

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail, je voudrais remercier :

Mon DIEU qui m'a donné la force et le courage pour accomplir ce travail dans de meilleures conditions.

A mes parents qui m'ont soutenue tout le long de mes études.

A mon promoteur Mr HAMAIDI pour avoir accepté de m'encadrer et de m'orienter.

Aux membres du jury :

Mme Saïghie : Présidente.

Mr Bessaad : examinateur.

Mme Benbaïbeche: examinatrice.

A tous les enseignants du département de biologie pour la formation qu'ils m'ont fournie.

A l'ensemble des personnes de Centre Culturel Universitaire d'Alger, et surtout à madame Cecil PHILIPPE.

A toutes les personnes du laboratoire de secteur sanitaire de Blida.

Enfin un grand merci à tous nos camarades de promotion à tous ceux et celles qui ont participé de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

INTRODUCTION

ETUDE
BIBLIOGRAPHIQUE

MATERIEL ET METHODES

RESULTATS ET DISCUSSION

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

CONCLUSION

DEDICACE

Je me prosterne devant Dieu, qui m'a donné la force et le courage d'accomplir ce modeste travail que je dédie :

A mon père et ma mère qui m'ont accompagné sur le chemin de la vie et qui ont souffert pour voir un sourire se dessiner sur mes lèvres, à ceux qui ont consacré leur vie pour mon éducation et ma réussite que Dieu les garde.

A ma petit sœur Manel, ainsi que mes chers frères Mohamed Anouar, Houssame et anise sans oublier mes grands-mères que dieu les protège.

A Mes oncles et mes tantes sans oublier leurs fils, et leurs filles.

A ma très chère amie isra.

A mes chers amies Bahia, Amina, Fatima, Ihsene, Meriem, et Bisma.

*A mes camarades de la promo 2008 sans exception.
Et en fin à tous ceux que j'ai aimés et que je respecte.*

SARAH

LISTE DES TABLEAUX

N° Ordre	Intitulé	Page
I	Les caractères des principaux types de diabètes	3
II	Différents facteurs externes qui influencent sur l'apparition des lésions du pied diabétique	8
III	Classification des infections des plaies du pied diabétique selon CIPD	11
IV	Corrélation clinico-biologique entre les types de plaies et les germes impliqués et identifié	12
V	Caractères biochimiques de genre d'Enterobacteries.	14
VI	Caractères d'identification chez E coli	15
VII	Caractères d'identification du groupe des enterobacteres TDA+.	16
VIII	Caractères d'identification de principales espèces du genre Citrobacter	17
IX	Principaux caractères biochimique du genre Klebsiella	18
X	Caractères des différentes espèces d'enterobacter	18
XI	Principaux caractères distinctifs des différentes espèces du genre serratia	19
XII	Principaux mécanismes de résistance vis-à-vis des antibiotiques	22
XIII	Principaux milieux de cultureensemencés	26
XIV	Composition des parois bactériennes (Gram+, Gram-) en protéines et en lipides	27
XV	Principales étapes de la coloration de Gram	28
XVI	Répartition des micro-organismes isolés à partir de pus diabétique	44
XVII	Table de lecture pour la galerie API20E	Annexe II
XVIII	Table de lecture des valeurs critique des diamètres des zones d'inhibition pour les Entérobactéries.	Annexe II
XIX	Table de lecture des valeurs critique des diamètres des zones d'inhibition pour pseudomonas aeruginosa.	Annexe II
XX	Table de lecture des valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour Staphylococcus sp	Annexe II
XXI	Table de lecture des valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour Streptococcus sp (autre que S.pneumoniae)	Annexe II
XXII	Listes des antibiotiques à testes pour les bactéries exigeantes et non exigeantes	Annexe II
XXIII	Valeurs critique des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour P aeruginosa et Acinetobacter	Annexe II
XXIV	Répartition des prélèvements selon leurs origines	Annexe III

XXV	Répartition des prélèvements selon le sexe	Annexe III
XXVI	Répartition des prélèvements en fonction de l'âge et du sexe	Annexe III
XXVII	Distribution des prélèvements analysés selon le type de diabète	Annexe III
XXVIII	Répartition des prélèvements selon le type de l'infection	Annexe III
XXIX	Fréquences des différentes cultures obtenues	Annexe III
XXX	Pourcentage de résistance, de sensibilité de souche de Staphylococcus aureus aux antibiotiques	Annexe III
XXXI	Pourcentage de résistance, de sensibilité des souches de Pseudomonas aeruginosa aux antibiotiques	Annexe III
XXXII	Pourcentage de résistance, de sensibilité des Enterobacteries isolées vis-à-vis des antibiotiques	Annexe III
XXXIII	Pourcentage de résistance de sensibilité des souches de Streptocoques sp aux antibiotiques	Annexe III

LISTE DES FIGURES

<i>N° Ordre</i>	<i>Intitulé</i>	<i>Page</i>
<i>01</i>	<i>Le mal perforant plantaire</i>	<i>05</i>
<i>02</i>	<i>Plaie ischémique du pied diabétique</i>	<i>06</i>
<i>03</i>	<i>L'influence des différents facteurs sur l'apparition des infections des pieds diabétiques</i>	<i>07</i>
<i>04</i>	<i>Examen cyto bactériologique de pus</i>	<i>24</i>
<i>05</i>	<i>Identification des bactéries à Gram négatives</i>	<i>36</i>
<i>06</i>	<i>Identification des CGP</i>	<i>38</i>
<i>07</i>	<i>Antibiogramme de Streptocoque</i>	<i>39</i>
<i>08</i>	<i>Représentation graphique d'ecbde pus chez des patients diabétiques hospitalisés et non hospitalisés</i>	<i>40</i>
<i>09</i>	<i>Réparation des prélèvements selon le sexe</i>	<i>40</i>
<i>10</i>	<i>Répartition des prélèvements en fonction de l'âge</i>	<i>41</i>
<i>11</i>	<i>Répartition des prélèvements selon le type de diabète</i>	<i>43</i>
<i>12</i>	<i>Répartition des prélèvements selon le type d'infection</i>	<i>41</i>
<i>13</i>	<i>Fréquence des différentes cultures obtenues.</i>	<i>43</i>
<i>14</i>	<i>Répartition des germes isolée à partir de pus diabétique</i>	<i>45</i>
<i>15</i>	<i>Résistance des Enterobacteries vis-à-vis des antibiotiques utilisés</i>	<i>46</i>
<i>16</i>	<i>Résistance de Pseudomonas aeruginosa aux antibiotiques</i>	<i>47</i>
<i>17</i>	<i>Résistance des Staphylocoques isolées aux antibiotiques</i>	<i>47</i>
<i>18</i>	<i>Résistance des Streptocoques isolées aux antibiotiques</i>	<i>48</i>
<i>19</i>	<i>Staphylococcus sur gélose de chapman</i>	<i>Annexe IV</i>
<i>20</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa sur GSC</i>	<i>Annexe IV</i>
<i>21</i>	<i>Infection profonde du pied d'un patient diabétique atteint le type I de diabète</i>	<i>Annexe IV</i>
<i>22</i>	<i>Plais chroniques nécrosées des pieds des patients diabétiques</i>	<i>Annexe IV</i>
<i>23</i>	<i>Plais chroniques associée d'ostéite des pieds des patients diabétiques</i>	<i>Annexe IV</i>
<i>24</i>	<i>Plais superficielle des pieds des patients diabétiques</i>	<i>Annexe IV</i>

