2. Examen cyto bactériologique de pus	19
2.2.1. Étude cytologique	19
2.2.2. Etude bactériologique	19
2.3. Identification des bactéries	21
2.3.1 Coloration de Gram.....	21
2.3.2. Identification biochimiques	22
2.3.2.1 Galerie classique.....	22
2.3.2.2 Mini galerie API 20E	25
2.4. Antibio gramme par diffusion des disques	27
2.6 Recherche de Beta-lactamase à spectre élargi (BLSE).....	28
3. Etude de l'activité antibactérienne de l'huile de <i>Lavandula angustifolia</i>	29

Chapitre III : Résultats et discussion

Résultats

1. Répartition des résultats selon le facteur étudiées	32
2. Résultats de l'analyse microbiologique.....	35
3. Résultats de l'antibiorésistance	39
4. Etude de l'effet antibactérien de <i>Lavandula angustifolia</i>	45

Discussion	50
Conclusion	60
Recommandations	61
Références bibliographiques	62
Annexes.	

Introduction

Le diabète est une maladie qui se caractérise par une production insuffisante ou une utilisation inadéquate de l'insuline (**Murphy et al. 2005**). La fréquence des malades diabétiques ne cesse d'augmenter. Le diabète de type II qui, classiquement, ne touchait que les personnes d'un certain âge, atteint actuellement même les jeunes (**Bouayad et al. 2010**). Si le diabète n'est pas traité ou est mal équilibré, l'hyperglycémie chronique induit à court terme des symptômes invalidants (fatigue, soif et le besoin fréquent d'uriner), et à long terme de multiples complications invalidantes (**Guimet et al., 2012**). Parmi les complications les plus graves du diabète, les lésions du pied constitue un sérieux problème. A l'aube de 2010, sa complexité n'est pas encore parfaitement résolue (**Bouayad et al., 2010**).

Le pied est une cible privilégiée des complications dégénératives du diabète : 15 % des diabétiques présenteraient un trouble trophique sévère du pied au cours de leur vie (**Meyer et kessler, 2000**). Le pied diabétique est une des causes de décès des malades diabétiques. Cinquante pour cent des malades diabétiques amputés meurent dans les cinq ans qui suit (**Jeffcoate et al., 2003**). Un diabétique avec une lésion trophique du pied, a 10 à 20 fois plus de risques de subir une amputation majeure qu'un non diabétique (**Priollet et al. 2004**). Plus d'un million d'amputations sont réalisées en une année dans le monde chez les malades diabétiques. Cinquante à 85 % de ces amputations peuvent être prévenues par un diagnostic précoce et un traitement approprié (**Vuorisalo et al., 2009**)

En Algérie, entre 10 à 20 % des patients diabétiques sont hospitalisés à cause des infections du pied. L'étude statistique a montré que 50 % des amputés sont des personnes diabétiques. (**Chakib, 2011**)

L'identification de l'agent infectieux responsable est une étape primordiale dans la prise en charge de l'infection du pied diabétique. Ainsi, plusieurs moyens sont mis à la disposition du clinicien pour effectuer des prélèvements microbiologiques (**Toumi et al., 2011**). D'où l'intérêt de notre travail, réalisé au niveau du laboratoire centrale du CHU Mustapha Bacha et Koléa, dont le but est de mettre en évidence les différents germes responsables de ces infections, et d'évaluer leur sensibilité aux antibiotiques.

Notre étude est basée sur les points suivant :

- La détermination de la fréquence du pied diabétique dans les deux régions étudiées (Mustapha Bacha et Koléa), qui consiste à l'isolement et l'identification de bactéries responsables de l'infection du pied diabétique.
- Les bactéries isolées du pied diabétique ont fait l'objet par la suite d'une étude de profil d'antibiorésistance, d'où nous avons testé les différentes familles d'antibiotiques en déterminant la zone d'inhibition.
- Notre travail est suivi par une étude d'aromatogramme, afin d'évaluer l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *lavandula angustifolia* sur les souches isolées des infections du pied diabétique. En déterminant de la concentration minimale inhibitrice de cette l'huile testée.

L'objectif major de notre travail sert à mieux connaitre la pathogénie du pied diabétique et prendre conscience de sa gravité. Et afin d'éradiquer la propagation de bactéries multi résistante dans les infections du pied diabétique, nous avons procédé à faire une étude sur l'effet de l'huile essentielle de *Lavandula aungustifolia* sur les bactéries isolées du pied diabétique, qui pourra probablement atténuer la gravité de ces infections et prévenir les amputations.

1-Généralité sur le diabète

1-1-Définition du diabète

Le diabète est une maladie chronique secondaire à une interaction variable de facteurs héréditaires et environnementaux. Il est caractérisé par une sécrétion anormale de l'insuline ou l'utilisation inefficace de cette hormone. Il en résulte une élévation du taux de glycémie ($N < 1.26\text{g/l}$) (Lushiku, 2006). Le diabète se définit par une hyperglycémie chronique, soit une glycémie à jeun supérieure à 1,26 g/l à deux reprises (Grimaldi, 2000)

1-2 Types de diabète

1-2-1 Diabète de types I

Le diabète de type I ou diabète insulino-dépendant est dû à une destruction auto-immune des cellules insulino-sécrétrices dites cellules B. L'hyperglycémie apparaît lorsqu'il ne reste plus que 10 à 20 % de cellules B fonctionnelles. Le processus auto-immun responsable d'une « insulite » pancréatique se déroule sur de nombreuses années (5 à 10 ans voire plus, avant l'apparition du diabète). Cette réaction auto-immune survient sur un terrain de susceptibilité génétique à la suite de facteurs déclenchant et peut être dépistée avant l'apparition de l'hyperglycémie par des dosages sanguins d'auto-anticorps (Grimaldi, 2000).

1-2-2 Diabète de type II

Le diabète de type II est la forme la plus courante de la maladie. Il touche généralement les adultes mais est de plus en plus souvent observé chez des enfants et des adolescents. Chez les personnes atteintes de diabète de type II, l'organisme est capable de produire de l'insuline, mais soit la quantité produite est insuffisante, soit l'organisme ne réagit pas à l'action de l'insuline, ce qui entraîne une accumulation de glucose dans le sang (Harris, 2013).

1-3-Complications du diabète

Les personnes atteintes de diabète sont exposées à un risque de développer divers problèmes de santé invalidants et potentiellement mortels. Une glycémie en permanence élevée peut être à l'origine de maladies graves touchant le système cardiovasculaire, les yeux, les reins et les nerfs (Meslier, 2003).

1-3-1 Complication macro-angiopathique

On désigne sous le terme de macro-angiopathie diabétique, l'atteinte des artères musculaires allant de l'aorte jusqu'aux petites artères distales d'un diamètre supérieur à 200µm (**Grimaldi, 2000**).

1-3-2 Complication micro-angiopathique

C'est l'atteinte de petits vaisseaux ; capillaire ; avec une particularité liée à la neuropathie associée. Celle-ci entraîne l'ouverture des vaisseaux artériels-veineux responsable d'un vol vasculaire en aval au niveau de la microcirculation (**Bouysset, 2004**). Les deux atteintes micro vasculaires sont la rétinopathie et la néphropathie, avec un impact très important sur la morbidité des patients atteints, et en particulier chez les diabétiques de type I (**Strainchamps, 2011**).

2-Pied diabétique

Le pied diabétique est défini comme un pied qui présente des lésions allant des simples phlyctènes, petites plaies aux ulcérations qui peuvent s'infecter, et aussi des lésions détruisant les tissus profonds. Les cas les plus graves peuvent aboutir aux amputations (**Lushiku, 2006**). Ces complications sont dues de l'atteinte de la structure et/ou de la fonction du pied conséquence de l'hyperglycémie chronique par le biais essentiellement de la neuropathie et/ou de l'artériopathie et/ou de l'infection (**Pedgrift, 2011 ; Leroy et al., 2013**).

2-1 Epidémiologie

Le diabète est un problème majeur de santé publique qui touche l'ensemble de la population mondiale et dont l'incidence est en augmentation (**Strainchamp, 2011**). On estime qu'en 2011, environ 350 millions de personnes sont atteintes de diabète, soit 6.6% 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 quelques 440 millions soit 7.8 % de la population adulte (**Dumont et Richard, 2011**).

En Algérie, le diabète constitue l'un des problèmes majeurs de santé publique, en particulier le diabète de type II et ce en raison de l'explosion de son incidence (**Kourta, 2006**). 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 (**Hadjiat, 2006**).

Environ 15 % des diabétiques souffriront d'un ulcère des pieds à un moment ou un autre dans leur vie. Plus de la moitié de toutes les amputations de jambe sont pratiquées chez des personnes atteintes du diabète. Le pied diabétique n'est pas un état qui peut être guéri. Mais des mesures de prévention peuvent être prises pour réduire le risque d'en être atteint et l'ampleur des conséquences (**Murphy et al., 2015**).

2-2 Facteurs pathogéniques

2-2-1 Facteurs pathogéniques internes

2-2-1-1 Neuropathie diabétique

Elle se manifeste par des lésions des nerfs principalement des membres inférieurs survient chez 13% à 65%des diabétiques, et entraîne une baisse de la sensibilité des pieds puis des jambes, les rendant plus sujet à des plaies qui cicatrisent difficilement (**Guimet et al., 2012**). Ainsi, des études prospectives ont montré que la perte de la douleur et de la sensibilité véhiculées par les grosses fibres (pression, vibration) étaient des facteurs de risque majeurs d'ulcération des pieds. La neuropathie diabétique est la complication la plus fréquente du diabète, son taux de prévalence étant d'environ 50 % dans la population diabétique (**Murphy et al., 2015**)

➤ La neuropathie sensitive

Elle se traduit par des troubles de la sensibilité, le patient ne perçoit pas correctement les différents stimuli (douleur, température trop haute ou trop basse, frottement) et ne peut donc pas réagir de manière adaptée. L'atteinte de la sensibilité thermo-algique entraîne une suppression de l'alarme douloureuse et donc une méconnaissance de microtraumatismes locaux avec chronicisation de petites lésions qui est également favorisée par l'atteinte de la sensibilité tactile (**Provost, 2005**).

➤ Neuropathie motrice

Elle se manifeste par une amyotrophie des muscles intrinsèques (interosseux, lombricaux) qui entraîne des troubles de la statique du pied et des déformations dynamiques : perte de l'appui normal (avant-pied rond par exemple), orteils en griffe ou en marteau, limitation de la mobilité articulaire. L'ensemble entraîne une modification de la répartition des pressions

plantaires avec apparition de zones de pression élevée, où vont se former des callosités (hyperkératose). Ces callosités se comportent ensuite comme des corps étrangers agressifs, mais indolores du fait de la neuropathie sensitive (**Provost, 2005**)

➤ **Neuropathie végétative**

Est responsable d'une sécheresse cutanée anormale et d'une hyperkératose favorisant le développement des durillons et des callosités. Les fissures de la kératose talonnière peuvent être à l'origine de la surinfection susceptible d'entraîner une nécrose talonnière brutale en cas d'ischémie associée (**Lushiku, 2006**). Elle altère également le flux sanguin vers la peau en provoquant des modifications structurelles des capillaires (**Wu et Armstrong, 2005**).

2-2-1-2 L'artériopathie des membres inférieurs

C'est une complication du diabète due à la macro-angiopathie. Elle est responsable d'une ischémie distale qui va entraver tout processus de cicatrisation. L'artériopathie est plus un facteur de pérennisation de la lésion ulcérée qu'un facteur causal direct. L'ischémie est souvent silencieuse du fait de la neuropathie sensitive et ne se révélera donc que rarement par une claudication intermittente (**Provost, 2005**).

➤ **Pieds ischémiques**

L'ischémie, même modérée, réduit l'apport d'oxygène à la zone d'ulcère et retarde, ou compromet, la cicatrisation. L'ulcère prend un aspect atone et peut rester ouvert pendant des mois, exposant le patient à un risque infectieux. Le patient diabétique avec un pied neuro-ischémique a un risque d'amputation trois fois plus important que le patient avec un pied neuropathique. Leur survie est aussi moindre (25 % de survie à sept ans *versus* 58 %) (**Ha van, 2005**).

L'ischémie en provoque des thromboses artériolaires et veinulaires, sources d'extension des zones de nécrose, de transformation d'une gangrène sèche en gangrène humide, parfois d'une cellulite et d'une lymphangite extensives (**Meyer et Kessler, 2000**)

2-2-1-3 L'infection

L'infection est au mieux définie comme l'invasion et la multiplication de micro-organismes dans les tissus de l'hôte, induisant une réponse inflammatoire, généralement suivie d'une destruction tissulaire. (**Dumont et Richard, 2011**). Chez le diabétique, l'infection s'installe sur un pied déjà fragilisé par la neuropathie, l'artériopathie et l'ostéoarthropathie. L'infection

est souvent superficielle, mais dans certains cas, elle peut s'étendre en profondeur dans les tendons, muscles, os et articulations.

a) Infections superficielles (sans atteinte de l'aponévrose superficielle)

Elles concernent les couches tissulaires au-dessus de l'aponévrose superficielle, séparant l'hypoderme de la couche musculaire sous-jacente, réalisant des tableaux de dermohypodermite bactérienne aiguë. On distingue :

- **La dermo-hypodermite bactérienne (DHB)** : est l'atteinte de l'hypoderme. La symptomatologie se caractérise par des signes locaux (rougeur initialement péri lésionnelle, puis diffuse)(**Bernard et Lavigne, 2006**).
- **La dermo-hypodermite bactérienne nécrosante (DHBN)** : est caractérisée par la présence d'une nécrose tissulaire de l'hypoderme et secondairement du derme. Les signes locaux sont dominés par les décollements cutanés et la coloration rapidement violacée des téguments. Il n'y a généralement ni pus ni abcès (**Ha Van, 2011**).
- **La fasciite nécrosante (DHBNFN)** : La fasciite nécrosante est une infection grave des tissus sous cutanés profonds et des fascias hypodermiques, avec nécrose cutanée secondaire ; les muscles sous-jacents seront épargnés jusqu'à un stade avancé.(**Chetta et al., 1982**).

b) Infections profondes

Elles touchent l'aponévrose superficielle, les muscles ou les structures ostéo-articulaires (**Bernard et Lavigne, 2006**), on distingue :

- **Collection purulentes** Les collections purulentes peuvent se présenter sous forme d'abcès (forme collectée) ou de phlegmon (forme circonscrite par les structures tissulaires) dans les parties molles du pied, voire de la jambe (**Bernard et al., 2007**).
- **Ostéite et l'ostéoarthropathie** : On reconnaît plusieurs formes cliniques d'infection du pied diabétique (selon la présentation clinique et la gravité). Parmi celle-ci, l'infection osseuse est fréquente, présente dans 30 à 80% des cas selon la gravité de l'infection et redoutable par son risque évolutif à bas bruit ses difficultés diagnostique et thérapeutiques participent au risque d'amputation. L'infection de l'os se fait par

contiguïté, à partir d'une plaie. Plus la plaie est étendue et profonde, plus le risque d'ostéite sous-jacente est élevé (Armstrong, 2011). L'ostéoarthropathie constitue une complication grave, le plus souvent irréversible, de la neuropathie diabétique, aboutissant à la destruction de l'architecture du pied, responsable d'une incapacité majeure à se tenir debout et à marcher (Meyer et Kessler, 2000).

- **Gangrène humide** : C'est où la zone de nécrose est entourée d'un halo inflammatoire voire purulent qui témoigne d'une probable infection sous-jacente. Présence de tissus nécrotiques noirâtres et lésions rapidement évolutives avec décollement et pus, grisâtre d'odeur nauséabonde, pouvant aboutir à une dégradation rapide de l'état général du patient avec sepsis, déséquilibre métabolique et insuffisance rénale. Toute amputation doit être précédée d'une exploration vasculaire et revascularisation si possible (Bernard *et al.*, 2007).
- **Mal perforant plantaire** : Il s'agit d'une ulcération indolore, entourée d'une zone d'hyperkératose, c'est la manifestation la plus fréquente de la neuropathie du pied diabétique, caractérisée par la perte de sensation douloureuse et les modifications des pressions statiques et dynamiques, elle provoque un épaissement de la couche cornée (Figure 1), zone d'hyperkératose localisée aux points de pression excessif (Malgrange, 2008).



Figure 1 : Mal perforant plantaire.

- **Le pied de Charcot** : C'est une complication grave de pied diabétique. Le pied de Charcot est secondaire à une atteinte des petites fibres, et en particulier les fibres neurovégétatives (Figure 2). Il débute par des micro-fractures qui passent souvent

inaperçues en raison de la neuropathie, mais entraînent brutalement un pied rouge et gonflé (**Hartemann et Lozeron, 2015**)



Figure2 : Pied de Charcot

2-2-2 Facteurs externes

Les lésions du pied sont dans 95 % des cas occasionnées par des traumatismes mineurs. Les facteurs déclenchant les plus fréquents sont :

- Des chaussures inadaptées aux déformations du pied (hallux valgus, orteils en griffe, etc.) et la marche pieds nus.
- Une hyperpression répétitive lors de la marche : l'ulcère siège alors souvent sur la plante du pied, en regard des têtes des métatarsiens, sous une zone d'hyperkératose qui se comporte comme un corps étranger blessant ;
- Des ongles blessants et ongles incarnés et des mycoses interdigitales (**Martini *et al.*, 2015**)

2-3 Gradation du risque

La recherche de ces différents facteurs amène à déterminer la classe de risque auquel appartient le patient, et à prendre des mesures de prévention adaptées (**Tableau 1**). La gradation du risque se fonde sur le système proposé par le Groupe international de travail sur le pied diabétique dont la valeur prédictive a été étayée (**Monnereau *et al.*, 2007**).

Chapitre I : Partie Bibliographique

Tableau 1. Gradation du Risque d'ulcération des pieds chez le diabétique selon le Groupe International de Travail sur le pied diabétique (**Monnereau et al., 2007**).

Grade	Définition
0	Absence de neuropathie sensitive
1	Neuropathie sensitive isolée
2	Neuropathie sensitive associée : à une artériopathie des membres inférieurs et/ou à une déformation du pied
3	Antécédent d'ulcération du pied (grade 3a) et/ou d'amputation des membres inférieurs (grade 3b)

3- Infection nosocomiale

Une infection nosocomiale est une infection acquise à l'hôpital (ou tout autre établissement de soins), et qui n'était ni en incubation ni présente à l'admission du patient. En cas de doute, pour différencier une infection communautaire d'une infection nosocomiale, un délai de 48 à 72 heures est retenu entre l'admission et le début de l'infection. Pour les infections de la plaie opératoire, on accepte comme nosocomial les infections survenues dans les 30 jours suivants l'intervention ou s'il y a mise en place d'une prothèse ou d'un implant, dans l'année qui suit l'intervention (**Petignat, 2005**). Les patients diabétiques, sont plus vulnérables aux infections nosocomiales. Parmi les facteurs favorisant dans l'acquisition de ces infections :

- Médicaments immunosuppresseurs ou l'irradiation peuvent abaisser la résistance aux infections.
- Les lésions de la peau ou des muqueuses permettent aux micro-organismes d'échapper aux mécanismes naturels de défense.
- La malnutrition constitue également un risque.
- De nombreuses techniques modernes utilisées à des fins diagnostiques ou thérapeutiques, telles que biopsies, endoscopie, pose de cathéters, intubation/ventilation et aspiration ainsi que les interventions chirurgicales, augmentent le risque d'infection.
- Des objets ou substances contaminés peuvent être directement introduits dans les tissus, ou dans des sites normalement stériles comme les voies urinaires et les voies respiratoires basses (**Ducel et al., 2002**).

3-1 Principaux germes responsables des infections nosocomiales

Globalement, les principaux germes retrouvés dans les infections nosocomiales sont les bactéries à Gram négatif (*Pseudomonas*, *Enterobacter*).

Les bactéries à Gram positif (*Staphylocoques*, *Streptocoques*, *Entérocoques*) sont responsables de la majeure partie des infections liées aux cathéters, des infections de plaies et en partie des pneumonies.

Les germes anaérobies, principalement responsables d'infections abdominales (cutanées et respiratoires à un moindre degré) sont retrouvés dans moins de 5% des cas. Le *Clostridium difficile* est le plus fréquent et est responsable de diarrhées associées aux antibiotiques. (Petignat, 2005).

4- Généralités sur le pus

4-1 Définition de pus

Le pus est un liquide épais de couleur blanche ou jaunâtre qui peut s'accumuler puis éventuellement s'écouler au niveau des zones subissant une infection. Il est composé d'un mélange de globules blancs altérés, de débris de cellules mortes et de bactéries. Habituellement, l'action des cellules de l'organisme participe à l'élimination de cette substance liquide, mais lorsque le pus s'accumule localement dans une cavité ou un espace cloisonné, il peut former un abcès et détruire progressivement les tissus environnants (Horde et al., 2014).

4-2 Mécanisme de formation

La formation de pus se fait par l'intervention des cellules phagocytaires (système immunitaire) et ce pus peut se résorber grâce aux macrophages ou se collecter en abcès lorsque l'activité de ces macrophages est insuffisante (Nicolas, 2000).

4-3 Signes cliniques du pied diabétique

Du point de vue clinique, les symptômes d'un pied diabétique se traduisent par : une chaleur, rougeur, œdème, écoulement sale et nauséabond constituent généralement des signes d'infection, pourtant, tout comme la fièvre, ils peuvent être absents et le taux de leucocytes s'avérer être normal dans plus de deux tiers des cas. Le parallèle avec un déséquilibre récent d'une glycémie auparavant bien contrôlée peut alors constituer une piste intéressante dans l'établissement du diagnostic (Levanic, 2008).

4-4 Principaux germes isolés du pied diabétique

Des bactéries aérobies à Gram positif ou des bactéries anaérobies peuvent être isolés seules ou en association.

- **Bactéries aérobies à Gram positif**

Elles dominent les infections du pied diabétique. Dans ce groupe *Staphylococcus aureus* est la bactérie la plus souvent mise en évidence de façon isolée ou au sein d'une population polymicrobienne. Les Streptocoques notamment du groupe B, sont de plus en plus isolés au cours des infections du pied diabétique (**Bernard et al., 2015**).

- **Bacilles à Gram négatif**

Les Entérobactéries (*Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella sp*), sont isolées fréquemment en cas d'infections chroniques ou déjà traitées ou en cas de stade avancé. *Pseudomonas aeruginosa* sont isolées après des hospitalisations de longue durée ou des bains de pied, ou un traitement par des pansements humides, le port de chaussures en caoutchouc de plaies punctiformes situées en regard du calcanéum et sont à l'origine d'ostéites (**Richard et al., 2008**).

- **Bactéries anaérobies stricte**

Les germes anaérobies sont exceptionnellement trouvés seuls. Les anaérobies à Gram+ *Clostridium perfringens* sont le plus souvent retrouvés dans les plaies peu graves, alors que *Bacteroides spp* est retrouvé dans les infections nécrosantes (**Lipsky, 1997**).

5- Antibiotique et antibioresistance

5-1 Définition de l'antibiotique

Un antibiotique est un agent antibactérien naturel d'origine biologique et/ou synthétiques et/ou semi synthétiques (**Lavigne, 2007**). Il permet de traiter une infection bactérienne, soit en tuant les bactéries (bactéricide) ou en empêchant les bactéries de se multiplier (bactériostatique). La découverte des antibiotiques a constitué une véritable révolution dans le domaine des maladies infectieuses (**Petignat, 2005**).