GLOSSAIRE

Aponévrose : Membrane blanchâtre, résistante forment une membrane fibreuse qui engaine les muscle et les sépare des organes voisins.

Amyotrophie : Diminution du volume d'un muscle strié par réduction du nombre des fibres contractiles qui le constituent.

Appui plantaire : Support plantaire de pied.

Artériopathie : Lésion segmentaire d'une artère battant contre un tissu dur provoque un épaissement de la paroi.

Calcaneum : Os de la partie postérieur du pied (arrière pied) formant le talon.

Collection : Accumulation de liquide physiologique ou pathologique (sang, pus, etc.) dans une cavité de l'organisme.

Fascia : Membrane fibreuse recouvrant des muscles ou une région du corps.

Frisson : Tremblement involontaire, plus ou moins généralisé, des muscles.

Gangrène : Affection caractérisée par la mort des tissus, touchant essentiellement les membres.

Hypoesthésie : affaiblissement des divers modes de la sensibilité.

Induration : Durcissement d'un tissu organique.

Ischémie : état d'un tissu ou d'un organe souffrant d'une insuffisance d'apport sanguine et donc d'oxygénation.

Macro-angiopathie : altération des grosses et de moyennes artères.

Mal perforants plantaire : Ulcération chronique de la plant de pied se traduisant par une plaie, un «trou » net difficile à cicatriser et exposant au risque d'infection.

Micro-angiopathie : altération des petits vaisseaux, artérioles, capillaires et veinules.

Nécrose : mortification de tissu.

Orteils en Griffes : Déformation affectant le pied, se caractérise par une flexion exagérée permanente des orteils en direction du plant du pied.

Ostéoartrite : arthrite infectieuse dont la lésion se sont étendes a l'os situe sous le cartilage avec apparition d'image d'érosion osseuses.

Ostéomyélite : Maladie infectieuse grave, chronique ou aiguë, du tissu osseux.

Pied creux : Augmentation anormale de la courbure de la plante du pied.

Plaie : Déchirure des tissu due à un accident (blessure, brulure) ou à une intervention chirurgicale.

Phlegmon : Inflammation aigue ou subaiguë du tissu conjonctif sous-cutané ou profond.

Pus : exsudat pathologique de consistance liquide, d'aspect louche et opaque, tenant en suspension des leucocytes polynucléaires altérés et des microbes.

Septicémie : Infection systématique causée par la multiplication de microorganismes dans le sang circulant.

Shunts artérioveineux : anomalie dans le passage du sang entre l'artère et le veine.

Tachycardie : Accélération de la fréquence des battements du cœur au-delà de 90 pulsations par minute.

Traumatisme : Ensemble des troubles physique et des lésions d'un tissu, d'un organe ou d'une partie du corps, provoqués accidentellement par un agent extérieur.

Troubles statique : Perturbation mise en évidence en position fixe.

Trouble trophique : mauvaise nutrition d'un organe, d'un tissu ou d'un organisme.

Ulcère : perte de substance de revêtement cutané ayant peu de tendance à la cicatrisation.

ABREVIATIONS

ADH: Arginine dihydrolase.

AM: Ampicilline.

AMC: Amoxicilline + AC clavulanique

API : Analytique profil index.

ATB : Antibiotique.

BGN : Bacille Gram Négatif.

BGT : Bouillon glucosé tamponné.

BHIB : Bouillon cœur cerveau.

BLSE : Béta-Lactamase à Spectre Elargie.

CGP: Cocci Gram Positif

CN: Céfalexine.

GSC: Gélose au sang cuit.

GSF: Gélose au sang frais.

CZ: Céfazoline.

DID: diabète insulino-dépendant.

DNID: diabète non insulino-dépendant.

IND: Indole.

KES : Klebsiella, Enterobacter, Serratia.

LDC: Lysine Décarboxylase.

MH: Muller-Hinton.

ODC: Ornithine Decarboxylase.

ONPG: Ortho-Nitro-Phényl-Galactosidase.

OX: Oxacilline.

P: Pénicilline.

R: Résistant.

RM: Rouge de Méthyle.

SCN: Staphylococcus coagulase négative.

TDA: Tryptophane Désaminase.

TSI: Triple Sugar Iron.

VP: Voges proskauer.

SOMMAIRE

Introduction générale	1
-----------------------------	---

Partie bibliographique

I-Le diabète et ses complications

I.1 Types de diabète.....	2
I.2 Complication de diabète.....	4
I.3 Pieds diabétiques	4
I.4 Facteurs qui favorisent l'infection de pied diabétique.....	4
I.4.1 Facteurs internes.....	5
I.4.2 Facteurs externes.....	7

II- Physiopathologie de l'infection des pieds diabétiques

II.1 Infections superficielles.....	9
II.2 Infections profondes.....	9
II.3 Microflore responsable d'infection de pied diabétique.....	11
II.3-1 Cocci à Gram positif.....	13
II.3-2 Bacilles à Gram négatif.....	14
II.3.3 Levures.....	20

III- Antibiothérapie et antibiorésistance

III-1 Antibiotiques.....	20
III-2 Antibiorésistance.....	21

Matériel et méthodes

II-1- Matériel	23
II-1-1 Matériel biologique	23
II-1-2- Matériel non biologique.....	23
II-2- Méthodes.....	23
II-2-1- Fiche de renseignement	23
II-2-2- Méthode de prélèvement.....	23
II-2-3- Transport.....	23

II-2-4- Examen cytobactériologique de pus.....	23
II-2-4-1- Examen macroscopique.....	24
II-2-4-2- Examen microscopique.....	25
II-2-4-3- Examen directe à l'état frais.....	25
II-2-4-4- Coloration au bleu de méthylène	25
II-2-4-5- Examen microbiologique.....	26
II-2-4-6- Identification des bactéries.....	27
A- Identification des bactéries a Gram négatif.....	29
B- -Identification des bactéries a Gram positif.....	37
II-2-5- L'antibiogramme.....	38

Résultats et discussion

III-1- Résultat	
III-1-1- Répartition des prélèvements d'ECB de pus selon leur origine.....	40
III-1-2- Répartition des prélèvements selon le sexe.....	40
III-1-3- Répartition des prélèvements selon l'âge.....	41
III-1-4- Répartition des prélèvements selon le type de diabète.....	42
III-1-5- Répartition des prélèvements selon le type d'infection	42
III-1-6- Répartition des prélèvements des différents cultures obtenue.....	43
III-1-7- Répartition des microorganismes isolée et identifiés de pus.....	43
III-1-8- Antibiorésistance des bactéries isolées.....	45
III-2- Discussion.....	49
• Conclusion.....	51
• Annexes	

Résumé

Notre travail a porté sur l'étude cyto bactériologique de pus des infections superficielles et profondes des pieds chez les diabétiques au niveau du laboratoire central de secteur sanitaire de Blida.

Le diagnostic des infections repose sur l'identification microbiologique du germe responsable par l'examen cyto bactériologique du pus.

Nos résultats ont montré que les infections des pieds diabétiques sont fréquentes chez les diabétiques de type II (85,6%) et touchent les hommes de la tranche d'âge de plus de 60 ans (36,80%)

Le germe le plus fréquemment isolé est *Staphylococcus aureus* (25,89%) suivi par d'autres groupes des bacilles à Gram négatif les Entérobactéries en particulier *Proteus mirabilis* (17,85%), et d'autre BGN *Pseudomonas aeruginosa* (9,82%), et des cocci à Gram positif, les *Streptocoques du groupe D* (7,14%).

Mots clés

Pus / ECB de pus / pied diabétique / *Staphylococcus aureus*.

ABSTRACT

Our work was carried out the cytobacteriological study of the pus of the superficial and deep infections of the diabetic's feet at the central laboratory of Blida health sector.

We have dealt with a simple of 125 patients, hospitalized and non-hospitalized.

The diagnosis of the infection was based on the microbiological identification of the responsible germ by cytobacteriological testing of the pus.

Our results showed that diabetics feet infections are frequent for those of type 2 (85%)

And for men of the age range over 60 years old.

The most frequently isolated germ is *Staphylococcus aureus* (25,89%) followed by other groups of Gram-negative bacilli of the enterobacteriaceae, particularly, *Proteus mirabilis* (17,85%) and other BGN *pseudomonas aeruginosa* (9,82%) and Gram-positive cocci, the streptococcus of group D(7,14%).

Key-words:

The pus/ ECB of pus /diabetic's feet/*Staphylococcus aureus*

ملخص

علمنا اقتصر على الدراسة السيتوبكتيريولوجية لقيح التعفّنات السطحية و العميقة لدى مرضى السكري خاصة على مستوى القدم و تم ذلك في مخبر القطاع الصحي بالبلدية. قمنا بمعاينة 125 مريض داخل المستشفى وخارجه .

تشخيص التعفّنات يستند على التعريف الميكروبيولوجي للجراثومة المسؤولة بواسطة الاختبار الخلوي البكتيري للقيح.

نتائجنا بينت لنا ان التعفّنات للقدم السكري تكثر لدى المصابين بداء السكري من نوع الثاني(85,6%) و تمس الرجال الذين تتراوح اعمارهم ما فوق 60 سنة (36,80%)

Staphylococcus aureus قد عزلت في اكثر من (25,89%) من الحالات

تليها الفئات الاخرى ذات Gram السلبى خصوصا Proteus mirabilis (17,85%) و عصيات اخرى Pseudomonas aeruginosa (9,82%), و المكورات العقدية ذات Gram الموجب , D Streptococcus (7,14%)

كلمات المفتاح

القيح /الاختبار الخلوي البكتيري /القدم السكرية/ Staphylococcus aureus

INTRODUCTION

Le diabète sucré est une maladie métabolique caractérisée par une hyperglycémie chronique, avec un seuil diagnostique fixé à 7 mol/l (1,26 g/l) à deux reprises pour la glycémie à jeun. Le diabète le plus fréquent est le diabète de type 2, représentant plus de 90% des cas. Il est lié à une insulino-résistance des tissus notamment hépatique et musculaire (**Ducloux et al., 2012**).

D'après **Hérisson et Simon (1993)**, le pied du diabétique est une zone à très haut risque en raison des complications vasculaires, neurologiques et infectieuses qui touchent tout particulièrement l'extrémité distale des membres inférieures.

De très nombreux microorganismes vivent en saprophytes dans notre corps, et ne provoquent aucun trouble : la présence de certains d'entre eux, est même parfois indispensable, comme les éléments de la flore intestinale (E.coli), par contre lorsqu'ils provoquent une infection ils sont dits pathogènes (**Domatr et al., 1981**).

Pour ces raisons, nous sommes intéressés à ce sujet pour étudier les infections superficielles et profondes au niveau du pied chez le diabétique au niveau de la région de Blida.

L'objectif de notre travail porte sur :

- L'identification des germes responsables des infections superficielles et profondes chez le diabétique de différents âges et sexes par l'examen cyto-bactériologique du pus.
- L'antibiogramme et l'antibio-résistance des germes isolés et identifiés.

I- Diabète et ses complications

Le diabète sucré, communément appelé « le diabète », est une maladie qui se caractérise par une augmentation chronique de la concentration de sucre dans le sang ou hyperglycémie.

Celle-ci est la conséquence soit d'un défaut de sécrétion de l'insuline (hormone qui régule la concentration de sucre dans le sang), soit d'une diminution de son action, soit de ces deux anomalies associées sous l'influence de facteurs génétiques ou de facteurs environnementaux (**Philippe, 2006**).

Le diabète est une maladie incurable qui entraîne le fait que le corps ne peut pas utiliser correctement sa principale source d'énergie (le glucose). Cette énergie est nécessaire pour le bon fonctionnement des cellules du corps (les muscles, le cerveau, le foie, etc.).

I-1- Types de diabètes

On rencontre deux types de diabète :

_ **Diabète de type 1** ou diabète insulino-dépendant, (diabète juvénile ou diabète maigre), Il est diagnostiqué surtout chez les enfants, les adolescents, et les jeunes adultes. C'est une maladie occasionnée par un dérèglement du système immunitaire qui détruit les cellules β pancréatiques productrices d'insuline. (**Merckel al., 2004**).