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS) l'antibiorésistance est la résistance d'un micro-organisme à un antibiotique auquel il était jusque-là sensible, elle résulte de l'aptitude de bactéries à supporter l'attaque de médicament antimicrobien tel que les antibiotiques la résistance apparait lorsque le micro-organisme mute ou acquiert un gène de résistance (**Vincent, 2015**).

5-2 Différents types de résistance bactérienne

a) Résistances naturelles

Espèces bactériennes qui sont naturellement résistantes à certains antibiotiques, programmées sur le génome bactérien, donc fixes et constantes à l'intérieur du taxon. A ce titre, elles constituent un critère d'identification (**Lavigne, 2007**).

b) Résistance acquise

Les bactéries peuvent développer de la résistance à un antibiotique préalablement sensible, ce qui implique des changements génétiques. Cette résistance est souvent instable. Ces changements peuvent être de deux types : soit une mutation spontanée, soit l'acquisition de gènes par un autre micro-organisme (**Carle, 2009**).

5-2 Mécanisme de résistance bactérienne aux antibiotiques

a) Résistance par inactivation enzymatique de l'antibiotique

La synthèse de certaines enzymes peut réduire ou annuler l'efficacité d'un antibiotique. Ce mécanisme est décrit contre les β -lactamines, les aminosides et le chloramphénicol. Dans le cas des β -lactamines, on peut distinguer des pénicillinases, ayant un support génétique essentiellement plasmidique et donc très répandues, et des céphalosporinases généralement chromosomiques et spécifiques d'espèces (**Prescott, 1999**).

b) Efflux de l'antibiotique

Une réduction de l'accumulation intra bactérienne suite à l'expression d'un transporteur actif qui expulse l'antibiotique, a été décrite pour la première fois vis-à-vis des tétracyclines. Aujourd'hui, il apparaît qu'il s'agit d'un mécanisme de résistance extrêmement répandu et capable de réduire l'activité de quasi toutes les classes d'antibiotiques (par exemple, β -lactames, macrolides, fluoroquinolones, sulfamidés, aminoglycosides, etc.) (**Bambeke, 2007**).

c) Résistance par modification de la cible

Une mutation peut induire une modification de la cible de l'antibiotique utilisé. A cause d'une moindre affinité, l'efficacité sera réduite. On retrouve ce phénomène pour de nombreuses familles d'antibiotiques: méticilline et nouvelles PLP (protéines de liaisons des pénicillines), macrolides et méthylation de l'ARN, rifampicines et mutation de l'ARN polymérase ADN-

dépendante. Ce mécanisme de résistance est fréquent pour les quinolones: la bactérie résistante synthétise une ADN gyrase moins sensible (**Hartmann, 1997**).

d) Réduction de la perméabilité cellulaire

La réduction de la perméabilité cellulaire se produit par diminution de l'entrée de l'antibiotique sur son site, provoquée par une modification de la perméabilité de la membrane interne ou externe de la bactérie. Une altération des porines dans la paroi des bactéries à Gram négatif peut réduire ou bloquer la pénétration de l'antibiotique jusqu'à son site d'action. Cette forme de résistance s'exerce généralement à l'endroit de plusieurs antibiotiques appartenant à plus d'une classe, étant donné que de nombreux médicaments différents peuvent emprunter la même porine (**Carle, 2009**).

6- Lavande et son activité antibactérienne

Depuis des millénaires et sur les continents, la lavande a connu une utilisation historique et variées selon les époques et les peuples. Dans la médecine traditionnelle chinoise, la plante était déjà utilisée (dans l'infertilité, l'infection, l'anxiété et la fièvre). Dans la médecine arabe la lavande soigne les maux d'estomac et les problèmes de reins (**Belmont, 2013**).

Son nom latin est *Lavandula angustifolia* ou *L. officinalis*. Elle est connue en arabe sous le nom de « khuzâma ». C'est une Lamiacée aromatique, elle est utilisée traditionnellement dans la lutte contre les insectes, l'aromatisation des eaux de boisson et la production de détergents. (**El haras et al., 2013**).

Elle pousse à l'état indigène dans certaines îles de l'Atlantique et depuis le bassin méditerranéen jusqu'au nord de l'Afrique tropicale, au Moyen Orient, à l'Arabie et à l'Inde (**Small et Deutsch, 2001**).

En Algérie la lavande est l'une des plantes aromatiques et médicinales la plus utilisée pour ses vertus thérapeutiques et cosmétique et même culinaire (**Bouhdid et al., 2006**).



Figure 3 : Espèce de *Lavandula angustifolia*.

a) **Systématique de la lavande**

Selon **Dupont et Guignard (2007)**, la lavande appartient à l'embranchement des Spermaphytes, et suivant la classification classique des plantes à fleurs, elle est classée comme suit :

Division: Magnoliophyta (Angiospermes)

Classe: Magnoliopsida(=Dicotylédones)

Sous- classe: Asteridées

Ordre: Lamiales

Famille: Lamiacées

Genre : *Lavandula*

Espèce : *Lavandula angustifolia*

- **Huile essentielle de la lavande**

Une huile essentielle est un produit odorant, de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit b par distillation sèche, soit par un procédé mécanique sans chauffage (**Bruneton, 2009**). L'huile essentielle de la Lavande possède une activité biologique et thérapeutique aussi variée il est employée comme expectorant, antispasmodique, désinfectant des plaies, contre les problèmes dermiques, possède des propriétés antimicrobiennes et anti-carcinogènes, sédatif, antidépresseur, antioxydant, anti-inflammatoire et insecticide (**Boukhatem et al., 2014**)

Chapitre I : Partie Bibliographique

Dans le bagage chimique des plantes, les huiles essentielles, les alcaloïdes et autres composés phénoliques, représentent des molécules de fortes valeurs, utilisées dans les industries pharmaceutiques, cosmétiques et agroalimentaires. Les activités antibactériennes de ces produits ont été rapportées dans de très nombreux travaux. (**Bouzouita et al, 2008**)

b) Activités biologiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont connues pour être douées de propriétés antiseptiques et antimicrobiennes. Beaucoup d'entre elles, ont des propriétés antitoxiques, antivenimeuses, antivirales, anti-oxydantes, et antiparasitaires. Plus récemment, on leur reconnaît également des propriétés anticancéreuses. (**Valnet, 2005**)

L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique et les possibles effets synergiques entre ses composants. Sa valeur tient à son «totum» ; c'est-à-dire, l'intégralité de ses constituants et non seulement à ses composés majoritaires. (**Lahlou, 2004**)

- **Activité antibactérienne**

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des HEs, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire (**Carson et al., 2002**).

De façon générale, il a été observé une diversité d'actions toxiques des HEs sur les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice de proton, fuite d'électron et la coagulation du contenu protéique des cellules (Davidson, 1997).

Le mode d'action des HEs dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane (**Cox et al., 2000; Carson et al., 2002**).

Chapitre II Matériel et méthodes

Notre travail a porté sur l'étude de 70 prélèvements de pus issue de plaies infectées des pieds de patients diabétiques hospitalisés et non hospitalisés qui proviennent de 02 hôpitaux (EPH de Koléa et CHU Mustapha Bacha) durant une période de 6 mois (Janvier-Juin 2016).

Les objectifs évoqués dans cette étude sont :

- Déterminer la fréquence du pied diabétique dans les deux régions (Koléa et Mustapha Bacha).
- Isolement et identification de bactéries responsables de l'infection.
- Déterminer le profil de résistance des souches isolées des infections du pied diabétique.
- Tester l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de la lavande (*Lavandula angustifolia*) par rapport aux souches isolées.
- Déterminer de la concentration minimale inhibitrice de l'huile essentielle testée (*Lavandula angustifolia*).

1. Matériel

1.1 Matériel biologique

Le matériel biologique est représenté par :

- Le pus provenant de 70 patients diabétiques souffrant d'une infection du pied.
- des souches de références (ATCC) ont été utilisées au cours de notre étude :

-*Eschérichia coli* ATTC 25922

-*Staphylococcus aureus* ATCC 25923

- L'huile essentielle de la lavande (*Lavandula angustifolia*). Cette plante a été récupérée dans la région de Boumerdes (Algérie), dont l'huile essentielle a été extraite par la technique d'entraînement à la vapeur à partir des fleurs de la lavande.

- 1.2 Matériel non biologique

Concernant la culture bactérienne, nous avons utilisé différents milieux de culture, solides et liquides. Par ailleurs, nous avons utilisé divers appareils, de la verrerie, des réactifs et des disques d'antibiotiques (annexe II).

2. Méthode

2.1 Méthode de prélèvement

Le prélèvement est la clé d'un diagnostic bactériologique qui doit être effectué à meilleures conditions d'asepsie bactériologique. Parmi les méthodes de prélèvement utilisées nous avons choisi la méthode d'écouvillonnage.

Le prélèvement a été réalisé dans de salle de soin au niveau du service de chirurgie dans l'EPH de Koléa, et pour les prélèvements du CHU Mstapaha Bacha ils ont été réalisés au niveau de la salle de consultation au niveau du service du diabétologie où les patients changer leurs pansements.

➤ L'écouvillonnage

La méthode la plus utilisée elle consiste à passer un écouvillon stérile sur une surface de 1 cm² de la plaie qui a été nettoyée avec du sérum salé, en pratiquant un mouvement superficiel en Z sur la plaie.

➤ Conservation et transport

Les prélèvements sont acheminés au laboratoire à une température ambiante dans les deux heures qui suit, en cas d'acheminement de longue durée ils doivent être conservés à 4°C.

➤ Fiche de renseignements

Une fiche de renseignement clinique est rédigée lors de tout prélèvement effectué. Cette fiche comporte les renseignements qui suivent : le nom et prénom, l'âge, le sexe, la date de prélèvement, le type du diabète, le type de l'infection et l'antibiothérapie.

2.2 Examen cytobactériologique de pus

Chaque prélèvement réalisé doit passer par une étude cytologique pour la détection des hématies et de leucocytes dans le pus et une étude bactériologique pour isoler, purifier et identifier les germes.

2.2.1 Étude cytologique

L'examen cytologique nous permet de faire l'équilibre leucocytaire (lymphocytes, polynucléaire) et d'observer également la présence des hématies et des cellules épithéliales dans le prélèvement.

2.2.2 Etude bactériologique

Il consiste à isoler et identifier les germes présents dans le pus prélevé et qui sont responsables de l'infection, une étude macroscopique et microscopique doit précéder l'examen bactériologique.

a) Examen macroscopique

L'examen macroscopique nous renseigne sur la consistance, la couleur, l'odeur, le caractère éventuellement sanglant (hémolyse) du pus, ainsi nous pouvons évoquer des anaérobies devant un pus marron et fétide.

b) Examen microscopique

L'observation microscopique permet de faire une étude morphologique des cellules d'une espèce microbienne. Elle comprend :

- l'examen à l'état frais (examen entre lame et lamelle des bactéries vivantes)
- l'examen après coloration (le plus souvent sur frottis séchés et fixés).

b.1 Etat frais

L'examen à l'état frais permet l'observation sous microscope des bactéries vivantes en absence de toutes fixations ou coloration afin d'apprécier la flore bactérienne, présence ou absence, abondance, groupement, morphologie (bacilles, cocci, spirilles), ainsi que la mobilité des germes.

Technique

Sur une lame propre on étale une goutte de pus prélevé à l'aide d'un écouvillon, on recouvre avec une lamelle puis on observe sous microscope photonique à l'objectif 40x.

b.2 Etat fixé (Coloration simple au bleu de méthylène)

Cette technique consiste à observer sous microscope un frottis à l'état fixé et après une coloration simple au bleu de méthylène (**Archambaud et Clave, 2008**).

Technique

- Préparation du frottis : Une goutte d'eau physiologique est déposée sur une lame propre, à laquelle sera ajoutée 1 à 2 gouttes du prélèvement. La lame est séchée à l'air ambiant, les éléments sont fixés par la flamme du bec bunsen.
- Recouvrir un frottis correctement fixé avec de bleu de méthylène, laisser agir pendant 20 minutes puis rincer abondamment la lame avec le jet d'une pissette d'eau distillée ou à l'eau du robinet jusqu'à élimination des colorants en excès.
- Sécher à l'air ou sur une platine chauffante, ou délicatement entre deux feuilles de papier filtre fin (ou buvard), sans frotter. Examiner au microscope faible grossissement au plus fort en utilisant l'huile à émersion.

C. Recherche et isolement de bactéries

C.1 Technique d'ensemencement

Le prélèvement de pus est ensemencé sur différents milieux de culture (Gélose au sang frais et gélose au sang cuit), dans le but d'isoler les différents germes contenus dans le pus. Nous avons procédé comme suit : Dans une zone stérile, les boîtes de Pétri contenant les milieux de culture, sont directement ensemencées, en utilisant l'écouvillon du prélèvement du pus.

L'ensemencement de la boîte est poursuivi à l'aide d'une pipette pasteur stérile en utilisant la méthode de quadrant en faisant des stries serrées puis des stries éloignées. Les boîtes sont ensuite incubées pour une durée de 24h à 37°C.

C.2 Enrichissement des prélèvements

En plus de l'ensemencement sur milieux de cultures, les prélèvements sont transposés dans un milieu d'enrichissement qui est le Bouillon Glucosé Tamponné (BGT). Pour favoriser la croissance des bactéries ensemencées cas de culture d'origine faible ou absente.

2.3 Identification des bactéries

Les cultures négatives sont ré incubées et pour les cultures positives ont fait l'objet d'une identification microbiologique et biochimique en utilisant les tests classiques et la galerie API 20^E.

2.3.1 Coloration de Gram

Les bactéries sont réparties en deux catégories selon la méthode de coloration de Gram. La répartition des bactéries en Gram+ ou Gram- est un critère systématique important pour la classification des bactéries.

Technique

a)Préparation d'un frottis

- Nettoyer une lame à l'alcool et déposer une goutte d'H₂O sur la lame.
- Toucher une colonie à l'aide d'une pipette Pasteur stérile pour prélever des bactéries et frotter la pointe dans la goutte d'eau. Laisser sécher à l'air.
- Passer 3 fois la lame dans la petite flamme (veilleuse) du bec Bunsen pour fixer l'échantillon à la chaleur.

b) Coloration

- Déposer quelques gouttes de solution de violet de gentiane (cristal violet) sur le frottis fixé, laisser agir 1 minute. Le violet de gentiane colore le cytoplasme des bactéries. Jeter l'excès de colorant dans un bécher. Rincer très brièvement en faisant couler de l'H₂O sur la lame au-dessus du frottis (pas directement sur le frottis).
- Déposer quelques gouttes de lugol sur le frottis. Le Lugol (composé iodé) est un mordant qui permet de fixer le violet dans les bactéries. Laisser agir 1 minute. Jeter la solution de Lugol dans un bécher et rincer brièvement à l'H₂O comme précédemment décrit.

Chapitre II Matériel et méthodes

-Décolorer en faisant couler de l'alcool sur la lame jusqu'à ce que le violet ne s'écoule plus du frottis (5 à 10 secondes). Rincer à l'H₂O.

-Contre-colorer en déposant la solution de safranine (rose) pendant 1 minute. Ce colorant permet de visualiser les bactéries Gram- décolorées à l'étape précédente. Cette coloration moins forte que le violet n'affecte pas la couleur des Gram+. Rincer à l'H₂O et laisser sécher à l'air. Observer au microscope (avec une goutte d'huile à immersion, au grossissement 100x).

2.3.2 Identification biochimique

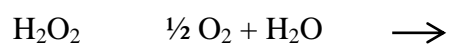
Nous avons réalisé l'identification des bactéries isolées par les tests classique et la galerie API 20^E

2.3.2.1 Galerie classique

Les galeries classiques sont un ensemble de tests biochimiques qui révèlent des voies métaboliques précises. Tous les tests sont effectués à partir d'une suspension bactérienne, préparée dans de l'eau physiologique, de densité 0.5 McFarland (**Joly et Reynaud, 2003**). Les principaux tests effectués sont les suivants

➤ Test de Catalase

La catalase est une enzyme présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatives. La fonction principale de la catalase dans les cellules est de prévenir l'accumulation de niveaux toxiques de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) formé comme sous-produit de processus métaboliques (**Denis et al., 2007**). Elle catalyse la conversion du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène qui se dégage selon :



➤ Test d'oxydase

Principe

Au cours de la respiration aérobie, l'accepteur final de la chaîne de transport d'électrons est une enzyme dite cytochrome oxydé, la mise en évidence de celle-ci ne peut se faire que si la bactérie à un cytochrome C (**Lanotte et al., 2010**).

Chapitre II Matériel et méthodes

Technique

Déposer une goutte du réactif N-tétraméthylparaphénylène diamine sur un bout de papier buvard puis gratter une colonie bactérienne sur la goutte.

Lecture : L'observation est immédiate:

-Oxydase (+) : l'apparition d'une coloration bleu-violet est en faveur ex : d'un *Pseudomonas aeruginosa*.

-Oxydase(-) : pas de coloration ex : Entérobactéries ou *Acinetobacter spp.*

➤ **Test de fermentation des trois sucres**

Le milieu Triple Sugar Iron(TSI) permet l'identification du germe par fermentation des trois sucres (Glucose, Saccharose, Lactose avec ou sans production de gaz) et la production de sulfure d'hydrogène (H₂S) (**Delarras, 2014**). Le mode opératoire est le suivant :

- A partir d'une suspension bactérienne, on ensemence la pente par stries et le culot par piqure centrale à l'aide d'une pipette pasteur. Incuber pendant 24 h à 37°C.

Lecture

- S'il y a un virage du rouge au jaune au niveau de la pente, la bactérie est dite lactose et saccharose positive.

- S'il y a un virage du rouge au jaune du culot, la bactérie est dit glucose positive.

- La production de gaz entraîne la formation de bulles d'air dans le culot.

- S'il y a un noircissement du milieu c'est qu'il y a une production d'H₂S.

➤ **Utilisation du citrate comme source de carbone**

Certaines bactéries sont capables d'utiliser l'ion citrique comme unique source de carbone. L'un des milieux utilisés pour cette étude est le Citrate de Simmons. Ce milieu est ensemencé en surface par des stries longitudinales. La fermentation du citrate de sodium entraîne une acidification qui provoque une coloration bleue du milieu, en présence de bleu de

Chapitre II Matériel et méthodes

bromothymol (indicateur de pH). Les cultures citrate négatif n'entraînent pas de virage de couleur (**Denis et al., 2007**).

➤ Recherche de la voie de fermentation du glucose

Cette réaction permet de connaître la voie de fermentation du glucose, à savoir la voie des acides mixtes, mise en évidence par réaction de Rouge de Méthyl (RM) et la voie butylène-glycolique, mise en évidence par la réaction de Voges Proskauer (VP). Le milieu utilisé est le milieu Clark et Lubs ; deux tubes sont ensemencés et incubés à 37°C pendant 24h (**Delarras et al., 2007**).

- Test RM : On ajoute quelques gouttes de rouge de méthyle à l'un des deux tubes du milieu de Clark et Lubs, préparé précédemment.

- Test de VP : On ajoute quelques gouttes du réactif VPI, puis quelques gouttes du réactif VP II au deuxième tube de Clark et Lubs, puis incliner pendant 5 minutes sur paillasse.

Lecture :

VP(+) : Apparition d'un anneau rouge. VP(-) : Pas de changement.

RM (+): coloration rouge. RM (-): coloration jaune.

➤ Dégradation du Mannitol et mobilité

Le milieu mannitol convient plus particulièrement à l'étude des bacilles à Gram négatif fermentatifs et à l'étude de leur mobilité. L'acidification du milieu est indiquée par le virage de l'indicateur du pH (rouge vers le jaune) (**Denis et al., 2007**). Pour ce faire :

-On ensemence le milieu par une piqure centrale à l'aide d'une pipette pasteur stérile chargée en suspension bactérienne déjà préparée, incubation à 37°C pendant 18 à 24 h.

Lecture

- Mannitol (+) : La fermentation de mannitol entraîne le virage du milieu au jaune ;
- Mannitol (-) : le milieu reste rouge. Les bactéries mobiles diffusent à partir de la ligne d'ensemencement en créant un tourbillon. Les bactéries immobiles croissent uniquement au long de la piqûre d'ensemencement.

➤ Mise en évidence de l'uréase, du tryptophane désaminase et de la tryptophanase

Le milieu urée-indole est un milieu synthétique, non nutritif, permettant la recherche des activités enzymatiques suivantes:

- L'uréase : qui est une enzyme qui hydrolyse l'urée en ions ammonium et en carbonate.- La tryptophane désaminase : agit sur le tryptophane en donnant de l'acide indole pyruvique et de l'ammoniac, la réaction est lisible après addition du réactif TDA (**Denis et al., 2007**).
- La tryptophanase : est un complexe multienzymatique qui permet aux microorganismes de produire de l'indole à partir du tryptophane, après addition du réactif de KOVACS (**Delarras et al., 2007**). Le mode opératoire est le suivant : Distribuer stérilement 1ml du milieu urée-indole dans deux tubes stériles. Ensemencer chaque tube à partir de la suspension bactérienne et incuber à 35°C pendant 18 à 24h.

2.3.2.2 La galerie Api 20^E

La galerie API 20^E est un système standardisé pour l'identification des Enterobacteriaceae et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux, comprenant 21 tests biochimiques miniaturisés, ainsi qu'une base de données. La liste complète des bactéries qu'il est possible d'identifier avec ce système est présente dans le Tableau d'Identification en fin de notice (Voire annexe I). (**Murray et al., 2003**)

Principe

La galerie API 20 E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de Lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification (**Murray et al., 2003**).

a. Préparation de la galerie

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.

Chapitre II Matériel et méthodes

- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte. (Ne pas inscrire la référence sur le couvercle, celui-ci pouvant être déplacé lors de la manipulation).
- Sortir la galerie de son emballage et la placer dans la boîte d'incubation.

b. Inoculation de la galerie

- Introduire la suspension bactérienne 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 ou de la pipette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant) :
- pour les tests CIT, VP et 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 et l'incuber à 37°C pendant 18-24 heures.

c. Lecture de la galerie

- En se référant au Tableau de Lecture. Si 3 tests ou plus (test GLU + ou -) sont positifs, noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées puis révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs :
- Test TDA : ajouter 1 goutte de réactif TDA. Une couleur marron-rougeâtre indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.
- Test IND : ajouter 1 goutte de réactif JAMES. Une couleur rose diffusant dans toute la cupule indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.
- Test VP : ajouter 1 goutte des réactifs VP 1 et VP 2. Attendre au minimum 10 minutes. Une couleur rose ou rouge indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats. Une faible coloration rose apparaissant après 10 minutes doit être considérée négative.

d. Interprétation de la galerie

L'identification est obtenue à partir de la détermination du profil numérique. Sur la fiche de résultats, les tests sont séparés par groupes de trois et une valeur 1, 2 ou 4 est indiquée pour chacun. La galerie API 20 E comportant 20 tests, en additionnant à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondant à des réactions positives, on obtient 7 chiffres ; la réaction de l'oxydase qui constitue le 21ème test est affectée de la valeur 4 lorsqu'elle est positive.

2.4 Antibiogramme par diffusion de disques

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a été réalisée par la méthode de diffusion des disques imprégnés d'antibiotiques en milieu Mueller-Hinton selon les recommandations du comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (**Roland, 2006**).

2.4.1 Préparation et ajustement de l'inoculum

L'inoculum est préparé à partir d'une souche bactérienne de 18 heures. Des colonies de la bactérie à étudier ont été prélevées avec la pipette Pasteur et ont été introduites dans un tube contenant 10 ml d'eau physiologique en formant une suspension. Ensuite l'inoculum est ajusté à l'étalon 0,5 Mac Farland. Pour cela une certaine quantité de la première suspension a été prélevée en utilisant toujours la pipette Pasteur et elle a été introduite dans un autre tube contenant 10ml d'eau physiologique. Cette suspension ainsi préparée va servir à l'ensemencement.

2.4.2. Ensemencement

L'ensemencement s'est fait par se fait écouvillonnage de la suspension bactérienne.

2.4.3. Disposition des disques d'antibiotiques

Après le séchage, les disques sont déposés sur la gélose à l'aide d'une pince flambée, en appuyant doucement sur chaque disque pour assurer un contact uniforme avec le milieu. Les boîtes sont ensuite laissées à la température ambiante pendant 30 minutes sur la paillasse pour permettre la diffusion de l'antibiotique dans la gélose (**Roland, 2006**). L'incubation s'est faite à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures.

Après incubation, les diamètres d'inhibition autour des disques sont mesurés puis ils sont comparés aux diamètres critiques conformément aux normes CASFM (Comité de l'Antibiogramme de la Société française de Microbiologie). Il convient de noter toutefois,

qu'une souche dont la sensibilité aux antibiotiques est ainsi évaluée peut être déclarée "sensible, intermédiaire ou résistante".

➤ **Test Pastorex Staph plus**

C'est un test rapide d'agglutination sur un cercle de la carte d'agglutination pour la détection simultanée du facteur et d'affinité pour le fibrinogène (clumping factor) de la protéine A et des polysaccharides capsulaire de *Staphylococcus*.

C'est un coffret de 50 tests contenant un flacon compte-goutte de 1 ml de latex rouge sensibilisé par du fibrinogène de globines G et des anticorps monoclonaux antipolysaccharidiques capsulaires de *Staphylococcus aureus* et un flacon compte-goutte de 1 ml de réactif témoin négatif de latex rouge sensibilisé par une solution d'albumine bovine ; un sachet de 16 cartes d'agglutination et un sachet de 150 bâtonnets (**Branger, 2007**).

Technique

La technique consiste à bien homogénéiser le réactif latex. Déposer une goutte du réactif dans un des cercles de la carte d'agglutination. Prélever 1 à 3 colonies de cocci à Gram positif catalase positive avec un bâtonnet mélange pendant 10 secondes. Nous avons procédé de la même façon pour le contrôle négatif.

- **Réaction positive** : la réaction est dite positive lorsqu'il y a formation d'agrégats uniquement avec le latex. Test très sensible à l'œil nu sous un éclairage normal en moins de 30s.
- **Réaction négative** : Dans le cas d'un résultat négatif la suspension ne présentera pas d'agrégats et gardera son aspect rouge.

2.6 Recherche de Beta-lactamase à spectre élargi (BLSE)

Certaines Entérobactéries résistantes aux β -lactamines produisent des enzymes spécifiques, capables d'inactiver ces antibiotiques. Parmi ces enzymes nous retrouvons les β -lactamases à spectre élargi. Ces enzymes peuvent être mises en évidence par un test de préemption (test de synergie) et un test de confirmation (test du double disque).

➤ Test de synergie

La recherche de la BLSE se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme, en déposant un disque d'AMC (amoxicilline plus acide clavulanique) à 30 mm d'un disque de céphalosporine de 3^{ème} génération (céfotaxime ou céftriaxone). Il s'en suit une incubation à 37°C pendant 18h.

Lecture

La production d'enzyme se traduit par l'apparition d'une image de synergie ou bouchon de champagne entre les disques. En absence de synergie, la production de BLSE sera suspectée devant toute diminution du diamètre autour des disques de céphalosporine de 3^{ème} génération.

3. Étude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle (*Lavandula angustifolia*)

3.1 Technique en milieu solide : Méthode des aromatogrammes

La technique que nous avons utilisée est celle qui a été réalisé par (Tyagi et Malik, 2011 ; Boukhatem *et al.*, 2014) pour évaluer dans un premier temps l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle (HE). L'aromatogramme est basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé. Elle a l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des produits à tester, de s'appliquer à un très grand nombre d'espèces et d'avoir été largement évaluée par 50 ans d'utilisation mondiale. Cette technique repose sur le pouvoir migratoire par diffusion des HE à l'intérieur d'une boîte Pétri, dans un milieu nutritif solide.

Technique

- Dans cette méthode, nous avons utilisé des disques de papier filtre de 9 mm de diamètre, imprégnés d'une quantité d'HE (20 et 40 µl/disque) que nous déposons à la surface d'un milieu gélosé (MH simple ou MH au sang) préalablementensemencé en surface avec une suspension.
- La boîte est ensuite fermée et incubée dans l'étuve à 37°C pendant 24h. La densité optique de la suspension microbienne a été préalablement ajustée à l'aide d'un densitomètre (0.5Mac Farland pour les bactéries et 1.5 Mac Farland pour les souches fongiques) afin obtenir une concentration de 10⁸ germes/ml. Chaque essence diffuse à partir du disque au sein de la gélose et y détermine un gradient de concentration. Les

Chapitre II Matériel et méthodes

bactéries et croissent sur toute la surface de la gélose sauf là où elles rencontrent une concentration d'essence suffisante qui inhibe leur croissance.

- A la sortie de l'étuve, l'absence de la croissance microbienne se traduit par un halo translucide autour du disque dont le diamètre est mesuré et exprimé en mm.

3.2 Détermination de la CMI.

A partir des résultats obtenus de l'étude de l'aromatogramme nous avons sélectionné les souches ayant des diamètres de zone d'inhibition les plus importants, pour une étude quantitative par la détermination de la concentration minimale inhibitrice de l'huile essentielle de *Lavandula angustifolia* sur ses souches.

•Détermination des CMI par macrodilution en milieu gélosé.

Technique

La technique de dilution en milieu solide est recommandée par le National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2000) pour évaluer la sensibilité des germes micro-aérophiles aux agents antimicrobiens. Elle consiste à ensemencer, par un inoculum standardisé, une gamme de concentration décroissante en huile essentielle (HE) dispersée de façon homogène et stable dans le milieu de culture. Après incubation à 37°C pendant 24h, l'observation de la gamme permet d'accéder à la CMI, qui correspond à la plus faible concentration en HE capable d'inhiber la croissance bactérienne.

Cette technique, très fiable et reproductible pour les agents antimicrobiens hydrosolubles, pose un problème de diffusion et d'homogénéité de dispersion avec les HE qui ont une très faible solubilité dans les milieux de culture gélosés. Ce problème a été résolu, en partie, par l'utilisation d'un agent dispersant et solubilisant inerte, en l'occurrence le Tween 80.

La dilution en gélose implique l'incorporation d'un agent antimicrobien dans un milieu gélosé à des concentrations variables, en général une dilution en série de 2 en 2, suivie de l'ensemencement d'un inoculum bactérien défini à la surface de la gélose de la boîte.

Une série de dilution d'HE est préparée avec un intervalle de concentrations qui varie entre 10 µL/mL à 0.03µL/mL. La réalisation des dilutions se fait en ajoutant une quantité de 0.5 mL d'HE à 50 mL de milieu de culture (Muller Hinton pour les souches d'Entérobactéries et Muller Hinton additionné du sang pour les souches à Gram positif) en surfusion (45°C),

Chapitre II Matériel et méthodes

supplémenté en Tween 80 (0.12 %, v/v). La préparation obtenue correspond à la dilution mère (1%). Une dilution en série, de 2 en 2, est effectuée dans du milieu gélosé en surfusion, de manière à obtenir une gamme de concentration en HE qui varie entre 1% à 0.03%.

L'ensemencement de chaque milieu sera fait par touche à l'aide d'un écouvillon stérile. Les boîtes Pétri seront incubées à 37°C pendant 24h. Cette technique est économique puisqu'elle nous a permis de tester plusieurs souches microbiennes dans la même boîte.

Lecture

En observant l'apparition d'une éventuelle croissance microbienne, en comparaison avec une boîte témoin (exempte d'HE). La CMI se définit comme étant la plus petite concentration du produit pour laquelle aucune croissance n'est visible à l'œil nu. Le résultat sera exprimé en % (v/v) ou en $\mu\text{L}/\text{mL}$.

A noter que les CMI ont été déterminées uniquement pour les souches ayant manifesté une grande sensibilité à l'action inhibitrice de l'HE par les méthodes préliminaires

II. Discussion

Près de 15 % des patients diabétiques sont confrontés à des ulcérations et plaies du pied pendant leur vie. Dans la population des patients diabétiques, l'incidence annuelle d'ulcère de pied est de 2 % (**Singh et al., 2005**). Le problème du pied diabétique est la cause principale d'hospitalisation (20 % des hospitalisations) des patients diabétiques (**Van Damme, 2001**). Près de la moitié de l'ensemble des amputations non-traumatiques de membre inférieur concerne des patients diabétiques. Le patient diabétique est exposé à un risque d'amputation de membre inférieur quinze fois plus important que le patient non-diabétique (**HaVan et Limet, 2005**).

Au cours de notre étude et sur les 70 prélèvements de pus traités 58 cas sont positifs, soit un taux de 82.85%, les 12 prélèvements restant sont négatifs avec un taux de 16.86 %. Selon **Ha Van (2002)** les prélèvements bactériologiques des plaies du pied diabétique sont dans la plupart des cas positifs. Dans notre étude 12 prélèvements avec une prévalence de 16.86 % ont présenté une culture négatif, ceci peut être expliqué soit par :

- La qualité de prélèvement selon **HaVan (1994)** les prélèvements superficiels à l'écouvillon sont moins précis et souvent contaminés par une flore banale de surface (diphthéroïdes, *Staphylococcus epidermidis*)
- Une prescription d'antibiothérapie fait augmenter dans plusieurs cas le taux des cultures négatives, selon **Grimaldi (2005)**, si l'antibiothérapie est installée en urgence avant les résultats de prélèvement elle est dite (probabiliste), c'est-à-dire susceptible de couvrir tous les germes probablement en cause, et donc à large spectre.
- Il peut s'agir d'un germe exigeant, qui nécessite des milieux de culture spéciaux et une atmosphère spéciale (**Denis et al., 2007**).

Dans notre étude le taux de prélèvements effectués sur les hommes (65.71%) est beaucoup plus élevé par rapport à celui effectués sur les femmes (34.28%). Ce taux est presque équivalent à ce obtenu au cours d'une étude effectuée à l'EPH d' Ain-Taya par **Nibouche-Hattab (2013)**, a mentionné un taux (62.7%) des patients prélevés étaient des hommes.

Nos résultats sont similaires aux études effectuées en Algérie et au CHU de Tlemcen (**Berrouiguet, 2008**), au Maroc CHU Med VI Marrakech (**EL allali, 2015**), ainsi qu'au Mali, CHU Gabriel Toure (**Keita, 2008**) révèlent une prédominance masculine du pied diabétique. D'après les études de **Lecornet (2007)**, une fréquence de 71% des patients diabétiques souffrants de lésions de pied diabétique étaient des hommes.

Selon **Pedgrift (2011)** l'incidence des amputations augmente significativement avec l'âge et que le sexe masculin est un facteur de risque d'amputation avec un risque relatif doublé par rapport au sexe féminin. La majorité masculine peut s'expliquer par le fait que les femmes sont protégées par leur statut hormonal contre l'athérosclérose jusqu'à 50 ans, et aussi par le fait qu'elles fument moins que les hommes (**Pedgrift, 2011**). Les diabétiques du sexe masculin auraient 2 fois plus de risque de développer un pied diabétique que les diabétiques du sexe féminin, ceci peut être expliqué par le contexte socioculturel de la région ; les femmes restent le plus de temps dans leur domicile, et utilisent plus que les hommes les mesures d'hygiène. Plusieurs études faites confirment cette association (**Merza et al., 2003 ; Booya et al., 2005 ; Richard et Schuldiner, 2008**)

D'après une étude menée au Maroc sur les facteurs influençant la connaissance des risques du pied diabétique, 40% étaient analphabètes, ce qui explique en partie la mauvaise compliance aux règles hygiéno-diététiques (**Lamchahab et al., 2011**).

Le tabagisme semble être un facteur de risque significatif du pied diabétique dans cette étude ; les diabétiques fumeurs auraient 3 fois plus de risque de développer la complication du pied diabétique que les diabétiques non-fumeurs. Plusieurs études ont trouvé une association causale directe entre le tabagisme et les ulcères du pied ou les amputations (**Richard et Schuldiner, 2008**).

Concernant le type de diabète, notre étude a montré que 90 % des patients diabétiques ayant une infection au niveau du pied avait un diabète de type II. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus au cours d'une étude effectuée en Algérie au CHU de Sétif, où 90% des patients présentant des lésions des pieds avaient un diabète de type II (**Hannat et al., 2008**). Une étude effectuée au Maroc au CHU Med VI a montré ainsi que 96% de patients diabétiques présentaient un diabète de type II (**Redouane et al., 2008**).

Selon **Groupe International de Travail sur le Pied Diabétique (2011)** il a été rapporté récemment au Canada, qu'un pourcentage relativement élevé d'anomalies du pied est déjà

présent chez les adolescents diabétiques de type II. Une récente enquête menée en France chez des diabétiques de type II rapporte que 7% d'entre eux souffrent ou ont souffert au moins une fois dans leur vie d'une plaie du pied (**Grumbach et Richard, 2005**).

Concernant la tranche d'âge, les résultats obtenus au cours de notre étude ont montré que les patients âgés de 45 à 65 ans (39 %) sont les plus touchés par les lésions du pied diabétique. D'après les études prospectives effectuées en Algérie à l'EPH d' Ain Taya ont montré que la moyenne d'âge des patients présentant des lésions de pied était 53.4 ± 8.9 (**Nibouche-Hattab, 2013**). Différents auteurs rapportent des moyennes d'âge allant de 63 à 73 ans et plus (**Gulliford et al., 2002 ; Merza, 2003 ; Booya et al., 2005 ; Richard et Schuldiner, 2008**). Alors que certaines études surtout en Afrique ont trouvé une moyenne d'âge entre 50 et 55 ans. Ceci peut être dû à l'espérance de vie qui est plus courte à cause de mauvaises conditions de vie en Afrique (**Sano et al., 1999**).

Au cours de notre étude sur les 70 patients étudiés, nous avons enregistré 12 patients hospitalisés soit une fréquence de 17.14%. Contrairement aux résultats obtenus par **Meyer et Kessler (2000)** dont ils ont noté une prévalence de 20 % des hospitalisations de sujets diabétiques font suite à des complications au niveau des pieds.

D'après les résultats obtenus en Algérie au CHU de Sétif, les diabétiques présentent 16.69 % de l'ensemble des hospitalisations dont 17.11 % sont admis pour des lésions trophiques du pied (**Hannat et al., 2006**)

Selon **Halimi et al. (1993)**, un taux de 10% des diabétiques étaient hospitalisés pour une lésion du pied. Aux Etats-Unis et en Grande Bretagne, environ la moitié des séjours hospitaliers des patients diabétiques étaient motivée par une pathologie du pied (**Richard et al., 2002**).

Selon **Boulton (2005)** chez les personnes atteintes de diabète, les ulcères du pied sont une conséquence de l'interaction de facteurs de risque notant la neuropathie diabétique qui est très courante, elle touche 20 % à 50 % des personnes atteintes de la condition. La neuropathie peut entraîner des symptômes douloureux au niveau des jambes, ou être totalement indolore les pieds sont juste engourdis. Le danger est que la sensibilité à la douleur et aux températures qui protège normalement nos pieds des blessures peut diminuer ou disparaître. Par conséquent, une blessure au pied peut se produire sans que la personne ne s'en rende compte.

Selon le **Groupe International de Travail sur le Pied Diabétique (2011)**, la gravité des lésions des pieds chez le diabétique est soulignée par la fréquence des amputations des membres inférieurs. La pathologie du pied est fréquente, très coûteuse et met en péril la vie du patient. Jusqu'à 70% de toutes les amputations des membres inférieurs sont réalisées chez des personnes diabétiques et 85% de toutes ces amputations sont précédées par un ulcère (**Bakker, 2011**).

La nature de culture de prélèvements effectués durant notre étude montrent que le taux de cultures poly-microbiennes est plus élevé avec un taux 56.89 %, ce résultat est presque similaire à ceux obtenus au CHU de Sétif avec un taux de 59.25 % qui représente une flore poly microbienne (**Hannat et al., 2008**), et à ceux obtenus au Maroc au CHU Mohamed V (52 %) des cultures étaient de nature poly-microbienne (**Zemmouri et al., 2014**).

Selon **HaVan(2002)** le diagnostic des germes incriminés dans l'infection est difficile, car l'écologie bactérienne des ulcérations du pied est polymicrobienne. Les infections du pied diabétiques sont habituellement polymicrobiennes, avec des anaérobies et des bactéries à Gram positif/négatif (**Masanovic, 2007**).

Concernant l'analyse bactériologique, notre étude a montré la prédominance des bacilles à Gram négatif (54.08%). Selon (**Hannat, 2008**), Les BGN sont responsables de la majorité des infections du pied avec une prévalence de (64.4 %), d'où une prédominance des entérobactéries 45.91%. D'après les études réalisées par **Toumi et al.(2011)**, les Entérobactéries sont essentiellement rencontrées en cas d'infection chroniques du pied diabétique.

Concernant les cocci à Gram positif, elles représentent une fréquence de 45.91% sur les 70 cas prélevés dominés par *Staphylococcus aureus* avec un taux de 28,57%. D'après **Stahl et al. (2007)** les bactéries aérobies à Gram positif sont les plus fréquentes ; dans ce groupe, *S. aureus* est la bactérie le plus souvent mise en évidence, de façon isolée ou au sein d'une population polymicrobienne, lors d'infections qu'elles soient superficielles ou profondes. Les *Staphylocoques* sont parmi les germes les plus fréquemment observés dans les infections du pied diabétique (**Lushiku, 2006**). Cependant, les Streptocoques occupent la deuxième position avec un taux de 13.26 %. Les Streptocoques, sont de plus en plus isolés au cours des infections du pied diabétique (**Toumi et al., 2011**).

Parmi les 70 prélèvements nous avons isolé un taux de 54.08 % d'Entérobactéries, citons :*Proteus mirabilis*, *Klebsilla pneumoniae*, *Escherichia coli* sont les espèces les plus isolées avec des taux 10.20 %, 8.16%, 5.10% respectivement.

Selon **Bernard et al.(2011)** au cours des infections du pied diabétique les bacilles aérobies à Gram négatif sont isolés. Il s'agit essentiellement d'Entérobactéries (*Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella spp*, *Serratiaspp*, *Citrobacterspp*) rencontrées en cas d'infections chroniques.

Les travaux de **Meyer et kissler (2000)**, ont trouvé que dans les prélèvements des infections du pied diabétique, montrent souvent une flore plurimicrobienne, etnotamment de nombreuses bactéries à Gram négatif : *E coli*,*klebsiella*

Après les Entérobactériesisolées au cours de notre étude viennent les *Pseudomonas* qui présentent un taux de 7.14 %. D'après **Stahl (2006)**, *Pseudomonas* est volontiers isolée après des hospitalisations de longues durées.*Pseudomonasaeruginosa* peut être aussi isolée dans certaines conditions(hospitalisation de longue durée, pansements humides)(**Toumiet al., 2011**)

Dans le groupe de Cocci à Gram positif (CGP), les *Staphylococcus aureus* occupent la première position avec une fréquence de 26.53 %. Selon **Hartemann-Heurtieret al. (2000)**, les germes les plus fréquemment retrouvés dans les différentes études sont donc les cocci à Gram positif incluant*Staphylococcus aureus*.Les cocci à Gram positif, notamment *S. aureus*, dominant la microbiologie des infections du pied diabétique(**Toumietal., 2011**)

Les ulcérations superficielles, ischémiqueset/ou neuropathiques, sont le plus souvent surinfectéespar des germes à Gram positif, notamment le staphylocoquedoré, et moins souvent le streptocoque(**Meyer et Kissler, 2000**).Selon **Grosjean etal. (2009)**, le *Staphylococcus aureus* et les Streptocoques sont les germes les plus isolés quand il s'agit d'une plaie récente.

Les infections du pied diabétique sont un problème fréquent nécessitant une prise en charge multidisciplinaire. Le traitement antibiotique vient en complément des autres moyens thérapeutiques : équilibration du diabète, Hygiènes et soins locaux, voire excision chirurgicale.

Il doit tenir compte du fait que l'infection est non seulement cutanée, superficielle, mais aussi atteint les plans profonds et osseux du pied. L'utilisation de substances antibiotiques doit prendre en compte, d'une part leur activité sur les germes en cause et d'autre part, leur pouvoir de pénétration osseuse(**Herison et al., 1993**)

Lorsque l'infection du pied diabétique est confirmée, l'antibiothérapie doit souvent être prescrite sans délai en raison du risque d'une évolution rapidement défavorable. Le pari antibiotique doit couvrir les bactéries les plus fréquemment impliqués dans ces infections. (**Toumi et al., 2001**)

L'étude de l'antibioresistance de différentes souches bactériennes ont montré que ces bactéries ont développé des mécanismes de résistance, leur confèrent une résistance aux antibiotiques, ce qui pose un problème majeur dans la thérapeutique.

Les souches d'Entérobactéries isolées au cours de notre étude ont montré une résistance moyenne au β lactamines tels que la Céfazoline (CZ), l'Amoxicilline plus Ac.clavulanique (AMC) et à l'Ampicilline (AMP) avec un taux de 29.78 %.Les β -lactamases constituent toujours le principal mécanisme de la résistance naturelle et acquise aux β -lactamines, en particulier chez les bactéries à Gram négatif(**Philippon et al., 2006**).D'après **Hartemann-Heurtier et al. (2000)**, une mauvaise stratégie d'antibiothérapie, chez ces patients fréquentant souvent l'hôpital, peut participer à l'émergence et à la diffusion des souches bactériennes multi résistante. Il est donc primordial dans le cadre de cette pathologie de savoir restreindre aux indications indispensable en même temps que choisir avec discernement l'antibiothérapie.

Selon **Selvie (2009)**, les bacilles à Gram négatif (BGN), en particulier les entérobactéries, produisent une grande variété de β -lactamases, qui sont subdivisées en plusieurs sous-groupes.

Les 11 souches de *Proteus mirrabilis* isolées ont présenté une résistance intermédiaire au Cotimoxazole (SXT) et à la Colistine (CS) avec un taux de 45.45 %. Une sensibilité très élevée a été marquée vis-à-vis les Aminosides (AK) et les β -lactamines (AMC), (CZ) et (FOX). Les études réalisées par **Ramesh et al.(2010)**ont trouvé que 93,98 % de bactéries à Gram négatif isolées ont été sensibles à l'amikacine.