_ **Diabète de type 2** ou non insulino-dépendant ou insulino-résistant, dit diabète de la maturité ou diabète gras. Ce diabète survient généralement chez les personnes de plus de 40 ans, d'où son nom de « diabète d'adulte ». Cependant, même les plus jeunes sont atteints, la raison est probablement liée à une combinaison de plusieurs facteurs : l'hérédité, le surplus de poids et le manque d'activité physique.

Il se caractérise par une résistance de l'organisme à l'insuline et une hyperinsulinémie réactionnelle, le pancréas fabrique de plus en plus d'insuline jusqu'à l'épuisement, alors le taux de glucose devient anormalement élevé (**Merckel al., 2004**).

Les différentes caractéristiques sont représentées dans le **tableau I**

Tableau 1: Caractères des principaux types de diabètes. (Pacaud, 1995, Olivier et Christophe 2007 ; Grimaldi, 2005)

Caractéristiques	Type 1	Type 2
Apparition	Brutale chez les sujets jeunes et maigres (inférieur à 30ans)	progressive chez les sujets matures (supérieur à 40ans)
Cause	Inconnue ?	- Génétique - Autres causes (obésité)
Fréquence	(10-15%)	(85-90%)
Mécanisme	Destruction des cellules du pancréas qui produisent l'insuline	Hyperinsulinisme. Les cellules résistent à la pénétration du glucose.
Diagnostic	Urine abondante, amaigrissement, fatigue, soif	Très peu voir aucun symptôme avant l'apparition des conséquences

I-2- Complication de diabète

Les conséquences du diabète sont dramatiques pour la santé car un diabète mal contrôlé conduit à la perte de la vue ou endommage les nerfs aux extrémités du corps et certains organes comme les intestins, l'estomac, la vessie, le cœur, les organes génitaux et les reins.

L'hyperglycémie, ou concentration sanguine élevée de sucre, est un effet fréquent du diabète non contrôlé qui conduit avec le temps à des atteintes graves de nombreux systèmes organiques et plus particulièrement des nerfs et des vaisseaux sanguins.

De nombreuses complications dégénératives ont été observées telles que :

- Les Complications micro-angiopathiques qui regroupent la néphropathie diabétique, la rétinopathie diabétique et la neuropathie diabétique.
- Les Complications macro-angiopathiques qui regroupent la Coronaropathie (l'atteinte cardiaque) et les Pied diabétique et les infections qui aboutissent à des troubles trophiques (Khalifa, 2001).

I-3- Pieds diabétiques

Le terme « pieds diabétiques » regroupe l'ensemble des affections qui affectent le pied, directement liées aux répercussions du diabète.

Le consensus international sur le pied diabétique de 2007 définit le pied diabétique comme une : infection, une ulcération ou une destruction des tissus profonds du pied associée à une neuropathie et/ou artériopathie périphérique des membres inférieurs chez le diabétique.

Du fait de sa situation anatomique, en périphérie du système nerveux et artériel, et en raison de son rôle fonctionnel d'interface entre le corps et le sol, le pied d'un patient diabétique est particulièrement vulnérable, c'est à ce niveau que se développent préférentiellement la neuropathie et l'artériopathie. De plus le pied est le siège de macérations fréquentes, expliquant le risque d'infections bactériennes et mycosiques (Grimaldi, 2005).

I-4- Facteurs qui favorisent l'infection de pieds diabétiques

Le pied du patient diabétique devient pathologique s'il présente une plaie chronique qui dure plus de deux mois, cependant tous les diabétiques ne sont donc pas concernés par ce risque (Grimaldi, 2005).

D'après Lubetzki et al., (2005), les lésions des pieds diabétiques résultent d'atteintes isolées ou associées de la peau, des vaisseaux, des nerfs et des os.

Plusieurs facteurs peuvent influencer l'apparition de ces atteintes, on distingue deux groupes de facteurs, les facteurs internes et les facteurs externes.

I-4-1- Facteurs internes

- **Neuropathie**

La neuropathie des membres inférieurs est une complication de l'hyperglycémie chronique, elle est également favorisée par l'obésité, le sexe masculin et l'alcoolisme. On la rencontre chez 80% des patients porteurs d'ulcères, elle est responsable de 60 à 80% de ces lésions. Le mal perforant plantaire et les troubles trophiques sont caractéristiques de la neuropathie diabétique.

La plupart des ulcères neuropathiques surviennent sur les orteils, l'hallux, et les têtes métatarsiennes. La neuropathie entraîne une hypoesthésie à tous les modes, de manière distale et symétrique, évoluant de manière ascendante dite « en chaussette ». L'hypoesthésie thermoalgique supprime le symptôme d'alerte la douleur qui assure habituellement la protection du pied contre les agressions (chaussures, durillons, brûlures, etc.), donc le diabétique risque de se blesser ou de se brûler sans s'en rendre compte.

L'atteinte motrice également est responsable d'une amyotrophie des muscles interosseux et d'un déséquilibre entre les muscles fléchisseurs et extenseurs associés à une perte de mobilité articulaire. Elle favorise les troubles statiques et les déformations caractéristiques du pied diabétique : pied creux, orteils en griffe ou en marteau, qui entraînent le développement de maux perforants plantaires. Elle est donc à l'origine des points d'appui anormaux soumis à une pression inhabituelle, sources de durillons et de callosités. La plupart des ulcères neuropathiques surviennent alors sur des zones d'hyperpression plantaire (**Grimaldi, 2006**)(figure n°01).



Figure n°01 : Le mal perforant plantaire (Richard ,2005)

Quant à la neuropathie autonome (végétative), elle est dominée par la modification de la distribution sanguine avec l'ouverture de shunts artérioveineux aboutissant à un phénomène de vol vasculaire. Il en résulte une sécheresse cutanée anormale favorisant la formation d'hyperkératose, parfois exubérante, créant ainsi des portes d'entrée aux infections (Monnier L, 2010).

- **Artériopathie**

L'artériopathie des membres inférieurs chez les diabétiques est plus fréquente que dans la population non diabétique avec un risque relatif compris entre 2 et 4, son incidence augmente avec l'âge et l'ancienneté du diabète. Elle est à l'origine de retard de cicatrisation et d'évolution vers la nécrose ou la gangrène pouvant conduire à l'amputation (**figure n°02**).

Elle se caractérise par la présence de sténoses (rétrécissements localisés du diamètre de l'artère) ou l'occlusion (formation d'un bouchon ou caillot dans le canal intérieur appelé lumière de l'artère), au niveau des artères qui assurent la vascularisation des membres inférieurs entraînant une mauvaise irrigation ou « ischémie ». Trois types de lésions vasculaires doivent être distingués chez les diabétiques : la micro-angiopathie, l'artériosclérose, l'athérosclérose (Malgrange, 2008).



Figure n°02 : Plaie ischémique du pied diabétique (Agenes et camille, 2004).

L'influence des facteurs internes sur l'apparition des infections des pieds diabétiques sont représentée dans la figure suivante (figure n°03).

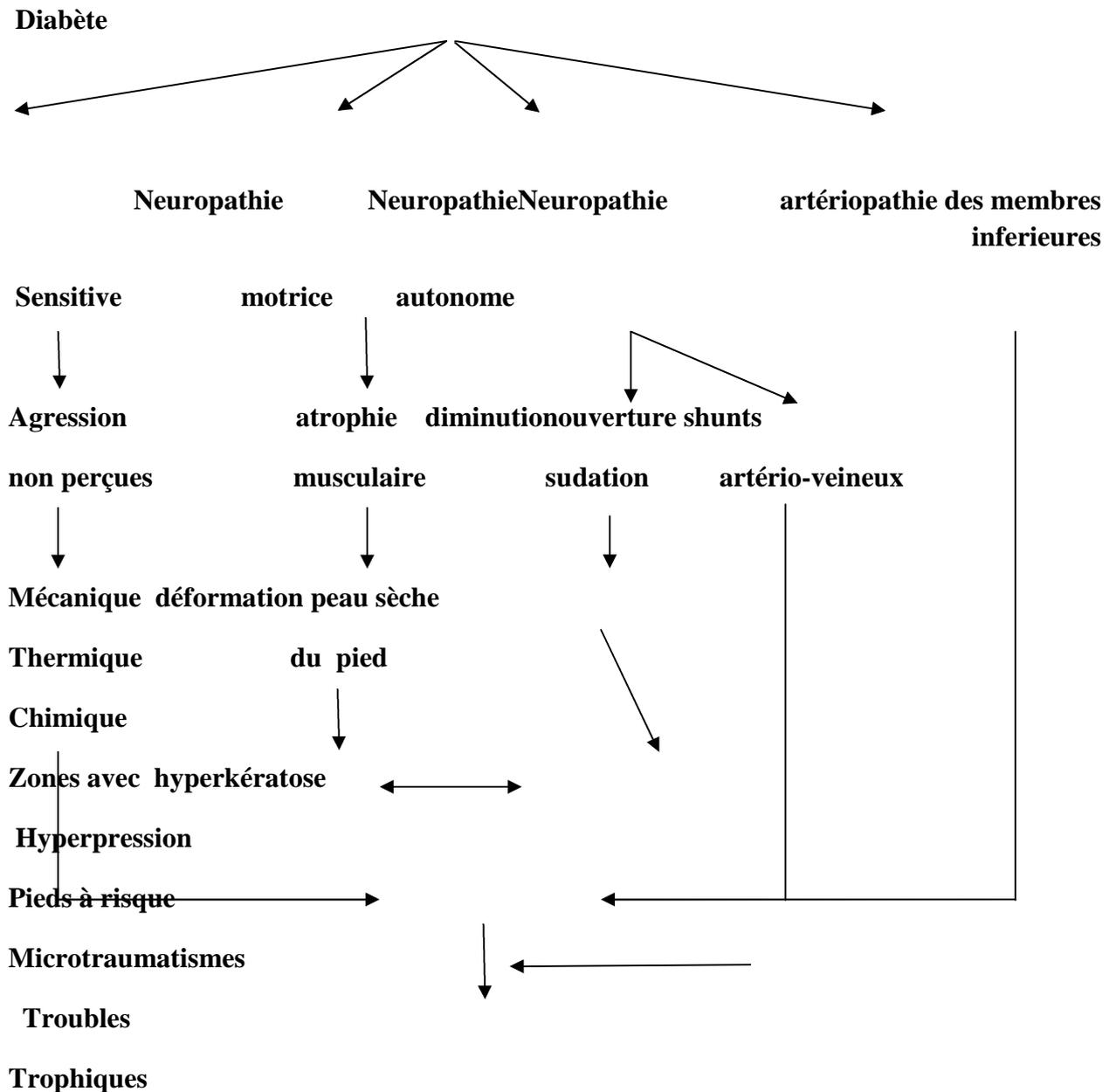


Figure n°3 : L'influence des différents facteurs sur l'apparition des infections des pieds diabétiques (Malgrange, 2008)

I-4-2 Facteurs externes

Plusieurs facteurs externes peuvent déclencher l'apparition des lésions du pied chez les diabétiques et qui sont en relation directe avec le mode de vie du patient. Parmi les facteurs on distingue :

- les chaussures,

- les Mycose ou onychomycoses,
- les Traumatismes et les brûlures,
- l'Hyperkératose fissurée,
- les Traumatismes dû à l'ongle (mal coupé ou déformé).

Le degré de l'influence des facteurs externes sur l'apparition des lésions chez les diabétiques sont présentés dans le tableau suivant (**tableau II**).

Tableau II : Différents facteurs externes qui influencent sur l'apparition des lésions du pied diabétique. (Tournière, 1994)

<i>Facteurs externes</i>	<i>%</i>	<i>Causes</i>
<ul style="list-style-type: none"> • Chaussures • Supports plantaires • Altération de la statistique du pied 	<p>2%</p> <p>1%</p> <p>1%</p>	<p>Chaussures inadaptées</p> <p>50 %</p>
<ul style="list-style-type: none"> • Pédicure • « Chirurgie en salle de bain » • Coricides chimiques 	<p>1%</p> <p>1%</p> <p>3%</p>	<p>Gestes inadaptés</p> <p>25 %</p>
<ul style="list-style-type: none"> • Hygiène déficiente, mycose, ongle hypertrophique, ongle incarné • Bains de pieds prolongés • Chaleur excessive • Traumatisme du pied, chute d'objet sur le pied, marche pieds nus 	<p>1%</p> <p>,</p> <p>5%</p> <p>3%</p> <p>3%</p>	<p>Hygiène ou comportements inadaptés</p> <p>25%</p>

II- Physiopathologie de l'infection des pieds diabétiques

L'infection est définie comme une invasion tissulaire avec multiplication de micro-organismes entraînant des dégâts tissulaires avec réponse inflammatoire de l'organisme. Dans le cas du pied diabétique, cette infection est en règle générale, secondaire à une plaie cutanée. Le diagnostic est clinique et non microbiologique puisque la plaie est obligatoirement colonisée par la flore commensale du patient ou par des espèces bactériennes provenant de l'environnement ou des flores endogènes du patient (Christian et al., 2006).