Les 8 souches de *Klebseilla pneumoniae* ont affiché une résistance moyenne vis-à-vis l'Amoxicilline plus Ac clavulanique (AMC) et la Céfotaxime (CTX), et à la Céfazoline (CZ).**Janda et al.(2006)**ont montré que le genre *Klebsiella* présente une résistance aux

pénicillines, en particulier l'ampicilline. Plusieurs recherches ont montré que le mécanisme de résistance aux antibiotiques chez les isolats de *Klebsiella* est lié à la production de β -lactamas (**Bradford, 2001 ; Bonnet, 2004**).

Les 5 souches d'*E.coli* ont montré une sensibilité totale à l'Amikacine ces résultats concordent avec ceux obtenus par **Gheit (2011)**, il en est de même selon nos valeurs, avec même une sensibilité totale des souches vis-à-vis de l'Amikacine de toutes les souches d'*E.coli* isolées. Ainsi qu'une forte sensibilité a été marquée envers la colistine, la Céfotaxime, la Céfoxitine, la Céfazoline, et la Gentamicine.

Les aminosides restent jusque-là très actifs sur les Entérobactéries de façon générale, aussi bien en Algérie qu'en Tunisie ou en Turquie (**Larabi et al., 2003 ; Yüksel et al., 2006**)

Une résistance importante envers l'acide nalidixique. **Baylis, et al. (2006)** ont montré que *E. coli* peut être aussi résistante aux bêta-lactamines, l'acide Nalidixique, et l'ampicilline, mais sensible à la nitrofurantoïne.

Les 07 souches de *Pseudomonas* ont montré une sensibilité totale vis-à-vis Ticarcilline plus Ac clavulanique, la ceftazidime, la Ticarcilline. La présence d'un sepsis sévère ou d'un choc septique est une indication à la prescription d'une antibiothérapie à large spectre à base de bêta-lactamine ayant une activité sur *Pseudomonas* et les anaérobies. A côté de l'imipénème, les associations ticarcilline-acide clavulanique et pipéracilline-tazobactam se sont révélées efficaces dans le traitement des infections sévères du pied diabétique, notamment à *Pseudomonas* (**Toumi et al., 2011**). Ainsi qu'une forte sensibilité envers la Tobramycine et la Ciprofloxacine, la Gentamycine a été observée. Parmi les fluoroquinolones, la ciprofloxacine possède la meilleure activité dans le cas des infections à *Pseudomonas* (**Lipsky, 2004**).

Une résistance a été marquée envers l'Aztréonam. Les β -lactamases à spectre étendu (BLSE) sont des enzymes récemment apparues à la suite des mutations des pénicillinases. Selon **Vora, (2009)**, les mutations génétiques à l'origine des BLSE élargissent le spectre de ces enzymes et touchent également les céphalosporines de troisième génération (Ceftazidime et Cefotaxime) et les monobactames (Aztréonam).

L'évaluation de l'efficacité des antibiotiques contre les bactéries à Gram positif a révélé que les streptocoques ont montré une résistance élevée envers la vancomycine. Cependant une sensibilité très élevée est affichée à la Céfotaxime et à la Rifampicine.

Les 26 souches de *Staphylococcus aureus* ont présenté une résistance vis-à-vis la Pénicilline et l'Oxacilline. D'après **Delphine (2008)**, les bêta-lactamases sont exportées dans le milieu extracellulaire des bactéries à Gram positif telles que *Staphylococcus aureus*. Parmi les classe de β -lactamase les plus diversifiées sont les Pénicillinase de *Staphylococcus aureus*, ces enzymes sont principalement actives sur les pénicillines (**Partridge, 2005**).

L'Erythromycine, la Vancomycine et la Rifampicine sont les antibiotiques les plus efficaces sur les 26 souches isolées de *S.aureus* avec une sensibilité qui varie de 50 à 53.84 %. **Hasseinbey et Soum (2006)** ont montré l'efficacité totale de la vancomycine sur toutes les souches de *S.aureus* isolées (y compris les MRSA).

Au cours de notre étude les résultats de l'antibioresistance de 26 souches de *Staphylococcus aureus* isolées montrent que 19.23% des souches sont des (*Staphylococcus* résistant à la méticilline) MRSA. D'après **Stahl et al. (2010)** les souches de *S. aureus* isolées de plaies du pied diabétique sont résistantes à la méticilline (SARM) constituent actuellement un problème de première importance. Et d'après **Toumi et al. (2011)**, parmi les BMR rencontré dans les infections du pied diabétique sont, les *S. aureus* résistants à la méticilline (SARM) (Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*) qui vient en premier lieu. Même s'il est souvent d'origine nosocomiale, le SARM peut être d'origine communautaire chez les personnes vivant en institution.

La résistance à la méticilline est causée par l'altération des protéines de liaison aux pénicillines (PLP) aussi connues sous PBP(*Penicillin Binding Protein*).Ce phénomène réduit l'affinité de la cible (PLP) pour les β -lactamines soit par une mutation des gènes chromosomiques, soit par l'acquisition de gènes supplémentaires exprimant de nouvelles PLP. Ce mécanisme de résistance est important chez les cocci à Gram positif, comme *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus pneumoniae*, alors qu'il est beaucoup plus rare chez les bactéries à Gram négatif (**Sylvie, 2009**).

Couretetal.(2007) a réalisé une étude rétrospective incluant 48 patients présentant une ostéite du pied diabétique.58% de ces ostéites sont monomicrobiennes, dont *S.aureus* est isolée dans 58% des cas, les BGN présentent un tauxde29%. 31% de ces germes sont des BMR dont 23% sont de SAMR. Ces résultats corroborent ceux de la littérature qui montre que les SAMR sont en nette augmentation dans la pathologie du pied diabétique infecté.

Concernant les résultats de l'aromatogramme nous avons noté que l'huile essentielle de la lavande a présenté une forte activité antibactérienne vis-à-vis les souches de *Staphylococcus aureus* avec un diamètre de zone d'inhibition de 34 mm, et l'ensemble des *Entérobactéries*. Ces résultats sont similaires à ceux obtenue par une étude réalisée à l'EPH de Blida (**Ameur et Hocine, 2015**), *Staphylococcus aureus* était la souche la plus sensible à l'huile essentielle de *Lvandula angustifolia* avec un diamètre de zone d'inhibition de 38.5 mm, suivi par *Proteus penneri* avec un diamètre de 31.5 mm, par contre les souches de *Pseudomonas* ont montré une résistance totale.

Nos résultats concordent aussi avec ceux obtenus d'une étude effectuée par **Chahboun et al. (2015)** et d'**Elharas et al. (2013)**, ont montré une forte activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Lavandula angustifolia* sur les *Staphylococcus aureus*. Cette activité antibactérienne peut être expliquée par la présence de composé qui lui conféré ce pouvoir bactéricide. Selon **Maihebiau et al. (1994)** l'activité antimicrobienne de cette huile essentielle est due principalement à sa richesse en constituants suivants: L'eucalyptol, le camphre, le bornéol et les esters. En effet, tous ces composés sont connus pour leurs propriétés antimicrobiennes.

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des huiles essentielles, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire (**Carson et al., 2002**).

Le mode d'action des huiles essentielles dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane (**Cox et al., 2000; Carson et al., 2002**). De façon générale, il a été observé une diversité d'actions toxiques des huiles essentielles sur les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice de proton, fuite d'électron et la coagulation du contenu protéique des cellules (**Davidson, 1997**). Une inhibition de la décarboxylation des acides aminés chez *Enterobacter aerogenes* aussi été rapportée. Les huiles essentielles peuvent aussi inhiber la synthèse de l'ADN, ARN, des protéines et des polysaccharides (**Cox et al., 1991**).

D'après les résultats de l'aromatogramme nous avons constaté que parmi les souches testées les Gram positifs ont présenté une sensibilité plus importante par rapport à celle des Gram négatif. Ceci pourrait être expliqué par le fait que les bactéries à Gram positifs possèdent des

dispositifs structuraux qui sont plus susceptibles aux huiles essentielles (**El harras et al., 2013**).

Les souches de *Pseudomonas* testées sont les souches les moins sensibles par rapport aux autres souches testées avec un diamètre qui varie de 10 à 14 mm. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par **El harras et al. (2013)**, où les souches de *Pseudomonas* ont présenté des diamètres qui varient de 7.8 à 21.8mm.

D'après **Chahboun et al.(2015)** les résultats expérimentaux présentés montrent que l'huile essentielle de la lavande extraite est active sur toutes les souches à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa* d'où ils ont noté une résistance totale de ces souches.

Concernant les résultats de la CMI obtenus au cours de notre étude, nous avons noté une faible activité de l'huile essentielle de *Lavandula angustifolia*, d'où nous avons noté une activité uniquement sur les souches à Gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*) où leur CMI est de 0.5 µl/ml. Par contre les BGN ont montré une résistance totale sur toutes les concentrations dilution de l'huile essentielle. Cette résistance est probablement due aux pertes des composés volatils de l'huile essentielle durant le stockage et/ou l'extraction. Cette faible efficacité pourrait être aussi due au fait qu'au cours de la période d'incubation quelques composants volatils de l'huile peuvent s'évaporer des milieux de culture, ce qui diminuerait sa concentration, et par la suite son activité antibactérienne.

Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par **Chahboun et al. (2015)**, ont montré que les souches de *Staphylococcus aureus* été les souches les plus sensibles à l'huile essentielle de *Lavandula angustifolia*, où ils ont présenté une CMI de 0.01, par contre les souches de BGN testées sont moins sensible et leurs CMI varient de 0.1 à 0.02 µl/ml.

Généralement, les huiles essentielles sont médiocrement solubles dans l'eau, ce qui pose beaucoup de problèmes pour étudier leur activité antibactérienne, ceci a été déjà rapporté par **Southwell et al. (1993)** et **Griffin (2000)**.

Plusieurs travaux notamment ceux de **Hammer et al. (2002)**; **Souza et al.(2006)**; **Derwich et al. (2010)** et **Bari et al. (2010)** ont confirmé la grande résistance des bactéries Gram (-) par rapport aux Gram (+). Ceci peut être dû à l'action de certains composés volatiles de l'huile essentielle étudiée d'une part et à la présence d'une couche de lipopolysaccharide (LPS) chez les bactéries Gram (-) qui pourrait fonctionner comme barrière efficace contre n'importe quelle biomolécule entrant d'autre part (**Inouye et al.,2001**; **Bagamboula et al., 2004**).

Recommandation

Le pied diabétique apparaît donc comme une pathologie complexe, d'abord difficile, nécessitant une approche multidisciplinaire et nécessitant la coopération de nombreux acteurs de santé. Seuls le dépistage et la prévention permettront de diminuer le poids énorme que représente cette pathologie. Cette prévention passe par des mesures d'hygiène générales et d'autres focalisées sur le pied :

- ✓ Obtention d'un équilibre glycémique optimale.
- ✓ Laver quotidiennement les pieds et bien sécher entre les orteils pour éviter les macérations.
- ✓ Choisir des chaussures confortables et examiner toute anomalie susceptible de blesser les pieds.
- ✓ Ne pas exposer les pieds aux températures extrêmes.
- ✓ Prendre une bonne habitude de ne pas utiliser les objets blessant pour couper les ongles.

Afin d'améliorer cette étude,

- ✓ une étude approfondie est nécessaire sur les composants de l'huile essentielle de *Lavandula angustifolia*.
- ✓ Réalisation des essais d'application cutanée sur des lésions du pied diabétique pour mieux démontrer son efficacité sur cette pathologie.
- ✓ Etablir une formule biologique, une crème d'application cutanée à base de l'huile essentielle de *Lavandula angustifolia* qui sera compléter par une étude toxicologique.

I. Résultats

1. Répartition des résultats selon les facteurs étudiés

Durant notre étude nous avons analysé les aspects épidémiologiques de pied diabétique chez les 70 patients. Les paramètres étudiés sont : le sexe, l'âge, le type de diabète et l'hospitalisation (externe ou interne).

1.1. Selon le sexe

Sur les 70 prélèvements effectués nous avons noté une prédominance masculine avec une prévalence de 65.71%, alors qu'une fréquence de 34.28% représente les femmes (**Figure 04**).

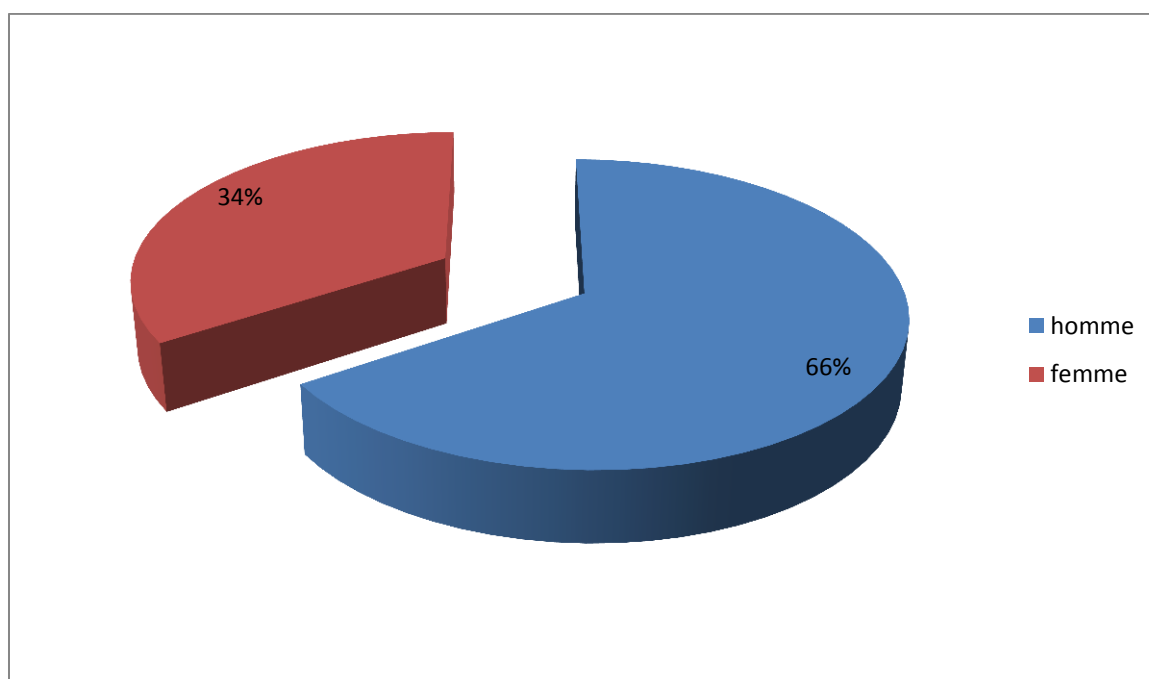


Figure 4 : Répartition des patients en fonction du sexe

1.2. Selon les tranches d'âge

Afin de déterminer la tranche d'âge la plus touchée par les infections du pied diabétique, nous avons réparti les patients en tranches d'âge de 20 ans. D'après les résultats obtenus nous avons remarqué que les patients appartenant à la tranche d'âge 45-65 est la plus touchée par les infections du pied diabétique avec une fréquence de 55.71%. Suivi par la tranche d'âge de

Chapitre III Résultats et discussion

25-45 avec un taux de 22.85%. Les patients de plus de 65 ans occupent la 3ème position avec une prévalence de 21.42% (**Figure 5**).

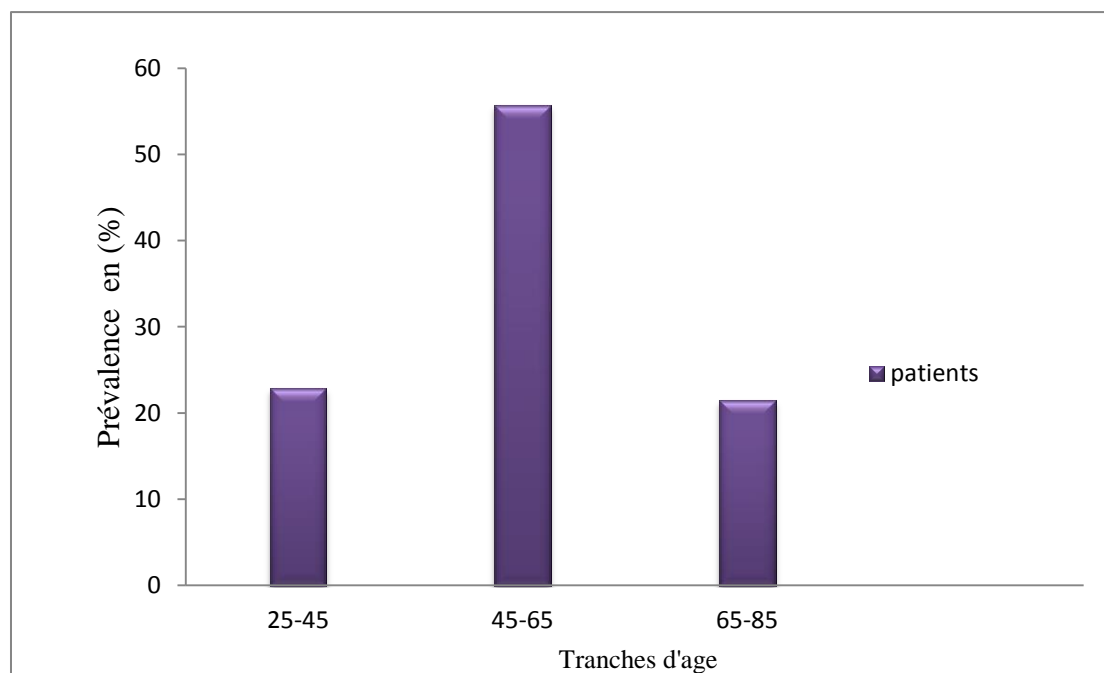


Figure 5 : Répartition des patients selon les tranches d'âge

1.3. Selon le sexe et l'âge

Les résultats obtenus nous a permis de démontrer que les hommes appartenant à la tranche d'âge de 45-65 représentent le taux de prélèvement le plus élevé avec une fréquence de 37.14%. Alors que les femmes appartenant à la même tranche d'âge affichent un taux de 18.57% (**Tableau 4, Figure 6**).

Tableau 4 : Répartition des patients selon le sexe et l'âge.

Age	25-45	45-65	65-85
Homme	8	26	12
Pourcentage	11.42%	37.14%	17.14%
Femme	08	13	3
Pourcentage	11.42%	18.57%	4.28%
Totale	16	39	15

Chapitre III Résultats et discussion

Pourcentage	22.84%	55.71%	21.42%
-------------	--------	--------	--------

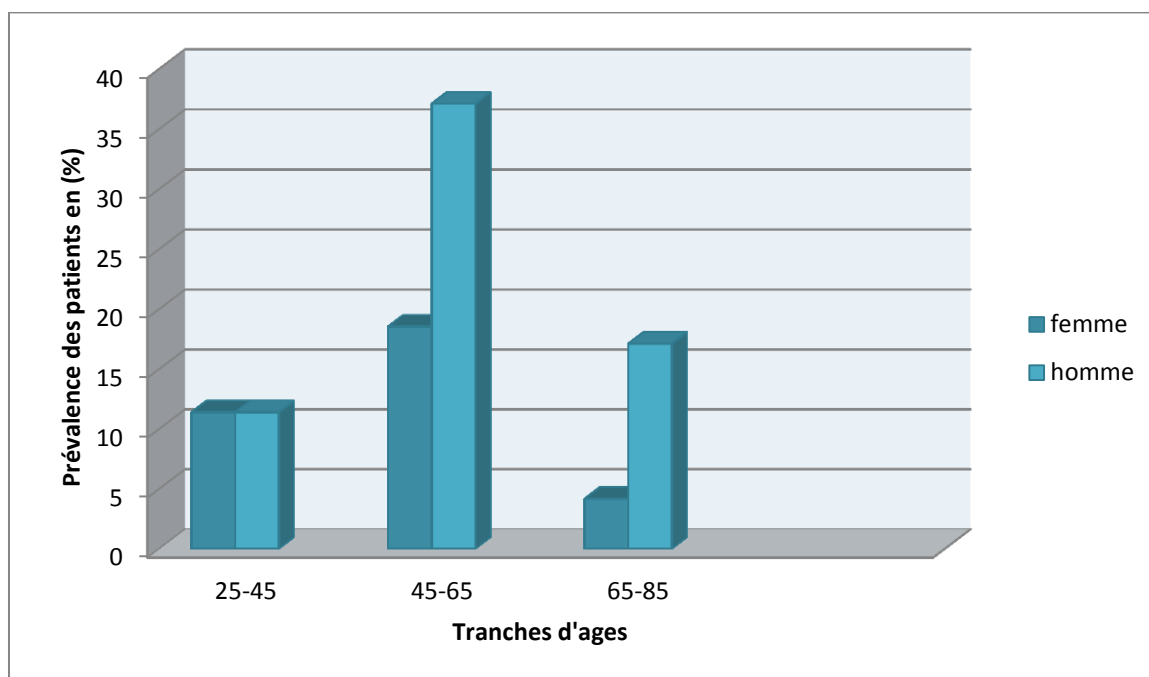


Figure 6: Répartition des patients en fonction de l'âge et de sexe.

1.4. Selon le type de diabète

Parmi les 70 patients, 90% sont des diabétiques de type II, alors que les 10% restant sont des diabétiques de type I (**Figure 7**).

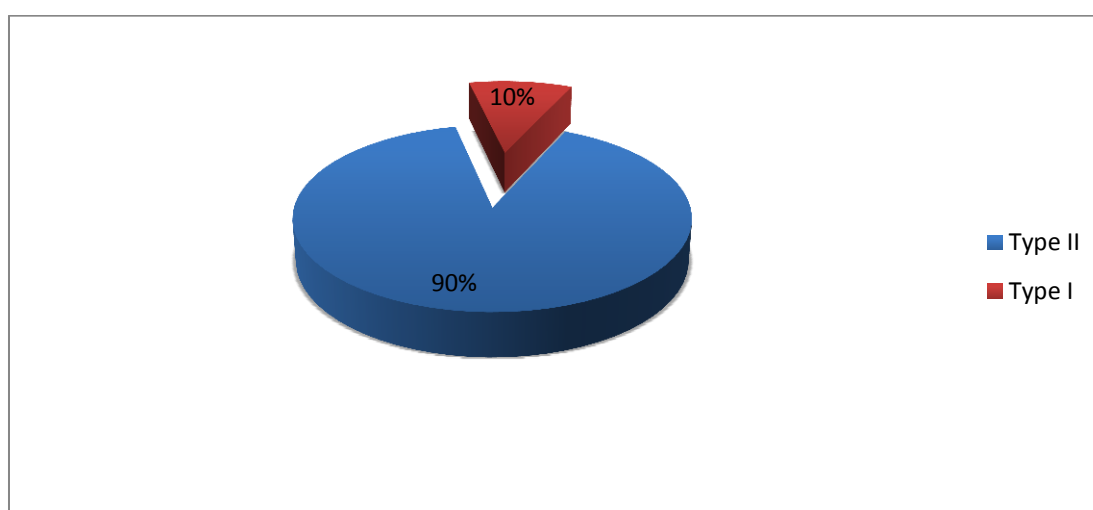


Figure 7: Répartition des patients selon le type de diabète

1.5. Selon les patients hospitalisés/non hospitalisés

Parmi les 70 prélèvements de pus effectués, 58 prélèvements ont été réalisés sur des patients non hospitalisés avec une fréquence de 82.85%, les 12 restants sont des patients hospitalisés avec un taux de 17.14% (**Figure 8**).