La présence de bactéries sur une plaie ne signifie donc pas qu'elle soit infectée. L'infection doit donc être distinguée de la colonisation bactérienne.

La colonisation est un phénomène physiologique développé sur toute la peau du corps. Elle est liée à des espèces bactériennes provenant de la flore commensale cutanée, des flores endogènes ou de l'environnement.

La flore colonisante est composée de bactéries aérobies et anaérobies peu virulentes. Elle peut être modifiée en cas de diabète, devenant plus polymorphe avec apparition de cocci à Gram positif plus virulents comme *Staphylococcus aureus* ou *Streptococcus pyogenes*. (Christian et al., 2006).

La présence de cette flore colonisante, pourrait retarder la cicatrisation de la plaie. Cependant l'évolution vers l'infection peut se faire en raison de multiples facteurs liés à la bactérie et à l'hôte qui sont : (Le type, La taille, la localisation et la profondeur de la plaie, l'état général et immunitaire du patient, l'espèce bactérienne et le degré de virulence.), alors on distingue deux types d'infections, les infections superficielles et les infections profondes (Christian et al., 2006).

II-1- Infections superficielles

La peau est un tissu de revêtement qui enveloppe le corps, elle est formée de trois couches principales superposées, l'épiderme c'est la couche protectrice, le derme et l'hypoderme.

Les infections superficielles concernent les couches tissulaires au-dessus de l'aponévrose superficielle, séparant l'hypoderme de la couche musculaire sous-jacente, réalisant des tableaux de **dermo-hypodermite bactérienne aiguë**. Celle-ci est définie par l'atteinte de l'hypoderme correspondant à la couche tissulaire située entre l'épiderme et l'aponévrose superficielle. La symptomatologie se caractérise par des signes locaux dominés par la rougeur initialement péri-lésionnelle mais qui peut se propager et constituer ainsi un foyer inflammatoire extensif.

Et on cite aussi le **dermo-hypodermite bactérienne nécrosante**, elle 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.

II-2- Infections profondes

Les infections profondes touchent l'aponévrose superficielle, les muscles ou les structures ostéo-articulaires. C'est la forme clinique la plus grave qui comprend plusieurs types en état différents, on distingue le **fasciite nécrosante** qui se caractérise par l'atteinte de

l'aponévrose superficielle, la dégradation rapide de l'état général, la survenue d'une insuffisance rénale, l'extension subite des lésions et l'existence d'un décollement tégumentaire qui sont autant de signes d'alarme.

Et on distingue aussi une deuxième forme d'infection profonde c'est **La gangrène humide**, elle est définie par la présence de tissus nécrotiques noirâtres. Les lésions sont rapidement évolutives avec décollement et pus grisâtre d'odeur nauséabonde, pouvant aboutir à une dégradation rapide de l'état général avec sepsis, déséquilibre métabolique et insuffisance rénale. Les collections purulentes peuvent se présenter sous la forme **d'abcès**(forme collectée) ou de **phlegmon**(forme circonscrite par les structures tissulaires) dans les parties molles du pied.

Et en dernier on distingue le dernier état d'infection c'est **L'ostéite et l'ostéo-arthrite** c'est l'infection osseuse du pied. Elle est fréquente chez le diabétique, et présente dans 30 à 80 % des cas selon la gravité de l'infection. Il peut s'agir d'ostéite isolée, surtout au niveau des orteils et du calcanéum, ou plus souvent d'ostéo-arthrite alors que les arthrites septiques isolées sont rares. Du moins initialement, d'ostéomyélite, car l'infection touche d'abord la corticale osseuse avant éventuellement d'envahir la médullaire, plus elle se fait en règle générale par contiguïté, à partir d'une plaie. L'origine hémotogène d'une ostéite ou d'une ostéo-arthrite du pied est ainsi exceptionnelle chez le diabétique.

Le préalable à l'infection osseuse est la présence d'une ulcération du pied, plus la plaie est étendue et profonde, plus la probabilité d'une ostéite sous-jacente est grande. L'atteinte ostéo-articulaire sous-jacente doit être évoquée dans les cas suivants : résistance au traitement, récurrence de l'infection d'une ulcération et surtout si elle siège en regard d'une proéminence osseuse (Christian et al., 2006) .

La sévérité de l'infection sera jugée d'après la classification du Consensus International sur le Pied Diabétique (CIPD), la classification des grades des infections est présentée dans le tableau suivant (**Tableau III**)

Tableau III : Classification des infections des plaies du pied diabétique selon CIPD (Toumi.A et al., 2011)

Grade	Sévérité	Manifestations cliniques de l'infection
1	Pas d'infection	Absence de pus et/ou de signes d'inflammation
2	Infection légère : pas de mise en jeu du pronostic fonctionnel du pied ni vital	Deux parmi les signes suivants sont présents : augmentation de volume, induration, rougeur entre 0,5 et 2 cm autour de la lésion, sensibilité ou douleur, chaleur locale, écoulement purulent
3	Infection modérée : mise en jeu du pronostic fonctionnel du pied mais pas vital	Comme précédemment : le patient ne présente pas de signes de sepsis ni de déséquilibre métabolique mais présente plus d'un signe parmi les suivants : rougeur > 2 cm autour de la plaie, lymphangite, atteinte des fascia superficiels, abcès profond, gangrène, extension aux structures ostéo-articulaires
4	Infection sévère : pronostic vital en jeu.	Présence d'un sepsis ou d'instabilité métabolique (fièvre, frissons, tachycardie, hypotension, confusion, vomissements, hyperleucocytose, hyperglycémie)

II-3 Microflore responsable d'infection de pied diabétique

Les flores bactériennes commensales de la peau qui sont à l'origine endogène ou environnementale sont composées de bactéries aérobies ou anaérobies peu virulentes. Elles peuvent devenir pathogènes en cas de diabète et causent l'infection des pieds diabétiques.

. Les principaux germes responsables sont :

- Staphylococcus aureus* et *Staphylocoque coagulase négatif*,
- Streptocoques* : groupe B et *Enterocoques*,
- Enterobacteries*,
- Pseudomonas*, *Acinetobacter*.

La répartition des germes dans l'infection des pieds diabétiques selon les types des plaies est présentée dans le tableau suivant (**Tableau IV**).

Tableau IV :Corrélation clinico-biologique entre les types de plaies et les germes impliqués et identifié(Toumi et al., 2011)

Type de plaie	Bactérie impliqué
Plaie superficielle récente sans antibiothérapie récente	<i>S. aureus</i> , streptocoques β hémolytiques
Plaie chronique (≥ 1 mois) ou antérieurement traitée par des antibiotiques	<i>S. aureus</i> , streptocoques β hémolytiques, entérobactéries
Plaie traitée par céphalosporines d'évolution défavorable	Entérocoques
Lésion macérée	<i>Pseudomonas spp</i> (en association avec d'autres micro-organismes)
Plaie de longue durée (ulcère ≥ 6 mois), traitement antérieur par des antibiotiques à large spectre	Polymicrobisme : cocci à Gram positif aérobie (<i>S.aureus</i> , streptocoques β hémolytiques, SCN, entérocoques), corynébactéries, entérobactéries, <i>Pseudomonas spp</i> , bacilles à Gram négatif non fermentatifs \pm agents fongiques
Odeur nauséabonde, nécrose, gangrène	Cocci à Gram positif aérobie, entérobactéries, <i>Pseudomonas spp</i> , bacilles à Gram négatif non fermentatifs, anaérobies stricts

II-3-1- Cocci à Gram positif

Les cocci à Gram positif font partie des flores commensales de la peau et des muqueuses chez l'homme, de ce fait, ils sont fréquemment isolés en bactériologie médicale, deux familles jouent un rôle dans la pathologie, ce sont les *Micrococcaceae* et les *Streptococcaceae*.

Les cocci à Gram positif, dominent la microbiologie des infections du pied diabétique, Cependant, les cocci à Gram négatif et les anaérobies sont plus fréquents en cas d'ulcérations chroniques ou d'antibiothérapie préalable. Parmi les germes les plus rencontrés, on note les *Staphylococcus spp* et les *Streptococcus spp*(Denis et al., 2007).

❖ *Staphylococcus spp*

Les Staphylocoques appartiennent à la famille des Micrococcaceae. Les espèces *Staphylococcus aureus*(*S.aureus*) et *Staphylococcus epidermidis* (*S.epidermidis*), font partie de la flore normale de nombreux individus. Cependant ces souches peuvent être à l'origine d'auto-infections ou contaminer d'autres individus, Ce sont les germes les plus susceptibles de produire du pus dans les blessures et ils peuvent être à l'origine d'infection sévère des tissus profonds (ostéomyélite, endocardite).

S.aureus croit abondamment sur milieu gélosé (colonies de 1 à 2 mm de diamètre), certaines souches produisent un pigment jaune orange, mais cette production est irrégulière. Leur culture est obtenue en 18 à 24 heures à 37C° (culture possible de 10 à 47 C°) sur milieux ordinaires .*S.aureus* pousse en présence de fortes concentrations salines (milieu sélectif de Chapman à 7,0 à 7,5) (Avril et al., 2000).

❖ *Streptococcus spp*

Les bactéries du genre *Streptococcus* appartiennent à la famille de *Streptococaceae*.Ce sont des cocci à Gram positif se disposant en chainettes plus ou moins longues. Elles ont un métabolisme anaérobie, mais peuvent être cultivées en présence d'air. Leurs cultures nécessitent habituellement des milieux riches. Il est possible de les rencontrer à l'état commensal au niveau des téguments ou des muqueuses de l'homme ou des animaux. Pour classer les Streptocoques, un premier élément d'orientation et le caractère de l'hémolyse entourant les colonies sur une gélose au sang.

On distingue plusieurs types :

- ✓ les Streptocoques β -hémolytiques produisant une hémolyse complète.
- ✓ les Streptocoques α hémolytiques (ou viridans) produisant une hémolyse incomplète
- ✓ les Streptocoques γ non-hémolytiques.

La caractérisation d'un antigène polysaccharidiques de la paroi permet ensuite de situer les *Streptocoques* parmi les groupes sérologiques de Lancefield (A, B, C, D, etc.) ((Denis et al., 2007 ; Nauciel C, 2000).

II-3-2- Bacilles à Gram négatif

❖ Enterobacteriaceae

Comme leur nom l'indique les Enterobacteries sont pour la plupart des bactéries qui colonisent l'intestin, le colon essentiellement, on les retrouve chez l'homme et chez de nombreuses espèces animales. La plupart des Enterobacteries produisent les B-lactamases et sont résistantes à de nombreux antibiotiques.

Ce sont des bacilles à Gram négatif dont dimensions varient de 1 à 6 μm de long et 0,3 à 1 μm de large. Ils sont immobiles et parfois mobiles grâce à une ciliature péritriche, et se développent en aéro-anaérobiose sur gélose nutritive ordinaire. De plus, elles acidifient le glucose par voie fermentative, ne possèdent pas d'oxydase et réduisent le nitrate en nitrite. (Nauciel et al., 2000).

○ Caractères culturels et biochimiques

Les Enterobacteriaceae se développent bien dans un bouillon ou sur une gélose ordinaire incubés pendant 18 heures à 37°C.

Les colonies sont lisses, bombées, brillantes et humides, elles ont 2 à 4mm de diamètre, et le bouillon présente un aspect trouble de façon homogène (Avril et al., 2000).

La famille des Enterobacteriaceae est constituée de genres bactériens qui sont rassemblés en raison de caractères bactériologiques et biochimiques communs, les caractères biochimiques sont présentés dans le tableau ci-dessus (**Tableau V**)

Tableau V : Caractères biochimiques de genre d'Enterobacteries (Leminor et Véron, 1990).

<i>Les genres</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>Escherichia</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Serratia</i>	<i>Proteus</i>
<i>Les tests</i>						
<i>MOB</i>	+	+	-	+	+	+
<i>LAC</i>	+	+	+	+	-	-
<i>ONPG</i>	+	+	+	+	+	-
<i>H₂S</i>	+	-	-	-	-	+
<i>URE</i>	-	-	+	-	-	+
<i>IND</i>	-	+	-	-	-	+
<i>CIT</i>	+	-	+	+	+	<i>d</i>
<i>VP</i>	-	-	+	+	+	+
<i>GAZ/GLU</i>	+	+	+	+	+	-

+ : positif

- : négatif

La famille des Entérobacteriaceae se divise en deux groupes selon les produits de la fermentation (oxydation incomplète de pyruvate), Ces deux types de fermentation formique se

distinguent par le test de rouge de mythyle (RM) et de Voges-Proskauer (VP). Le groupe I sont VP- ,et le groupe II sont VP+ :

- Groupe I: *E.coli*, *Protéus*, *Salmonella*, *Shégella*, *Citrobacter*, Ils réalisent une fermentationd'acide mixte.