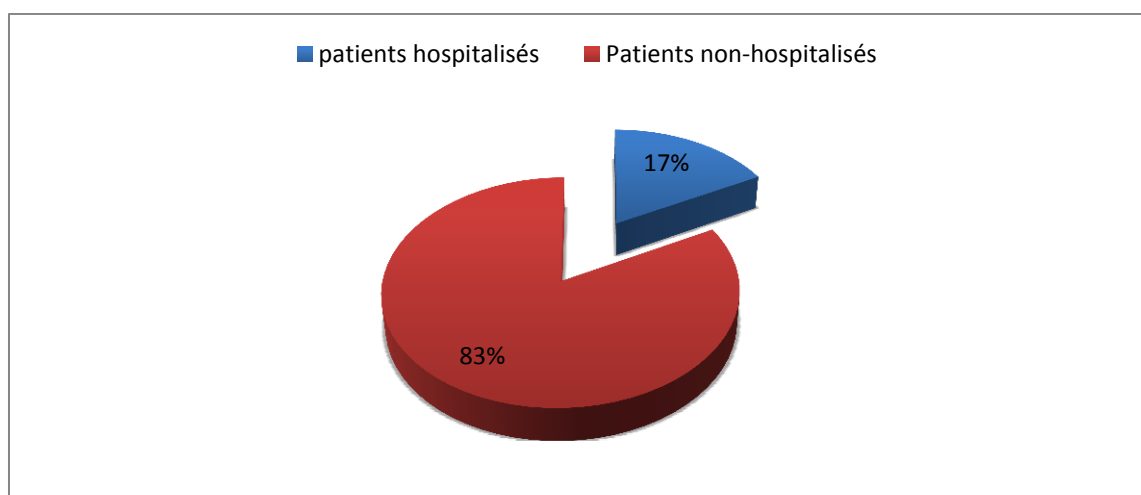


Figure 8 : Répartition des patients selon hospitalisation ou non hospitalisation.

2. Résultats de l'analyse microbiologique

2.1. Cas positif et négatif de pus

Les résultats obtenus au cours de notre étude montrent que sur les 70 prélèvements de pus du pied diabétique effectués 58 se sont révélés positifs avec un taux de 82.85%, tandis que 12 prélèvements sont révélés négatifs avec une prévalence de 17.14% (**Figure 9**).

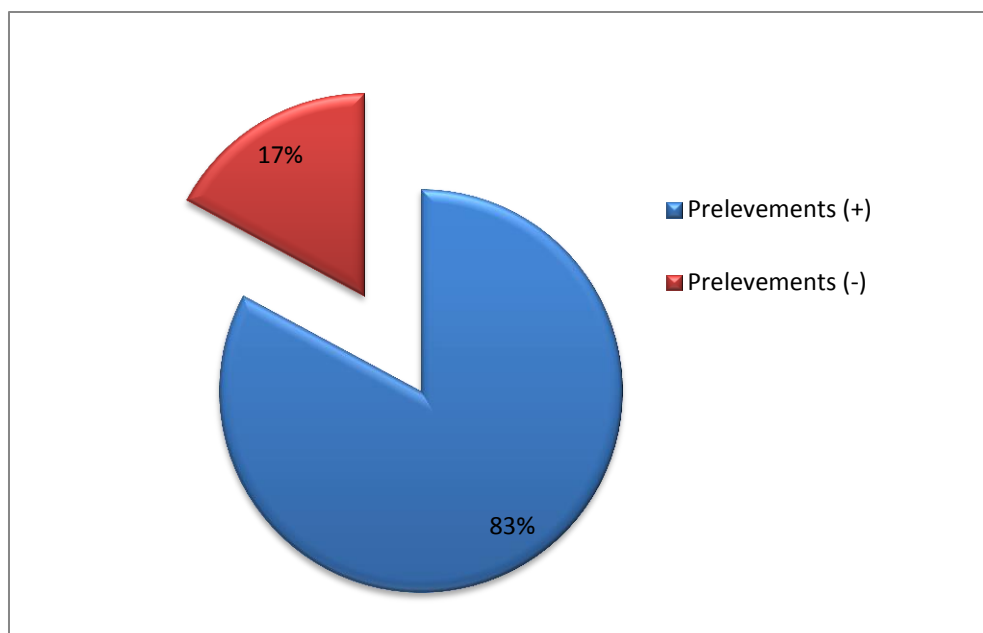


Figure 9 : Répartition des prélèvements positifs et négatifs

2.2. Nature des cultures obtenues

Les résultats mentionnés dans (**Figure10**) montrent que sur les 70 prélèvements réalisés, une fréquence de 56.89% sont des cultures poly bactérienne par contre une prévalence de 43.10% sont des cultures mono bactérienne.

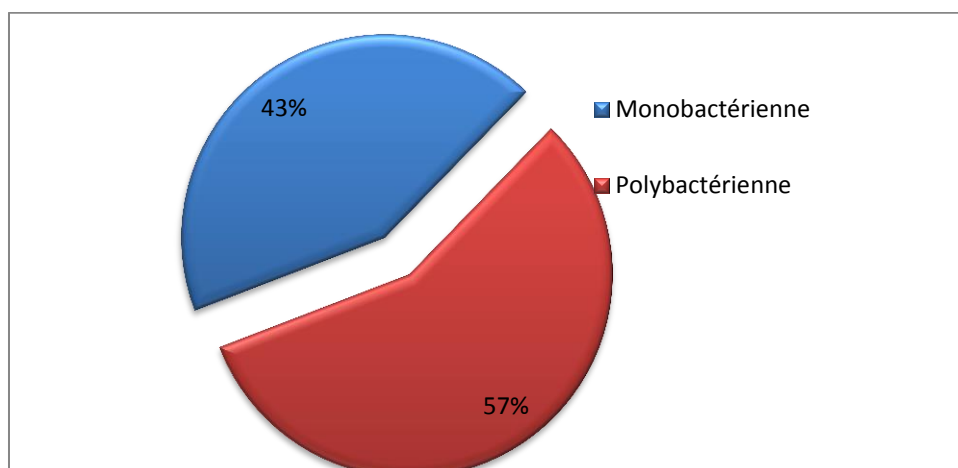


Figure 10: Répartition des résultats selon la nature des cultures obtenues.

2.3. Groupes de germes identifiés

Sur les 58 cultures positives nous avons isolé 98 souches. D'où 53 germes identifiés sont des bacilles à Gram négatifs et 45 germes sont des cocci à Gram positifs. Les résultats obtenus

Chapitre III Résultats et discussion

montrent une prédominance de bacilles à Gram négatifs avec un taux de 54.08% par rapport aux cocci à Gram positifs qui ont présenté une fréquence de 45.91%. (**Figure 11**)

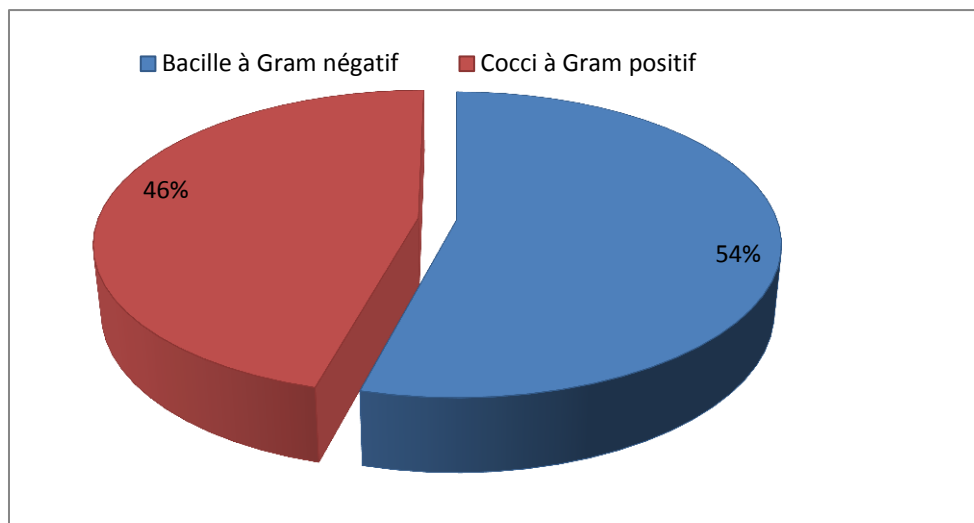


Figure 11 : Répartition des résultats selon le groupe de germes identifiés.

Sur les 98 souches identifiées nous avons remarqué que les Entérobactéries occupent la première position avec une fréquence de 45.91%, suivi par les *Staphylococcus* avec 26.53% et les *Streptococcus* avec 13.26%, le taux le plus faible est celui de *Pseudomonas* avec 7.14% (**Figure 12**).

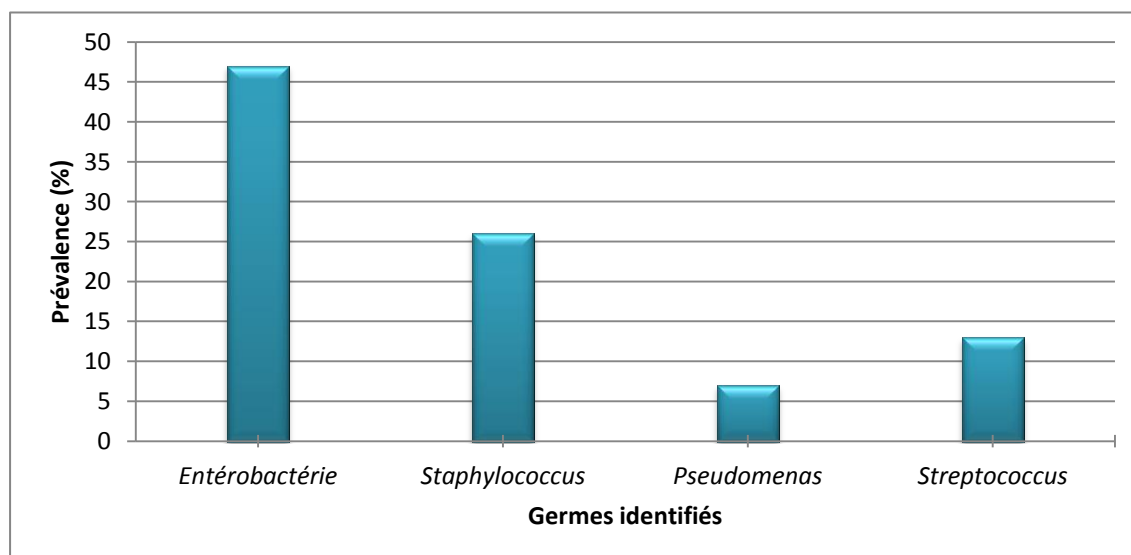


Figure 12: Répartition des résultats selon les germes identifiés.

2.4. Espèces identifiées

Dans l'ensemble des espèces identifiées, et sur les 45 souches d'Entérobactéries isolées nous avons noté une prédominance de *Proteus mirabilis* avec un taux de 10.20%, suivi par *Klebsiella pneumoniae* avec un taux de 8.16%, puis *Escherichia coli* avec une prévalence de 5.10% et en quatrième position *Morganella morganii* avec un taux de 4.08%. Les autres espèces montrent une fréquence moins importante comprise entre 3.06% pour *Enterobacter sp* et *Enterobacter cloacae* et 2.04% pour *Burkholderia cepacia* et *Serratia liquefaciens* et en dernière position et avec une fréquence de 1.02% nous avons *Klebsiella oxytoca*, *Serratia marcescens*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Proteus penneri*, *Proteus vulgaris* et *Proteus rettgeri* (**Figure 13**).

Concernant le groupe de *Staphylococcus*, les résultats obtenus montrent que *Staphylococcus aureus* est l'espèce la plus dominante avec un taux de 26.53%

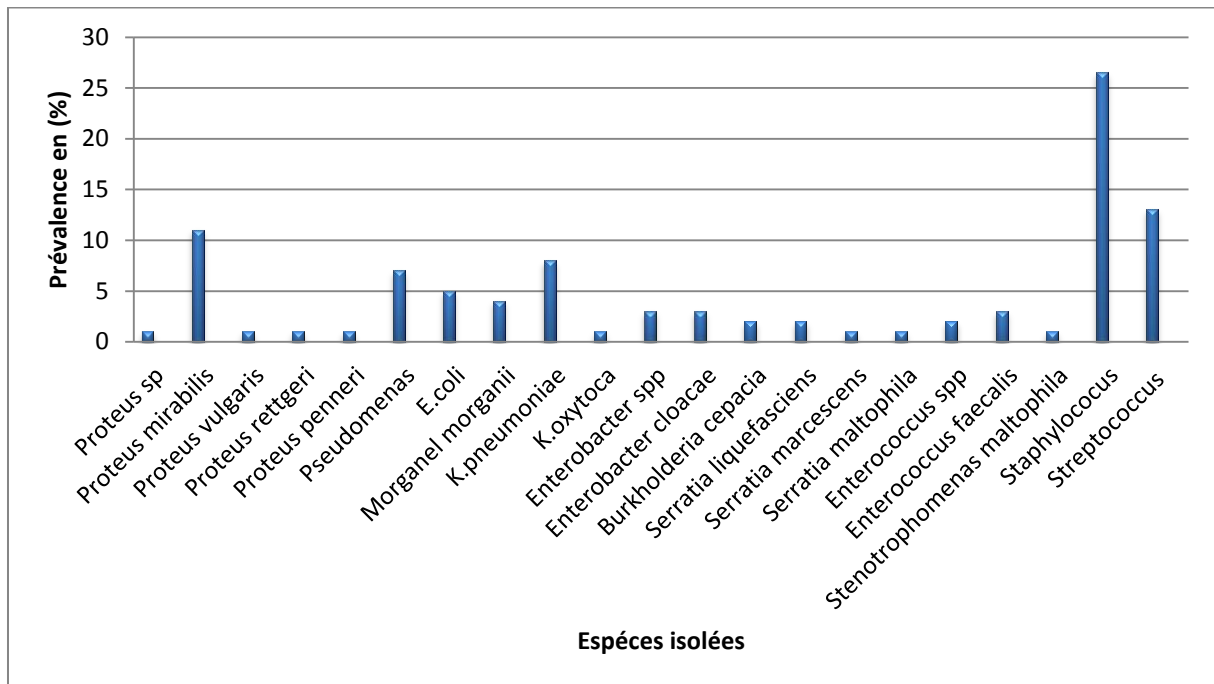


Figure 13: Répartition globale des différentes espèces isolées.

3. Résultats de l'antibiorésistance

Les résultats de l'antibiogramme ont été exprimés par la lecture de diamètre d'inhibition et ont été comparés aux valeurs critiques des espèces identifiées.

• Entérobactéries

Au cours de notre étude les résultats de l'antibiorésistance obtenus (**Figure 14**) montrent que sur les 45 souches d'Entérobactéries ont montré une sensibilité élevée à l'Amikacine (AK) avec un taux de 78.72%, à la Gentamicine avec un fréquence de 53.19%, et à l'Imipénème (IMP) (51.06%). Une sensibilité intermédiaire a été marquée vis à vis la Cefoxitine (CTX) (44.68%) et à la Céfazoline (CZ) (40.42%). Une résistance moyenne des souches a été enregistrée envers la Céfazoline(CZ) (34.04%), à l'Amoxicilline+Ac.clavulanique (AMC) (29.78%) et à l'Ampicilline (AMP) (25.53%).

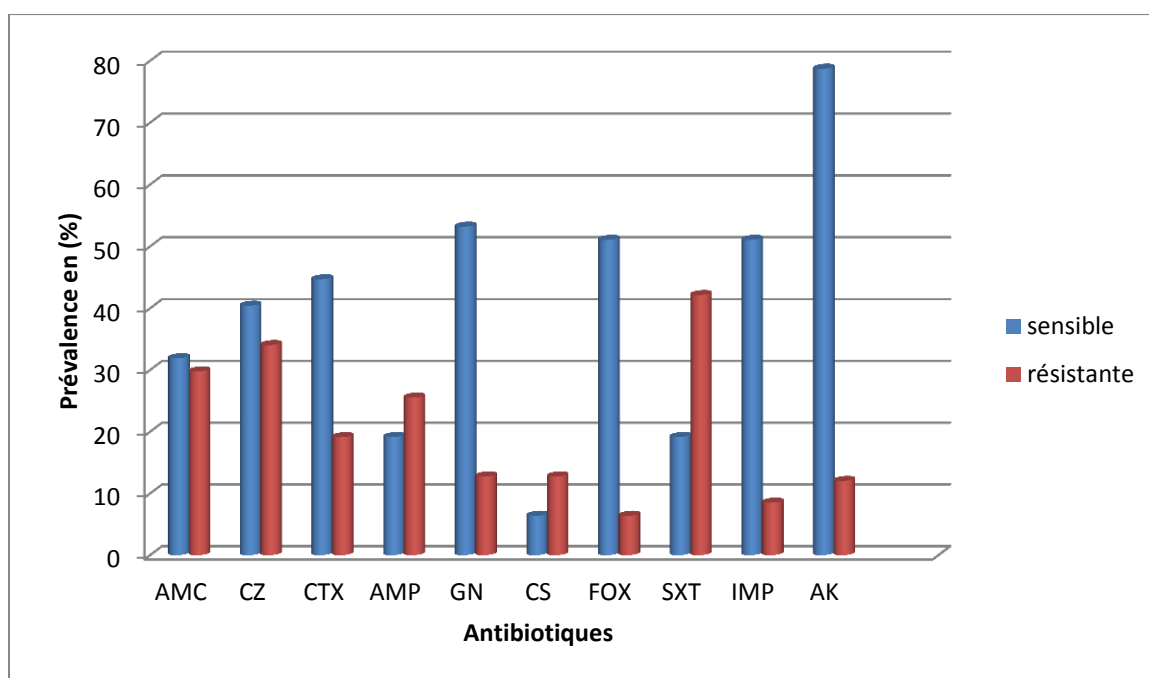


Figure 14: Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez Entérobactéries.

• *Pseudomonas*

Les 07 souches de *Pseudomonas* isolées présentent une sensibilité totale de toutes les souches envers la Ticarcilline plus Ac clavulanique (TCC) (100%), la ceftazidime (CAZ) (100%), la Ticarcilline (TIC) (100%), ainsi qu'une forte sensibilité avec (85.70%) vis-à-vis la Tobramycine (TOB) et la Ciprofloxacine (CIP), la Gentamicine (GN) (71.42%). Une résistance moyenne a été notée vis-à-vis l'Aztreonam (ATM) (57.14%) (**Figure 15**).

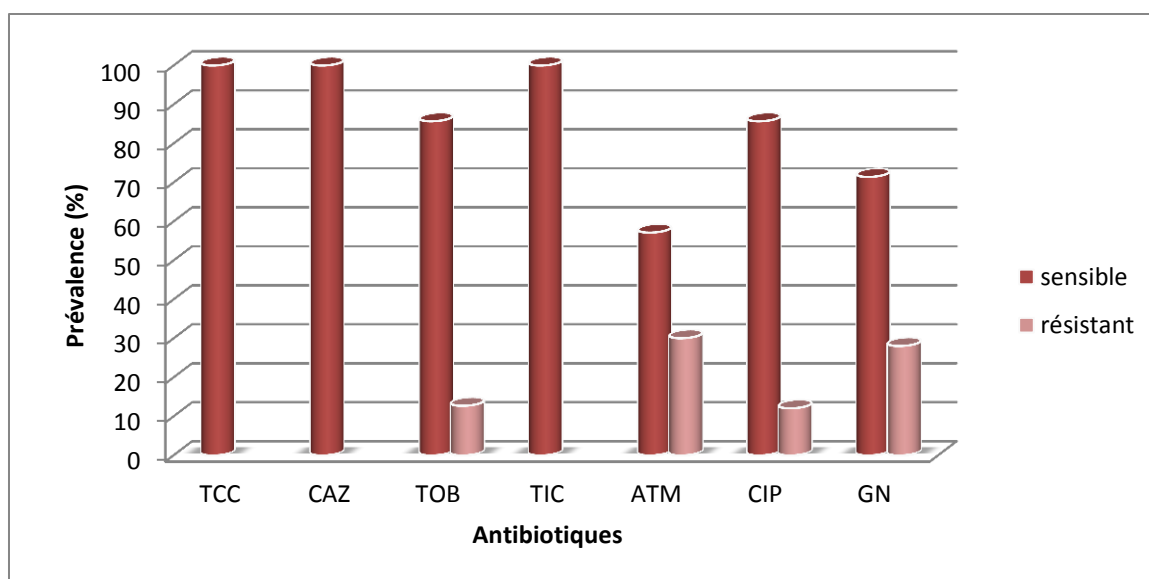


Figure 15: Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches de *Pseudomonas*.

• *Proteus mirabilis*

Les 11 souches de *P.mirabilis* isolées du pied diabétique présentent une sensibilité très élevée envers l'Amikacine (AK) (90.90%) et (81.81%) vis-à-vis la Cefazoline (CZ) et l'Amoxicilline plus Ac clavulanique (AMC) et à la Céfoxitine (FOX) (72.72%). Une sensibilité moyenne a été observée vis-à-vis l'Ampicilline (AMP) (54.54%). Une Résistance moyenne de (45.45%) a été marquée vis à vis la Cotrimoxazole (SXT) et la Colistine (CS), et (27.27%) pour l'Amoxicilline +Ac clavulanique (AMC) et la Chloramphénicole (**Figure 16**).

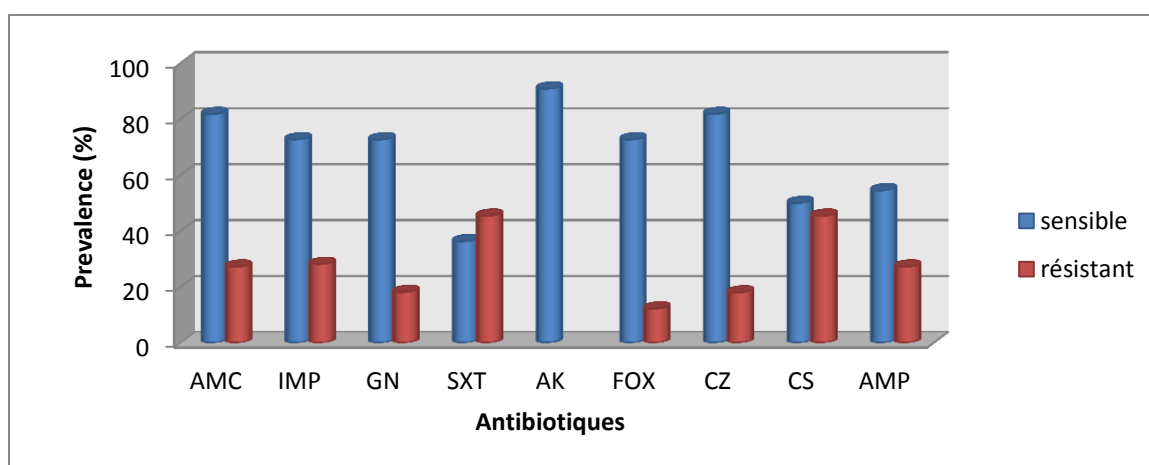


Figure 16 : Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches de *Proteus mirabilis*.

• *Escherichia coli*

Sur les 05 souches d'*E. coli*, nous avons noté une sensibilité totale de toutes les souches isolées vis-à-vis l'Amikacine (AK). Une forte sensibilité a été enregistrée (80%) à la colistine (CS), la Céfotaxime (CTX), la Céfoxitine (FOX), la Céfazoline (CZ) et à la Ciprofloxacine (CIP). Par contre une sensibilité de (60%) a été enregistrée à la Gentamicine (GN) et une résistance moyenne vis-à-vis l'Acide nalidixique (40%) (**Figure 17**).

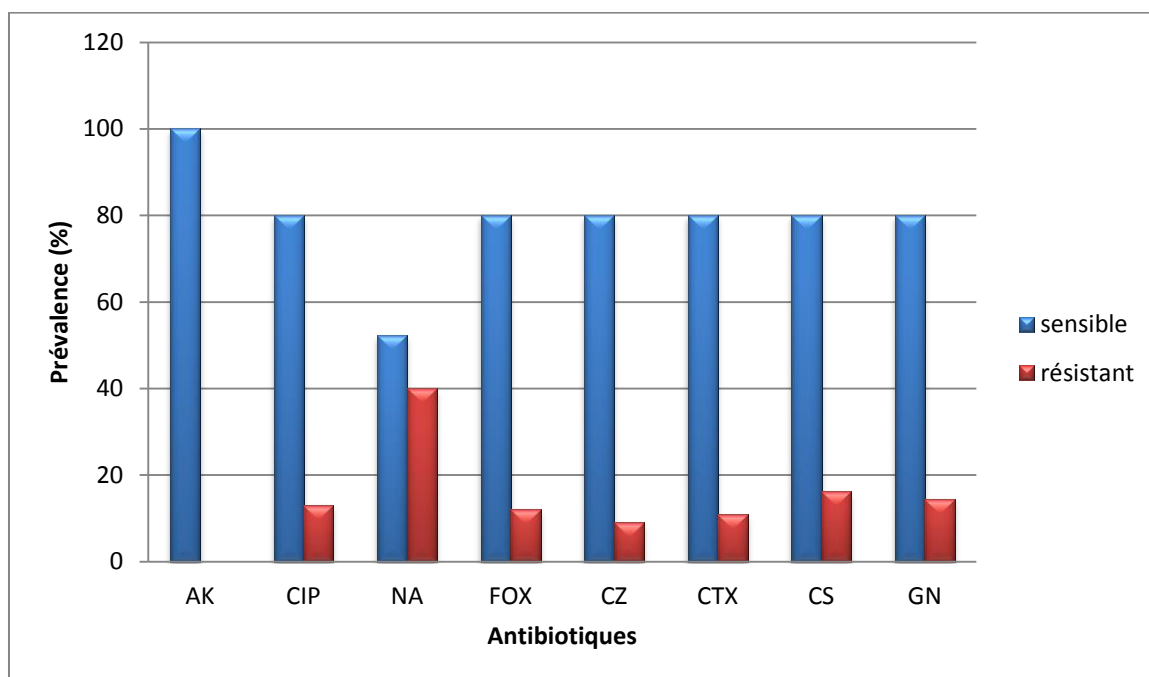


Figure 17 : Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches d'*E. Coli*.

• *Klebsiella pneumoniae*

Les 08 souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées, ont affichées une sensibilité élevée vis-à-vis l'Amikacine (AK) (66.66%) et une sensibilité moyenne (55.55%) vis-à-vis la Gentamicine (GN) et la Céfoxitine (FOX). Une résistance moyenne de (44.44%) vis-à-vis l'Amoxicilline plus Ac clavulanique (AMC), à la Céfotaxime (CTX) et à la Céfazoline (CZ) (33.33%) a été notée (**Figure 18**).

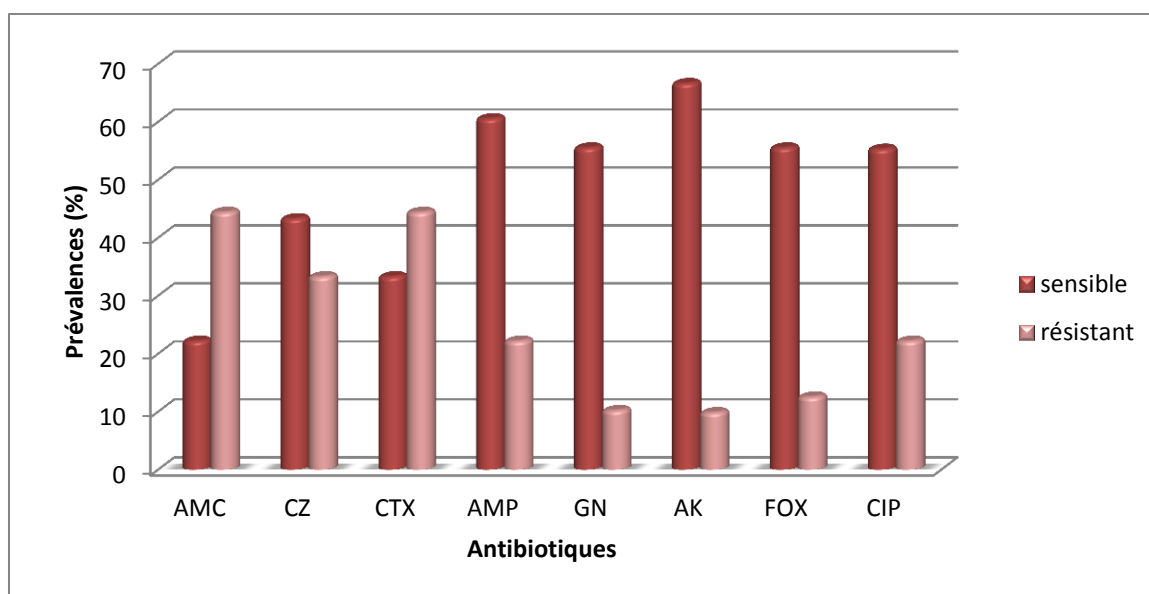


Figure 18 : Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches de *Klebsiella pneumoniae*.

• *Enterobacter*

Les 06 souches d'*Enterobacter* ont montré une résistance élevée (66.66%) vis-à-vis l'Amoxicilline plus Ac clavulanique (AMC) et la Céfazoline (CZ), (50%) vis-à-vis la Céfoxitine et la Céfotaxime (CTX) et l'Ampicilline (AMP)(Figure 17). Une résistance moyenne (33.33%) à l'Imipénème (IMP). Une sensibilité élevée a été enregistrée (66.66%) à l'Amikacine (AK) et une sensibilité moyenne (50%) vis-à-vis la Ciprofloxacine (CIP) et l'Imipénème (IMP) (**Figure 19**).

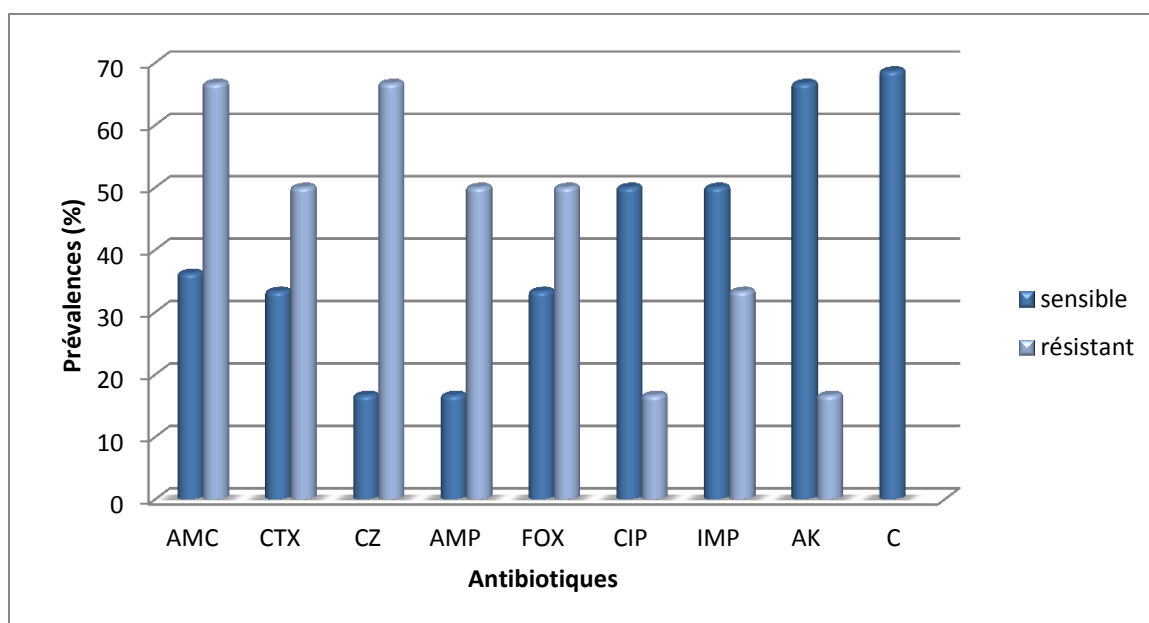


Figure 19 : Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches *d'Enterobacter*

• *Staphylococcus aureus*

La figure 20 montre que les 26 souches de *Staphylococcus aureus* isolée sont marquée une résistance élevée (50%) vis-à-vis la Pénicilline (P) et l'Oxacilline (OX). Une résistance moyenne à l'Acide fusidique (FA) (34.61%), à la Gentamycine (GN) (30.71%), (26.92%) à la Clindamycine (CM), et (23.07%) vis-à-vis la Kanamycine (K) et l'Erythromycine (E). Une sensibilité élevée (53.84%) vis-à-vis l'Erythromycine (E), la Vancomycine (VA) et la Rifampicine (RIF), à la Céfoxitine (FOX) (50%). Une sensibilité moyenne à la Clindamycine (CM) (46.15%), à l'Acide fusidique (FA) (42.30%), à la Gentamycine (GN) (38.46%), à la Tétracycline (TET) (34.61%), et à l'Oxacilline (OX) et la Chloramphénicol (C) (30.71%) a été notée.

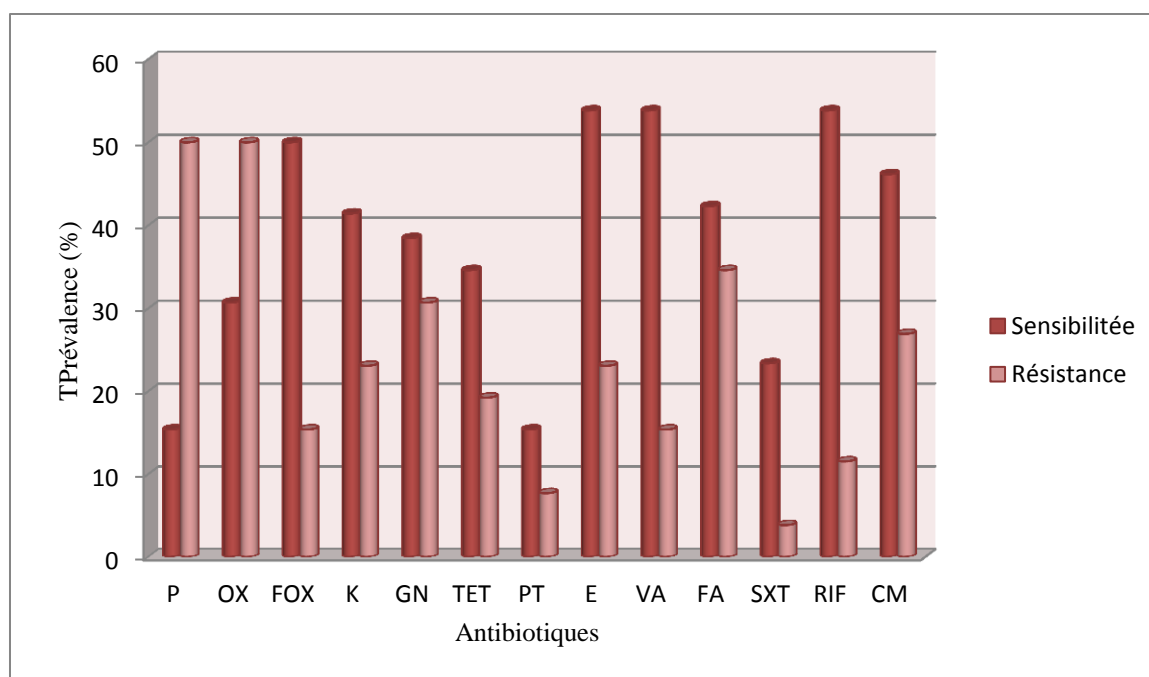


Figure 20 : Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches des *Staphylococcus aureus*.

• ***Staphylococcus aureus* résistante à la méticilline (MRSA)**

Les résultats de l'antibiogramme de 26 souches de *Staphylococcus aureus* isolées montrent que 19.23% des souches sont des MRSA (*Staphylococcus* résistant à la méticilline). Tandis que les 80.76% restant sont des souches sensibles à la méticilline (MSSA) (**Figure 21**).

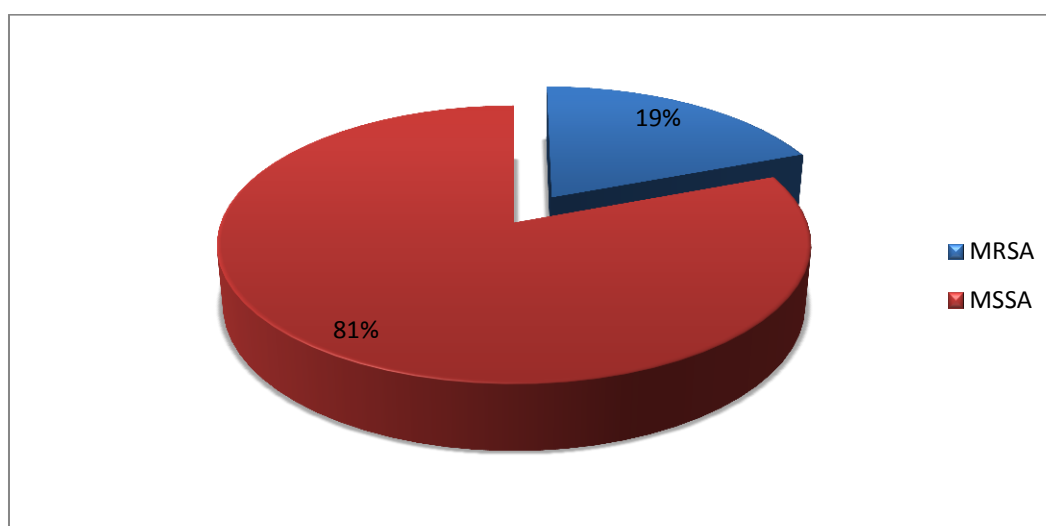


Figure 21: Répartition des souches de *staphylococcus aureus* selon la résistance à la méhticilline (MRSA).

• *Streptococcus*

Les 13 souches de *Streptococcus* isolées présentent une résistance très élevée (69.23%) à la Vancomycine (VA). Une résistance moyenne (23.07%) vis-à-vis la Clindamycine (CM) et l'Erythromycine (E). Une sensibilité très élevée est affichée à la Céfotaxime (CTX) (84.61%), à la Rifampicine (RIF) (69.23%). Par contre une sensibilité moyenne (38.46%) a été observée vis-à-vis la Chloramphenicol (C), la Pristinamycine (PT), la Pénicilline (P) et l'Ampicilline (AMP), et (30.76%) vis-à-vis la Clindamycine (CM), l'Erythromycine (E) et Streptomycine (STR).

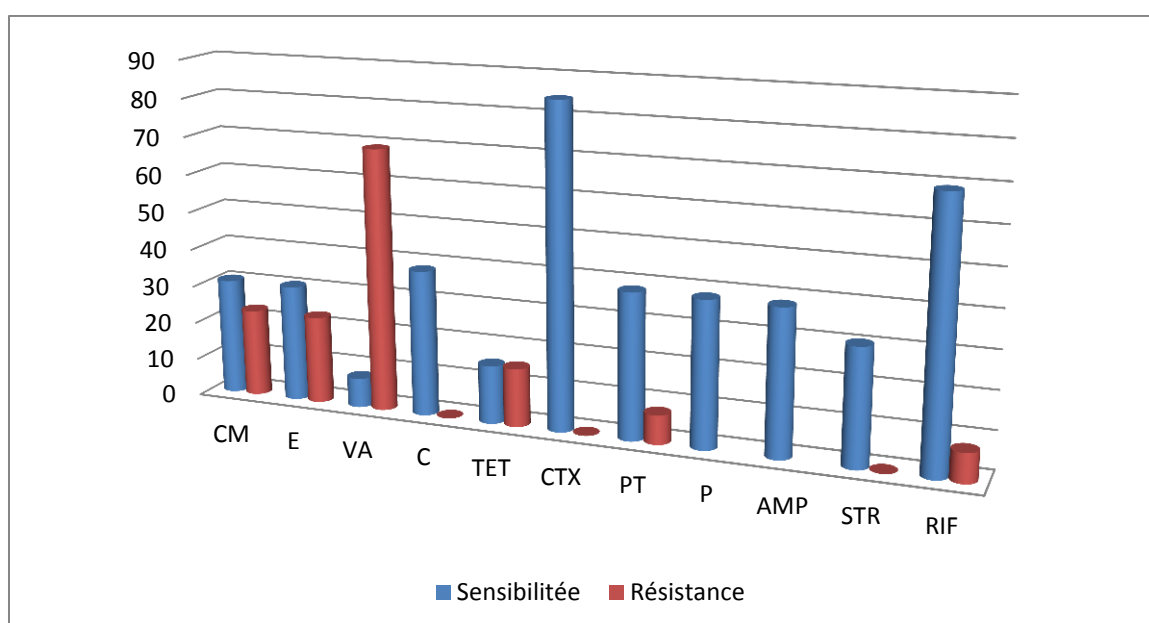


Figure 22: Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches de *Streptococcus*.

2. Etude de l'effet antibactérien de la *Lavandula angustifolia*

Les résultats de l'aromatogramme de *lavandula angustifolia* sur la plus parts des souches isolées du pied diabétique sont motionnés dans le tableau suivant, l'effet antibactérien de l'HE a été observé par la mesure du diamètre de zone d'inhibition à une dose moyenne de 40 μ l.

Chapitre III Résultats et discussion

Tableau 5 : Effet antibactérien de *Lavandula angustifolia* sur les souches isolées du pied diabétique

Souches	Diamètre(mm) (Dose 40 µl)	Profil de résistance (R) / sensibilité (S)
<i>S.aureus</i> (D/493)	0	(P,OX,FOX,GN,K,E,CM,OFX,VA,SXT,TET,FA,RIF)= S
<i>S. aureus</i> (D/482)	0	(CM, VA, SXT) = R
<i>Serratia</i> <i>liquefasciens</i> (Me/59)	15	(AMP, CTX, GN, CZ, SXT) = R
<i>Proteus penneri</i> (D/493)	14	(P, CZ, F, CIP) = R
<i>Proteus</i> <i>mirrabilis</i> (Me/63)	18	(SXT, CS) = R
<i>Enterobacter</i> <i>cloacae</i> (Me/63)	12	(CZ, FOX) = R
<i>Enterobacter</i> <i>cloacae</i> (Me/61)	16	(AMP, AMC, CZ) = R
<i>S.aureus</i> (Me/63)	17	(FOX, CM, E) = R
<i>Serratia</i> <i>liquefasciens</i> (D/493)	16	(AMC, CZ, CM) = R
<i>Proteus</i> <i>mirrabilis</i> (Me/60)	26	(SXT, CS) = R

Chapitre III Résultats et discussion

<i>Burkholderia cepacia</i> (D/440)	20	(TIC , TCC ,CAZ, IMP, ERT, SXT , RIF) = S
<i>S.aureus</i> (Me/61)	20	(P, GN, K, FOX, OX, E, CM, OFX, VA, SXT, TET, FA, RIF) = S
<i>Proteus mirrabilis</i> (Me/61)	20	(GN, SXT, CS) = R
<i>Proteus rettgeri</i> (Pus 08)	28	(TIC) = R
<i>Morganella moraganii</i> (Pus 22)	22	(AMX, CZ) = R
<i>Pseudomonas fluorescens</i> (Pus 18)	14	(AK, CIP, TOB, CAZ, ATM,GN, TIC, PRL, TCC) = S
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Pus 19)	10	(CAZ, PRL, CIP, TOB, TIC, AK, GN, TCC) = S
<i>Streptococcus β haemolytique</i> (D/493)	30	(CM) = R / (P, AMP, GN, VA, C) =S
<i>S. aureus</i> (Pus 04)	30	(P, OX, FA, OT) = R
<i>S. aureus</i> (Pus 18)	34	(OX, OT, K, GN, AK, FA, E, CM , P) = R
<i>Proteus mirrabilis</i> (Pus 06)	22	(C, CZ, CTX, GN, AK, CIP, NA, FOX) = S

Chapitre III Résultats et discussion

<i>Proteus vulgaris</i> (Pus 24)	18	(AMX, CIP) = R
<i>S.aureus</i> (Pus 17)	20	(OT, P, OX) = R
<i>E.coli</i> (Pus 09)	30	(AMX, CZ, TIC, CTX, CIP, GN, AK, FOX, C, NA) = S
<i>Morganella morgani</i> (Pus 07)	28	(CZ, NA) = R
<i>Streptococcus α</i> haemolytique (D/502)	30	(CM, CIP) = R
<i>S.aureus</i>	20	(P, OX, GN, AK, K, FA) = R
<i>Enterococcus faecalis</i>	28	(GN, CM, SXT) = R
<i>Streptococcus α</i> haemolytique (Me/66)	24	(CTX, TET, CM) = R
<i>S.aureus</i> (D/564)	24	(E) = R / (P, OX, FOX, GN, CM, VA, SXT,FA,TET, RIF) = S
<i>Enterococcus sp</i> (D/586)	28	(GN, SXT, LVX, ERT, TET) = R

Les résultats de l'aromatogramme de l'huile essentiel de *Lavandula angustifolia* mentionnés dans le **Tableau 5** montrent des diamètres de zones d'inhibition assez importants vis-à-vis de plusieurs espèces responsables des infections du pied diabétique.

D'après les résultats obtenus nous avons remarqué que parmi les 31 souches isolées et testées présentes le diamètre de zone d'inhibition le plus important est de 34 mm. Ce diamètre est obtenu avec la souche de *Staphylococcus aureus*.

Chapitre III Résultats et discussion

Des diamètres de zones d'inhibition compris entre (28-30 mm) ont été présentés par des souches d'*E.coli*, *Morganella morganii*, *Streptococcus a haemolytique*, *S.aureus*. *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus sp*, *Proteus mirrabilis*, *Proteus vulgaris*. Le diamètre de zone d'inhibition le plus faible est de 10 mm a été observé par une souche de *Pseudomonas aeroginosa*.

Les résultats de cette étude montrent que l'huile essentielle de *Lavandula angustifolia* présente une activité antibactérienne plus importante vis à vis les bactéries à Gram positif par rapport aux bacilles à Gram négatifs qui ont été moins sensibles.

Les résultats de la CMI de l'huile essentielle de *Lavandula angustifolia* obtenus sur les bactéries à Gram (+) et à Gram (-) isolées du pied diabétique sont indiqués dans le tableau suivant :

Tableau 06 : Résultats de la concentration minimale inhibitrice.

Concentrations Souches	0.03(µl)/ml	0.0625(µl)/ml	0.125(µl)/ml	0.25 (µl)/ml	0.5(µl)/ml
<i>S.aureus</i> 18	+	+	+	+	-
<i>Entérocooccus faecalis</i>	+	+	+	+	-
<i>S.aureus</i> 04	+	+	+	+	-
ATCC <i>S.aureus</i> (Témoin +)	+	+	+	+	-
<i>Proteus rettgeri</i>	+	+	+	+	+
<i>E.coli</i>	+	+	+	+	+
<i>Morganel morganii</i>	+	+	+	+	+
ATCC <i>E.coli</i> (Témoin +)	+	+	+	+	+

(+ : Culture positive, - : Culture négative)

Les résultats de la CMI mentionnés dans le Tableau ci-dessus, montrent que l'huile essentielle de *Lavandula angustifolia* n'a pas un effet antibactérien sur les souches Gram (+) et Gram (-) avec de faibles concentrations (0.03 à 0.25 µl/ml). Par contre un effet efficace a été observé sur les souches Gram (+) avec une concentration de (0.5 µl/ml).

Conclusion

L'infection du pied chez les diabétiques constitue un problème majeur de santé publique. Sa prise en charge doit être multidisciplinaire. Elle est non seulement à l'origine d'hospitalisations fréquentes mais peut également mettre en jeu le pronostic vital et, plus souvent, fonctionnel quand la décision d'une amputation d'un membre inférieur s'impose.

Les résultats obtenus au cours de notre étude nous a permis de définir les différents facteurs qui influent les infections du pied diabétique : une prédominance du sexe masculin, la tranche d'âge de survenue est de 45-65 ans, la majorité des patients sont des diabétiques de type II.

D'après cette étude, nous avons constaté que les bacilles à Gram négatif sont les germes les plus responsables des infections du pied diabétiques, ou la majorité des cultures sont de nature poly-microbienne.

L'étude de l'antibiorésistance des souches isolées montre une résistance importante des Entérobactéries aux β -lactamines, et des *Staphylococcus aureus* à la Pénicilline et à l'Oxacilline (50 %), (19.23%) des souches de *Staphylococcus aureus* isolées sont des MRSA (Méthicilin-Resistant *Staphylococcus aureus*).

Les antibiotiques sont le principal moyen de défense dans le traitement des infections bactériennes. Cependant, leurs effets sont désormais menacés parce que leur utilisation aveugle a déclenché un phénomène de résistance aux antibiotiques. Pour cela nous avons procédé à une autre thérapie en utilisant l'huile essentielle des plantes (*Lavandula angustifolia*).

Les résultats de l'aromatogramme ont montré que l'huile essentielle de *Lavandula angustifolia* a présenté une bonne activité sur toutes les souches isolées d'où *Staphylococcus aureus* a présenté le taux de sensibilité le plus élevé.

Pour conclure, l'huile essentielle de *Lavandula angustifolia* pourra servir comme un bon traitement à application cutané pour les différentes lésions superficielles du pied diabétique grâce à son fort pouvoir antibactérien.

Références bibliographiques

A

Atek M., Laid Y., Mezimeche N., Lebcir H. Diabète de type 2 et facteurs associés chez les adultes algériens 35-70 ans. 5ème congrès nationale de la société algérienne de médecine vasculaires (SAMEV) Algérie (2013).

Archambaud M. Les Antibiotiques mode d'action et mécanismes de Résistance Laboratoire Bactériologie-Hygiène CHU Rangueil Toulouse (2009) 38.

Abrassart S., Uckay I. Service de chirurgie orthopédique et traumatologie Infections diverses : Où commence la chirurgie ? Médecine de Premier recours Université de Genève faculté de médecine (2011) 33.

Alami T. Fasciite nécrosante des membres Thèse N° 233 pour l'obtention de doctorat en médecine de l'Ecole Royal de service de Santé Militaire – Rabat (2009) 160.

Amazian K., Rossello J., Castella A. Prévalence des infections nosocomiales dans 27 hôpitaux de la région méditerranéenne. La Revue de Santé de la Méditerranée orientale vol 16 (2010) 9 : 1077- 1078.

B

Bouayed M.N., Moro, Bachaoui Y. La prise en charge du pied diabétique dans un service de chirurgie vasculaire vol 3 (2010) 63-69.

Blanc, Cadiergue, Annonay. Diabète et infections nosocomiales en réanimation. Journée du réseau réa Sud-Est (2004) 14.

Baumann A., Sturzenegger M. Neuropathie motrice multifocale (NMM) Diagnostic difficile, confusion facile, traitement efficace Forum Med Suisse vol 6 (2006) 981-987.

Biomérieux, Système d'identification des Entérobactéries et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux (2010) 13.

Bovin M. Soins des pieds pour les personnes diabétiques. Un service éducatif aux assistants techniques en pharmacie du Canada (2010) 7.

Boulton A. Le pied diabétique : épidémiologie, facteurs de risque et état des soins. *Diabète Voice* vol 50 (2005) 5-7.

Boukhatem, M, N., Ferhat, M, A., Kameli, A., Saidi, F., & Mekarnia, M. Liquid and vapour phase antibacterial activity of *Eucalyptus globulus* essential oil= susceptibility of selected respiratory tract pathogens. *American Journal of Infectious Diseases*, 10(3),(2014)

105-117.

Bonnet R., Bru J.P., Caron F. Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie vol 1 (2014) 115.

Bernard L. et al. Recommandations pour la pratique clinique. Prise en charge du pied diabétique infecté. *Med Mal inf* (2007) 37 : 26-50.

Belou G., Bertoglio J., Bouly M. Médecine des maladies Métaboliques Société francophone du diabète Elsevier Masson vol 9 (2015) 40.

Bouzouita N., Kachouri F., Ben Halima M., Chaabouni MM. Composition chimique et activité antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*, *Société Chimique de Tunisie*, (2008) p. 119 - 125.

C

Calvino B. Physiopathologie des neuropathies diabétiques. Ecole Supérieure de Physique et de Chimie Industrielles de la Ville de Paris UMR ESPCI-CNRS 7637 (2012) 41.

Coppo P., Loirat C. Microangiopathies thrombotiques (2011) 32.

Collège des Enseignants d'Endocrinologie, Diabète et Maladies Métaboliques (CEEDMM) Université Médicale Virtuelle Francophone Complications dégénératives et métaboliques du diabète. (2011) 55.

Corpataux J-M. Pied diabétique : Faisabilité et utilité des reconstructions artérielles Service de Chirurgie Thoracique et Vasculaire CHUV (2012) 44.

Colette C., Monnier L. Mesures hygiéno-diététiques et états diabétiques Diabétologie Chapitre 6 Partie III : Thérapeutique Edition Elsevier Masson (2014) 91-113.

Cox S.D., Mann C.M., Markham J.L., Bell H.C., Gustafson J.F., Warmington J.R. et

Wyllie S.G. The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Malaleuca*

alternifolia (tee tree oil), Journal of Applied Microbiology (2000)170-175.

Chahboun N, Esmail A, Abed H. Evaluation de l'activité bactériostatique d'huile essentielle de *la Lavandula Officinalis* vis-à-vis des souches d'origine clinique résistantes aux antibiotiques ISSN : 2028-2508 CODEN: JMESC vol 4 (2015) 1186-1191.

Chakib M. Prévalence du diabète en Algérie : La valse des chiffres Santé-Mag - N° 01 (2011) 31.

Ctargi B. La glycémie postprandiale Un paramètre à prendre en compte (aussi) dans le diabète de type 2. Diabète & Obésité vol 6 (2011) 5 : 352- 356.

Crea T. Pied diabétique : impact épidémiologique et importance du problème en diabétologie Service d'Endocrinologie-Diabétologie Hôpital Beauregard Thionville (2009) 29.

D

Dehayem M. Le pied diabétique. (2008) 51.

Dehayem Y. Complication dégénératives et suivi du diabète Service d'Endocrinologie Diabétologie Centre National de l'Obésité l'Hôpital Central Yaoundé (2009) 75.

Denis F., Cécile M., Martin C., Bengen E., Quentin R. Bactériologie médicale Technique usuelles. Edition Masson. Paris. (2007) 573.

Delarras C. Pratique en microbiologie de laboratoire Recherche de bactéries et de levures-moisissures, Éditions Lavoisier, Paris ISBN : 978-2-7430-1565-7 (2014).

Diarra Y. Etude des amputations consécutives aux complications du diabète à l'hôpital Nianankoro Fombade Ségou. Thèse de médecine la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie (2008) 125.

Ducel G., Fabry J., Nicole L. Prévention des infections nosocomiales Guide pratique. 2ème Edition (2002) 80.

Dumont I., Richard J.L. Groupe International de Travail sur le Pied Diabétique Consensus International sur la Prise en Charge et la Prévention du Pied Diabétique (2011) 358.

E

El Mezouar I., Abourazzak F.Z., Tahiri L. La neuroarthropathie de Charcot : mise au point. Service de Rhumatologie, CHU Hassan II, Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, Maroc. Revue Marocaine de Rhumatologie (2013) 23 : 37-42.

El allali B. Prise en charge chirurgicale du pied diabétique Thèse n° :55 Université Mohammed V faculté de médecine et de pharmacie Maroc (2015) 257.

F

Fada M.D., Sow P.S. Recommandation nationale pour le bon usage des antibiotiques Livret 2 Antibiothérapie des infections communautaires de l'adulte et de l'enfant 1ère édition (2010) 96.

Fischera D., Grumbach M. Neuropathies autonomes Forum Med Suisse vol 12 (2012) 299–303.

Franhome P., Penoél D. L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles Edition Roger Jallois (1990) 445.

G

Grumbach M., Richard L. Pour la prévention et le traitement local des lésions des pieds chez les diabétiques Paris (2005) 28.

Gheit A. Les principales bactéries isolées des pus superficiels et leur comportement vis-à-vis des antibiotiques. Thèse pour l'obtention de doctorat en pharmacie n° 102 (2011) 173.

Godreuil S. Infections nosocomiales et bactéries multi résistantes. Faculté de Médecine Montpellier – Nîmes (2007) (2).

Guimet P., Pasquier E., Olchini D. Le diabète et les autres facteurs de risque cardiovasculaire DC 06 Handicap International (2012) 106.

Grosjean J., Clave D., Archambaud M., Pasquier C. Bactériologie et virologie pratique. Edition De Boeck. Bruxelles. (2009) 55-170.

Grimaldi A. Diabétologie Questions d'internat Université Pierre et Marie Curie Faculté de médecine (2000) 142 : 10.

Grumbach M-L., Jean L-R. pour la prévention et le traitement local des lésions du pied chez les diabétiques. Recommandations de bonnes pratiques Alfediam, paramédical (2005) 6-7.

Gastaldi G., Ruiz J., Borens O. «Pied de Charcot» : un diagnostic à ne pas manquer ! Revue Médicale Suisse 1212-20 vol 9 (2013).

Guerreiro L. Synthèse Diabète « Soins infirmiers auprès des personnes diabétiques » (2007) 25.

H

Hartemann A., Lozeron P. Les neuropathies périphériques chez les diabétiques. Université Pierre et Marie Curie Paris 6, Institut Hospitalo-Universitaire ICAN, Service de diabétologie, Hôpital de la Pitié, APHP, 75013 Paris vol 74 (2015) 70-73.

Hervé T. Les lésions du pied chez le diabétique au centre hospitalier nationale Yargado Ouédraogo de Ouagadougou thèse pour l'obtention de doctorat en médecine (1997) 111.

Hartemann-Heurtier A. Recommandations pour la pratique clinique : prise en charge du pied diabétique infecté définition, aspects diagnostiques, facteurs pronostiques. La Pitié, Paris (2006) 18.

Husson M-C. Escarre, Ulcère, Pied diabétique : Pansements et biomatériaux. Aide à la cicatrisation. Evaluation thérapeutique Centre Nationale Hospitalier d'Information sur le Médicament ISSN 0223. 5242 Tome 6 (2003)64.

Ha Van D., Paquet P.H., Maertenens de Noordhot B. Le pied diabétique : Etiopathogénie, prévention et traitement. Revue Médicale de Liège XLIX (2010) 94 :1- 11.

Hartemann-Heurtier A. Infection de la peau et des tissus mous du pied diabétique : des recommandations à la pratique Médecines et maladies infectieuses Paris (2007) 37: 26-50.

Hannat S., Salemi F., Khetabi S. Profil bactériologique des lésions trophiques du pied diabétique et leur résistance aux antibiotiques. Médecine interne CHU Sétif Algérie Elsevier Masson (2008) 145.

Hannat S., Khetabi S., Chemat R. Lésions trophiques du pied diabétique à propos de 236 cas Médecine interne CHU Sétif Algérie Elsevier Masson (2008) 146.

I

IyaneSow A. Rappels sur les antibiotiques et les résistances bactériennes (2012) 28.

Imbert B., Alibeu JP. Prise en charge de la douleur dans l'ischémie chronique des membres inférieurs EPP médecine vasculaire (2011) 25.

J

Jutras P. Pied diabétique infecté cas cliniques. Département de microbiologie CSSSRN (2007) 62.

Jacqueminet S., Ha Van G., Lejeune M., Hartemann-Heurtier A. Prise en charge du pied diabétique infecté La Lettre de l'Infectiologue - Tome XVII - no 8 Service de diabétologie, hôpital Pitié-Salpêtrière, 75651 Paris Cedex 13 (2002) 265-270.

Joly B, Reynaud A. Entérobactéries- Systématique et méthode de diagnostics. Edition Lavosier. Paris (2003) 356-369.

K

Keita S. Les amputations liées aux complications du diabète courant dans le service de chirurgie orthopédique et traumatologique de l'hôpital Gabriel Toure (2008) 85.

L

Lahlou M. Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils, *Phytotherapy Research*, (2004) 435-448.

Lavigne PG. Effets des antibiotiques et mécanismes de résistance. Faculté de Médecine Montpellier – Nîmes (2007) 3.

Lecornet E. Bactéries multirésistantes et pied diabétique Facteurs de risque, évolution, prévention. Université de Pierre et Marie Curie XIVème Journée Régionale de Pathologie Infectieuse Paris (2007) 16.

Lushiku E.B. Le pied diabétique Diabetic foot Service d'Orthopédie-Traumatologie, H.I.S., Sites Etterbeek-Ixelles et Molière-Longchamp *Rev Med Brux* (2006) 315-322.

M

Murphy K., Connor Gorber S., O'Dwyer A. Descriptions des états de santé au Canada : Diabète. Groupe d'analyse et de mesure de la santé (2005) No 82-619-MIF au catalogue-No 002 23.

Meyer R., Kessler L. Le pied diabétique Première partie *La Lettre du Rhumatologue* - n° 264 Service de rhumatologie, CHU Hautepierre, Strasbourg. Service d'endocrinologie et maladies de la nutrition, CHU Strasbourg (2000) 24-35.

Mohammedi D. Classification et mode d'action des antibiotiques (2010) 10.

Masson G. Les neuropathies douloureuses CHU de Bordeaux, Unité pathologie Neuro-musculaire (2010) 52.

Mathieu D., Perrot J-L, Rémy G. Erysipèle et fasciite nécrosante : prise en charge. Conférence de consensus Texte long Société Française de Dermatologie Ann Dermatol Venereol (2001) 128:463–82.

Moty-Monnereau C., Hugo Peyre M. Séances de prévention des lésions des pieds chez le patient diabétique, par le pédicure- podologue. Classement NGAP : article 3, chapitre II, titre XII, non inscrit. Haute Autorité de santé (2007) 47.

Monabeka H.G., Nsakala-Kibangou N. Aspects épidémiologiques et cliniques du pied diabétique au CHU de Brazzaville Bull Soc Pathol Exot, vol 94 (2001) 246-248.

N

Nakkab S. Examen cyto bactériologique des pus cutanés et sous cutanés chez les diabétiques. EPH de Blida. Université de Saad Dahleb (2001) 53-65.

Nam Han Cho., Whiting D., Guariguata L. ATLAS du DIABÈTE de la FID (Fédération Internationale du Diabète), 6eme édition (2013).

Nibouche- Hattab N.W. Étude de la morbidité au moment du diagnostic du diabète de type 2 de l'adulte. Université d'Alger -Benyoucef Benkhedda (2015) 273.

O

Osborne T. Complications du diabète sucré Aigus et chroniques (2012) 46.

Ouhada F. Diabète en Algérie «10% de la population est atteinte» Entretien avec Le président de l'association des diabétiques de la wilaya d'Alger, M. Fayçal Ouhada Santé Mag n°4 (2012) 32-33.

P

Piriou V., Closon M., Feugier P. Prise en charge en urgence d'un patient en ischémie aiguë des membres inférieurs Elsevier Masson SAS (2007) 25-190-A-20.

Pozzetto B., Etienne S. Microorganismes responsables d'infections nosocomiales Fiches conseils pour la prévention du risque infectieux – Infection CCLIN Sud-Est (2009) 10.

Pedgrift C. L'impact médical hospitalier de la prise en charge du pied diabétique. (2011) 73.

Pouget J., Vandenberghe N., Kitio B. Prise en charge diagnostique des neuropathies périphériques (poly neuropathies et mono neuropathies multiples) Haute Autorité de santé Service des recommandations professionnelles France (2007) 28.

Pilly E. Infections ostéoarticulaire de l'adulte et de l'enfant n°153 Edition Alinea plus 75014 Paris (2015) 108-115.

Petignat C. Infections nosocomiales Bases épidémiologiques Pathogenèse de l'infection DAMPH, CHUV(2005) 37.

Provost A.G. Prévention des lésions ulcérées du pied Chez le diabétique : utilisation du Mono filament en médecine générale. Thèse N°2005PA06G026 Pour le Doctorat en médecine Université Pierre et Marie Curie Paris (2005) 57.

Prevost E. Place de l'insulinothérapie fonctionnelle dans la prise en charge du diabète de type 1 Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie Université de Lille 2 (2015) 195.

Q

Qassimi F.L e pied diabétique expérience du service de dermatologie à l'hôpital militaire moulay ismail de meknes a propos de 49 cas (2015) Thèse N° 097/15 187.

R

Romon I., Dupin J., Fosse S. Relations entre caractéristiques socio-économiques et état de santé, recours aux soins et qualité des soins des personnes diabétiques n°45 (2006) 347-354.

Rebecka M., Kliniken E K. Gangrène de pied diabétique Traitement de plaie postopératoire Observations cliniques D - 21682 Stade Allemagne WCM.07.G.016.a - P101923 (2005) 4.

Rouabhia S., Malek R., Bounecer H. Prévalence de diabète de type II chez les patients atteints d'hépatite virale chronique C dans la région de Batna (2010) 28.

Richard J.L., Sotto A. Infections du Pied Diabétique. Faculté de médecine Montpellier-Nîmes (2008) 34.

S

Scheen A., Bruwier G., Schmitt H. Optimisation de la prise en charge du patient diabétique de type 2 : Résultats de l'étude "DREAM" en médecine générale université de Liège Rev Med Liège vol 3 (2003) 139-146.

Singh N., Armstrong D., Lipsky B. Preventing foot ulcers in patients with diabetes. Edition JAMA, (2005) 293 217-228.

Stahl J.P. Recommandations pour la pratique clinique Prise en charge du pied diabétique infecté Médecine et maladies infectieuses Elsevier Masson (2007) 25: 29–49.

Shaw J.B. Ulcères du pied diabétique– prévention et traitement Coloplast Unit 12 ON L5L 5Z9 1-877-820-7008 vol 3 (2012) 20.

Strainchamps N. Etude des marqueurs prédictifs de risque cardiovasculaire chez les patients diabétiques de type 2. Thèse Pour le doctorat en médecine Université Paris Descartes (2011) 72.

T

Toumi A., Bernard L., Chakroun M. Antibiothérapie des infections du pied diabétique Revue Tunisienne d'Infectiologie. Vol 5 (2011) N°2 61 – 67.

Touati M. Antibiorésistance des bacilles à Gram négatif non fermentant isolés au niveau des services de réanimation - CHU Annabathèse en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en microbiologie (2013) 156.

Tadili M. Le pied diabétique Thèse n°101 pour l'obtention de doctorat en médecine Université de Cadie Ayad Maroc (2008) 130.

V

Vincent R. Antibioresistance et conséquences en santé au travail pour les soignants références en santé au travail n° 142 (2015) 14.

Van Bambeke F., Tulkens P. Pharmacologie et pharmacothérapie anti-infectieuse antibiotiques et antifongiques Unité de Pharmacologie Cellulaire et Moléculaire Université catholique de Louvain Bruxelles (2008) 212.

Van Damme H, Rorive M, Maertens De Noordhout B, et al. Amputations in diabetic patients, a plea for foot sparing surgery. (2001) 101: 123-129.

W

Wazieres B. L'infection nosocomiale existe-elle dans les structures d'hébergement pour personnes âgées? Université de Montpellier I (2011) 29.

Z

Zufferey et al. Suppurations et fistules ano-rectales. Swiss Médical Forum vol 5 (2005) 851-857.

Annexe I

Tableau 7 : Lecture De La Galerie Miniaturisee Api 20e

Microtube	Substrat	Caractère recherché	Produit(s) formé (s)	Lecture directe ou indirecte	Résultat +	Résultat -
ONPG	Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	β -galactosidase	ONP galactose (jaune)	Lecture directe	Jaune	Incolore (1)
ADH	Arginine	Arginine Dihydrolase (ADH)	Produitsbasiques	Lecture directe	Rouge-orange	Jaune (2)
LDC	Lysine	Lysine Décarboxylase (LDC)	Produitsbasiques	Lecture directe	Rouge-orange	Jaune (2)
ODC	Ornithine	Ornithine Décarboxylase (ODC)	Produitsbasiques	Lecture directe	Rouge-orange	Jaune (2)
CIT	Citrate	Utilisation du citrate	CO ₂ H ₂ O	Lecture directe	Bleu	Vert
H ₂ S	Thiosulfate de sodium (S ₂ O ₃ ²⁻)	Production d'H ₂ S (Thiosulfate Réductase)	H ₂ S	Lecture directe	Noir	Incolore
URE	Urée	Uréase	Carbonate d'ammonium	Lecture directe	Rouge	Jaune
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	Acide Indole Pyruvique + NH ₃	Lecture indirecte : ajouter 1 goutte de Perchlorure de Fer (TDA)	Marron brun <i>immédiat</i>	Jaune
IND	Tryptophane	Tryptophanase	Indole + A. pyruvique + NH ₃	Lecture indirecte ajouter 1 goutte de réactif de Kovacs	Rouge (2min)	Incolore
VP	Pyruvate	Production d'acétoïne	Acétoïne	Lecture indirecte (Attendre 10 minutes) ajouter 1 goutte de VP1(KOH) et de VP2 (α -naphthol)	Rouge	Incolore (3)

Annexe I

<u>GEL</u>	Gélatine	Gélatinase	Acides Aminés	Lecture directe	Noir	Incolore (+Particules intactes)
<u>GLU à ARA</u>	Substrat carboné	Utilisation de substrat carboné	Acides	Lecture directe	Jaune	Bleu ou bleu vert

Lecture de la galerie API 20^E

- (1) une très légère couleur jaune est positive
- (2) une couleur orange après 48H d'incubation doit être considérée comme négative
- (3) une légère coloration rose après 10 minutes doit être considérée comme négative

EXEMPLE :

Résultats reportés sur la fiche d'identification

Coden°: 5 215 773 (55)

ident.

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

Annexe I

Tableau 8 : Liste des antibiotiques testés pour les entérobactéries

Antibiotiques	Abréviations	Charges (□g)	Familles
Ampicilline	AMP	30	β-lactamines
Amoxicilline+Acideclavulanique	AMC	20+10	
Céfazoline	CZ	30	
Céfotaxime	CTX	30	
Céfoxitine	FOX	30	
Imipénème	IMP	10	
Gentamycine	GM	10	Aminosides
Amikacine	AK	30	
Acidenalidixique	NA	30	Quinolones
Ciprofloxacine	CIP	5	
Chloramphénicol	C	30	Phénicoles
Triméthoprime-sulfaméthoxazole	SXT	1.25+23.75	Sulfamides
colistine	CS	50	Polymyxine
Furane	FT	300	Nitrofurane

Tableau 9 : Liste des antibiotiques testés pour les souches de *Pseudomonas* sp

Antibiotiques	Abréviations	Charges (□g)	Familles
Ticarcilline	TIC	75	β-lactamines
Ticarcilline + ac.clavulanique	TCC	75+10	
Pipéracilline	PEP	100	
Céftazidime	CAZ	30	
Aztréonam	ATM	30	
Imipénème	IMP	10	

Annexe I

Gentamycine	GM	10	Aminosides
Amikacine	AK	30	
Netilmicine	NET	30	
Tobramycine	TM	10	
Ciprofloxacine	CIP	5	Quinolones
colistine	CS	50	Polymyxine

Tableau 10 : Liste des antibiotiques testés pour les souches de *Staphylococcus aureus*

Antibiotiques	Abréviations	Charges (□g)	Familles
Pénicilline	P	10	β-lactamines
Oxacilline	OX	01	
Cefoxitine	FOX	30	
Kanamycine	K	30	
Gentamycine	GN	10	
Tétracycline	TET	30	
Pristinamycine	PT	15	Aminosides
Erythromycine	ERY	15	
Vancomycine	VA	30	
Acidefusidique	FA	10	
Clindamycine	CM	02	Quinolones
Teicoplanine	TEI	30	Polymyxine
Triméthoprime + sulfamides	SXT	25	
Rifampicine	RIF	05	

Tableau 11 : Valeur critiques des diamètres des zones d'inhibition pour les *Entérobactéries*

Antibiotiques	Charges (□g)	sensible	intermédiaire	résistante
Ampicilline	10	≥ 17	14 – 16	≤ 13
Amoxicilline+Acide clavulanique	20+10	≥18	14 – 17	≤ 13
Céfazoline	30	≥18	15 – 17	≤ 14

Annexe I

Céfotaxime	30	≥ 23	15-22	≤ 14
Céfoxitine	30	≥ 18	15-17	≤ 14
Imipénème	10	≥ 16	14-15	≤ 13
Gentamycine	10	≥ 15	13-14	≤ 12
Amikacine	30	≥ 17	15-16	≤ 14
Acide nalidixique	30	≥ 19	14-18	≤ 13
Ciprofloxacine	5	≥ 21	16-20	≤ 15
Chloramphénicol	30	≥ 18	13-17	≤ 12
Triméthoprime-sulfaméthoxazole	1.25+23.75	≥ 16	11-15	≤ 10
colistine	50	≥ 15	/	≤ 15
Furane	300	≥ 17	15-16	≤ 14

Tableau 12 : Valeurs critiques des diamètres de zones d'inhibition pour *P. aeruginosa*

Antibiotiques	Charges (\square g)	sensible	intermédiaire	résistante
Ticarcilline	75	≥ 15	/	≤ 14
Ticarcilline + ac.clavulanique	75+10	≥ 15	/	≤ 14
Pipéracilline	100	≥ 18	/	≤ 17
Céftazidime	30	≥ 18	15-17	≤ 14
Aztréonam	30	≥ 22	16-21	≤ 15
Imipénème	10	≥ 16	14-15	≤ 13
Gentamycine	10	≥ 15	13-14	≤ 12
Amikacine	30	≥ 17	15-16	≤ 14
Netilmicine	30	≥ 15	13-14	≤ 12
Tobramycine	10	≥ 15	13-14	≤ 12
Ciprofloxacine	5	≥ 21	16-20	≤ 15
colistine	50	≥ 15	/	≤ 15

Annexe I

Tableau 13 : Valeurs critiques des diamètres de zones d'inhibition pour *Staphylococcus aureus*

Antibiotiques	Charges (\square g)	sensible	intermédiaire	résistante
Pénicilline	30	≥ 29		≤ 28
Oxacilline	30	\geq		\leq
Céfoxitine	30	≥ 22		≤ 21
Gentamicine	10	≥ 15	13-14	≤ 12
Kanamycine	30	≥ 16	14-17	≤ 13
Vancomycine		\geq		\leq
Erythromycine	15	≥ 23	14-22	≤ 13
Clindamycine	02	≥ 21	15-20	≤ 14
Triméthoprim+ sulfaméthoxazole 1	05	≥ 16	11-15	≤ 10
Tétracycline	30	≥ 19	15-18	≤ 14
Amikacine	30 μ g	≥ 17	15 -16	≤ 14
Ofloxacin	5	≥ 18	15-17	≤ 14
Rifampicine	5	≥ 20	17-19	≤ 16
Chloramphénicol	30	≥ 18	13 – 17	≤ 12
Pristinamycine	15	≥ 22	19 – 21	≤ 19
Acide fusidique	10	≥ 24	-----	≤ 24
Fosfomycine	50	≥ 14	-----	≤ 14

Annexe II

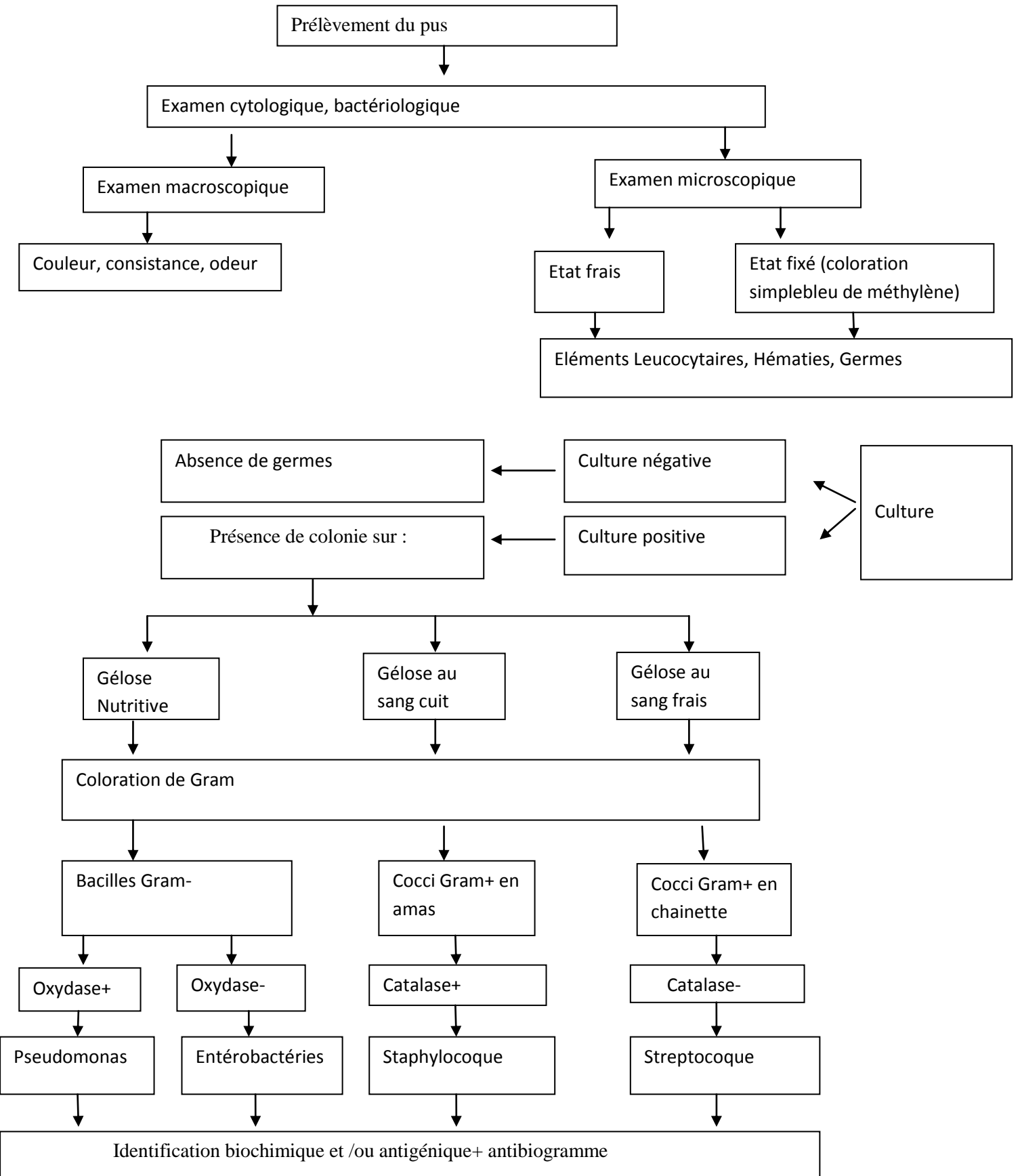


Figure 25 : Diagramme de l'examen cytot bactériologique de pus.

Annexe II

			
Vortex (agitateur)	La hotte	Bec benzène	Etuve
			
Microscope	Bain marie	Densitomètre	Appareil pour coloration de Gram
			
Ecouvillon stérile	Pipette Pasteur	Pince métallique	Anse de platine
			
Api 20E	Lame et lamelle	Eau physiologique stérile	L'huile de vaseline
			
Eau de javel	Eau oxygéné	Alcool	Violet de Gentiane

Annexe II








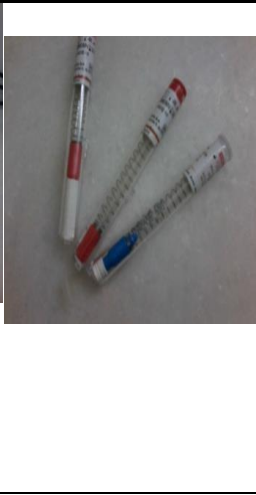

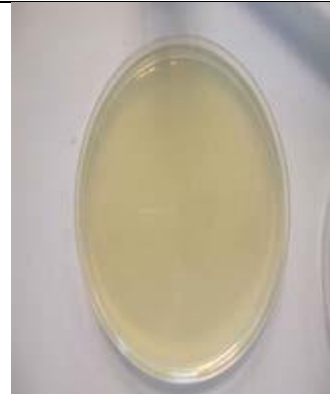




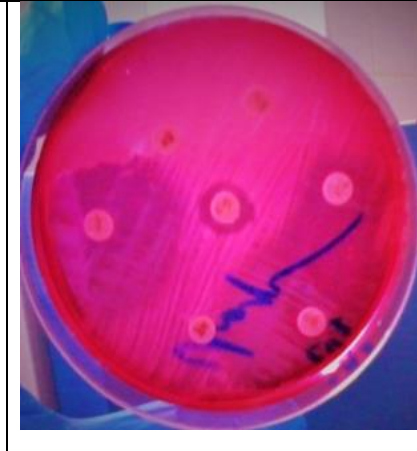
			
Fuschine	Lugol	Réactif TDA	Réactif VPI
			
Réactif VPII	Réactif de la Nitrate NRI	Réactif de Kovacs	Disques d'antibiotiques

Figure 26 : Appareillage, verreries, réactifs et solutions.

Annexe II

Milieux de cultures			
Milieux d'isolement			
	Gélose au sang cuit	Gélose nutritifs	Gélose au sang frais
Milieux d'enrichissement			
	Bouillon glucosé tompné (BGT)	Bouillon cœur cerveau (BHIB)	
Milieux d'antibiogramme			
	Gélose Muller Hinton	Gélose Muller Hinton+sang	

Annexe II

Milieux d'identification		
		Recherche de citrate comme seule source de carbone
Citrate de Simmons	Virage de l'indicateur de pH au bleu : il y a eu alcalinisation du milieu et la souche est citrate de Simmons +.	
		Recherche du : Mannitol Mobilité
Mannitol mobilité	milieu jaune orangé : Mannitol + La mobilité : Les bactéries très mobiles peuvent se déplacer dans la gélose molle	

Figure 27 : Les principaux milieux de culture utilisés.

Annexe II

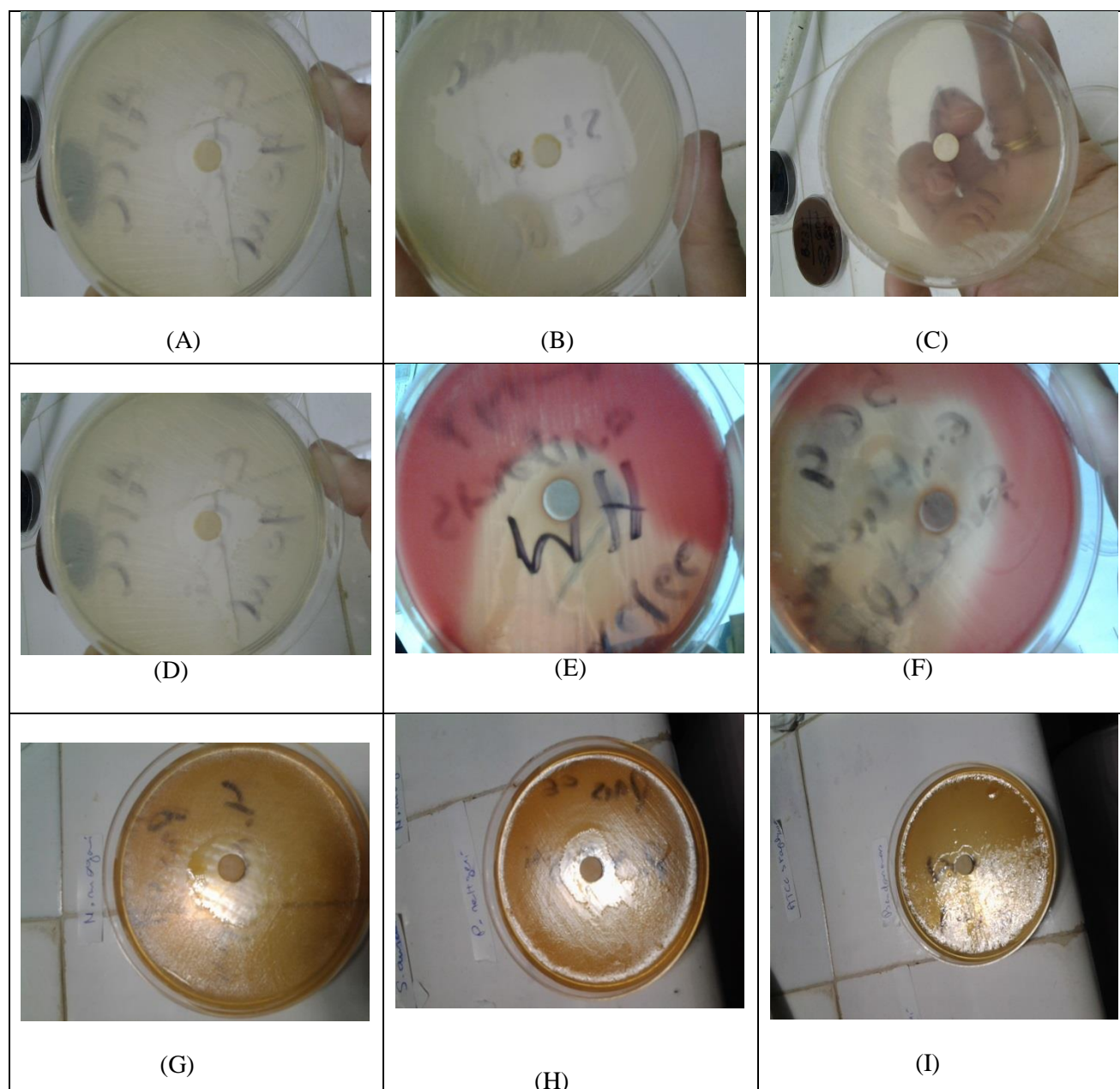


Figure 24 : Activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Lavandula angustifolia* (Originale).

- A) ATCC *E.coli* B) ATCC *Staphylococcus aureus* C) *Staphylococcus aureus*
D) *E.coli* E) *Streptococcus α haemolytique* F) *Enterococcus sp*
G) *Morganell morganii* H) *Proteus rettgeri* I) *Pseudomonas aerogenosa*

Annexe III

Tableau 02 : Répartition des patients en fonction du sexe.

Sexe	Homme	Femme	Totale
Nombre	46	24	70
Pourcentage	65.71%	34.28%	100%

Tableau03: Répartition des patients selon les tranches d'âge de 20 ans.

Age	25-45	45-65	65-85
Nombre de personne	16	39	15
Pourcentage	22.85%	55.71%	21.42%

Tableau 14 : Répartition globale des germes identifiés.

Germes isolés	Nombre	Pourcentage
Proteus mirabilis		10.20
Klebsiella pneumoniae		8.16
Escherichia coli		5.10
Moraganellamorganii		4.08
Entérobactersp		3.06
Enterobactercloacae		3.06
Burkholderiacepacia		2.04
Serratialiquefasciens		2.04
Klebsiella oxytoca		1.02
Serratiamarcescens		1.02
Stenotrophomonasmaltophila		1.02
ProteusPenneri		1.02
Proteusrettgeri		1.02
Proteusvulgaris		1.02

Tableau 15 : Profil de l'antibiorésistance chez les Entérobactéries.

Antibiotiques	Sensible	Résistante
AMC	31.91	29.78
CZ	40.42	34.04
CTX	44.68	19.12
AMP	19.14	25.53
GN	53.19	12.76
CS	6.38	12.76
FOX	51.06	6.38
SXT	19.14	42.14

Annexe III

IMP	51.06	8.51
AK	78.72	12.03

Tableau 16 :Profil de l'antibiorésistance chez les souches de *Pseudomonas*.

Antibiotiques	Sensible	Résistante
TCC	100	0
CAZ	100	0
TOB	85.7	12.7
TIM	100	
ATM	57.14	30.04
CIP	85.7	12.06
GN	71.42	38.04

Tableau 17 :Profil de l'antibiorésistance chez les souches de *proteusmirrabilis*.

Antibiotiques	Sensible	Résistante
AMC	81.81	27.27
IMP	72.72	28.16
GN	72.72	18.18
SXT	36.36	45.45
AK	90.9	
FOX	72.72	12.28
CZ	81.81	18.03
CS	50	45.45
AMP	54.54	27.27

Tableau 18 : Profil de l'antibiorésistance chez les souches *Escherichia coli*.

Antibiotiques	Sensible	Résistante
AK	100	
CIP	80	13.07
NA	52.26	40
FOX	80	12.08
CZ	80	9
CTX	80	10.89
CS	80	16.22
GN	80	14.5

Annexe III

Tableau 19: Profil de l'antibiorésistance chez les souches de *Klebsiella*.

Antibiotiques	Sensible	Résistante
AMC	22.22	44.44
CZ	43.33	33.33
CTX	33.33	44.44
AMP	60.58	22.22
GN	55.55	10.25
AK	66.66	9.88
FOX	55.55	12.58
CIP	55.33	22.22

Tableau 20: Profil de l'antibiorésistance chez les souches d'*Enterobacter*.

Antibiotiques	Sensible	Résistante
AMC	36.22	66.66
CTX	33.33	50
CZ	16.66	66.66
AMP	16.66	50
FOX	33.33	50
CIP	50	16.66
IMP	50	33.33
AK	66.66	16.66
C	68.66	

Tableau 21: Profil de l'antibiorésistance chez les souches des *staphylococcus aureus*.

Antibiotiques	Sensible	Résistante
P	15.38	50
OX	30.71	50
FOX	50	15.38
K	41.42	23.07
GN	38.46	30.71
TET	34.61	19.23
PT	15.38	7.69
E	53.84	23.07
VA	53.84	15.38
FA	42.3	34.61
SXT	23.37	3.84
RIF	53.84	11.53
CM	46.15	16.92

Annexe III

Tableau 22 : Profil de l'antibiorésistance chez les souches des *Streptococcus*.

Antibiotiques	Sensible	Résistante
CM	30.76	23.07
E	30.76	23.07
VA	7.76	69.23
C	38.46	
TET	15.38	15.38
CTX	84.61	
PT	38.46	7.69
P	38.46	
AMP	38.46	
STR	30.76	
RIF	69.23	7.76

Glossaire

Amputation : un geste chirurgical au cours duquel s'effectue l'ablation d'un membre, d'une partie d'un membre.

Artériopathie : atteinte artérielle touchant les membres inférieurs et aboutissant à une diminution voire à un arrêt de la circulation dans les artères concernées.

Coronaropathie : Affection des artères qui vascularisent le coeur, Elle entraîne une insuffisance du sang nommée ischémie myocardique.

Gangrène : est le résultat d'un arrêt de la circulation sanguine au niveau d'un tissu, entraînant la nécrose (mort) de celui-ci, se localisant généralement aux membres inférieurs.

Hyperkératose : Affection de la peau qui se révèle par un épaissement de la couche superficielle de l'épiderme.

Hypoxie : désigne une diminution de la quantité d'oxygène apportée aux organes par le sang.
Insulinodépendant : Qualifie une forme de diabète qui ne peut être réduite que par l'administration d'insuline, l'insulinodépendance caractérise un diabète nécessitant un traitement à l'insuline

Ischémie : Arrêt ou insuffisance de la circulation sanguine dans une partie du corps ou un organe, qui prive les cellules d'apport d'oxygène et entraîne leur nécrose.

Macro angiopathie : est l'atteinte des artères de moyen et gros calibre.

Micro angiopathie : est l'atteinte des petits vaisseaux sanguins (artérioles, capillaires).

Nécrose : correspond à la mort anormale et non programmée d'une cellule ou d'un tissu.

Néphropathie diabétique : est l'atteinte des petits vaisseaux des reins qui participent à leur fonctionnement, entraînant à terme une insuffisance rénale et une dialyse.

Neuropathie : l'atteinte du système neurologique, affecte le fonctionnement du système nerveux périphérique et du système nerveux autonome ; elle est responsable de douleurs, de troubles sensitifs ou de mal perforant plantaire.

Phlegmon : est une inflammation grave, due à des bactéries, de tissu conjonctif, avec formation de pus, celui-ci se diffuse ne créant donc pas d'abcès, lequel peut néanmoins apparaître ensuite.

Glossaire

Plaie chronique : est une plaie dont le délai de cicatrisation est allongé. Une plaie est considérée comme chronique après 4 à 6 semaines d'évolution, selon son étiologie.

Polynévrite : est l'atteinte du système nerveux entraînant une dégradation de la myéline (substance grasse formant la gaine des cellules nerveuses : neurones) du système nerveux périphérique.

Rétinopathie diabétique : est l'atteinte de la rétine, fine membrane essentielle à la vue qui recouvre la partie arrière de l'œil, cette atteinte peut entraîner à terme une baisse de la vue.

sepsis: terme remplaçant septicémie est défini comme l'ensemble des symptômes générés par l'organisme en réponse à une inflammation systémique. Après une infection, la propagation de celle-ci se fait par voie sanguine et un ensemble de signes cliniques en découlent.

Ulcération : la perte localisée de substance des couches superficielles de la peau, ou des muqueuses particulièrement difficiles à cicatriser.