-Groupe II: *Entérobacter*,*Serratia*,*Erwinia*, *Klebsiella*. Ils réalisent la fermentation de butanediole

➤ **Groupe VP-**

• ***Esherichia coli (E.coli)***

C'est l'espèce dominante de la flore aérobie de tube digestif .*E.coli* ou colibacille est habituellement une bactérie commensale.Elle peut devenir pathogène si les défenses de l'hôte se trouvent affaiblies ou si elle acquiert des facteurs de virulences particuliers(**Nauciel, 2000**).

E.coli se developpe en 24 heures à 37C° sur les milieux gélosés en donnant de colonies rondes,lisses,à bord réguliers,de 2 à 3 mm de diamètre, et non pigmentées.Sur les milieux lactosés,les colonies sont généralement lactose positif . Sur gélose au sang elles peuvent etre hémolytiques.Elle possédetouts les caractèresdécrits plus haut comme étant communs aux Entérobacteriaceae. Cette espèce est le plus souvent mobile(**Avril et al., 2000**).

Les caracteres d'identification du germe *E.coli* sont présentés dans le tableau suivant (**tableau VI**)

Tableau VI : Caractères d'identification chez E coli (Delarras, 2007).

	indole	ONPG	mobilité	LDC	ODC	décarboxylase	H ₂ S	urée	TDA	VP	citrate
E. coli	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-

* : exceptionnellement

** : variée

• ***Proteusspp, Providenciaspp et Morganella spp***

Ce groupe des Enterobacteriaceae rassemble des espèces qui ont en commun des enzymes permettant la désamination oxydative des acides aminés en corps cétoniques, ceux-ci forment des complexes colorés avec des ions de Fe ⁺⁺⁺.

Deux de ces enzymes sont recherchées en pratique courante, il s'agit de :

- ✓ Le tryptophane –désaminase ou TDA.
- ✓ La phénylalanine-désaminase ou PDA.

Ce groupe de bactéries sera désigné comme Entérobactérie TDA+. Ces bactéries sont en générale mobiles, donnent des colonies de couleur vertes, lactose négatif sur milieu d'Hektoen et sont ONPG négatif. Les Entérobactéries TDA+ sont extrêmement répandues dans l'environnement. On les trouve partout, sur le sol, dans les eaux de surface, ce sont des hôtes habituels de tube digestif de l'homme et des animaux.

Les travaux de taxonomie basés sur les réactions d'hybridation du DNA ont montré que :

- *Proteus morganii* n'appartient pas au genre *Proteus*. Elle forme le genre *Morganella*.
- *Proteus rettgeri* doit être classée dans le genre *Providencia* (Avril et al., 2000).

La classification actuelle du groupe des Enterobacteries TDA+ est représentée dans le tableau suivant (tableau VII).

Tableau VII : Caractères biochimiques d'identification du groupe des Enterobacteres TDA+ (Denis et al., 2007).

	<i>Proteus</i>		<i>Morganella</i>	<i>Providencia</i>
	<i>P.mirabilis</i>	<i>P.vulgaris</i>	<i>M.morganii</i>	<i>P.rettgeri</i>
uréase	+	+	+	+
indole	-	+	+	+
H ₂ S	+	+	-	-
Citrate de simmons	d	d	-	+
ODC	+	-	+	-
Manitol	-	-	-	+
Adonitol	-	-	-	+
Gélatinase	+	+	-	-

d : réaction différente selon les souches

- ***Citrobacterspp***

Les bactéries du genre *Citrobacter* sont des saprophytes répandues dans l'environnement et dans la végétation. Elles colonisent l'intestin de l'homme et chez certains sujets prédisposés elles peuvent être considérées comme potentiellement pathogènes.

Actuellement ce genre de bactérie comprend 11 espèces, *Citrobacter freundii* (*C. freundii*) a été reconnu responsable d'infections gastro-intestinales. De nombreuses souches sont aptes à être cultivées dans des milieux d'enrichissement tels que les bouillons de sélénite et même sur des géloses sélectives qui donnent après l'incubation des colonies à centre rouge.

L'espèce *C. freundii*, se développe sur milieu usuel en donnant une odeur nauséabonde. De plus, la production d'H₂S et l'absence de production d'indole permettent de faire la distinction entre *C. diversus* et *C. amalonaticus* (Avril et al., 2000).

Les principaux caractères d'identification de différentes espèces du germe *Citrobacter* sont présentés dans le tableau suivant (tableau VIII)

Tableau VIII : Caractères d'identification de principales espèces du genre *Citrobacter* (Denis et al., 2007).

	Mobilité	KCN	indole	Citrate de Simmons	H ₂ S	urée	ODC	malonate	Raffinose*	Saccharose*
<i>C. freundii</i>	+	+	-	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>d</i>	-	-	<i>d</i>	<i>d</i>
<i>C. kosari</i>	+	-	+	+	-	<i>d</i>	+	+	-	<i>d</i>
<i>C. amalonaticus</i>	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-

* : acidification

d : variable

➤ Groupe VP+

C'est l'équivalent de groupe *Klebsiella-Enterobacter-serratia*, dit K.E.S. Ce sont des bactéries pathogènes opportunistes, peu virulentes. Elles sont responsables d'infections hospitalières nosocomiales chez des malades débilisés (cirrhotiques, diabétiques, brûlés, cancéreux). Ces espèces sont souvent multi résistantes aux antibiotiques (Avril et al., 2000).

• *Klebsiella spp*

Les *Klebsiella* sont des bactéries immobiles, elles possèdent généralement une capsule et fermentent de nombreux glucides. Quatre espèces ont un pouvoir pathogène pour l'homme, *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) et *Klebsiella oxytoca* (*K. oxytoca*), sont les espèces les plus souvent rencontrées, elles sont présentes dans la flore fécale de l'homme et sont souvent commensales de la peau, des muqueuses et des voies respiratoires.

Sur milieux usuels, les *Klebsiella* donnent après une incubation de 24 heures à 37°C des colonies généralement lactose (+), rondes, de 3 à 4 mm de diamètre, elles sont bombées, muqueuses et ayant une tendance à la confluence. Elles ne possèdent ni ODC, ni ADH ni TDA, ni lipase et ne produisent pas de H₂S (Avril et al., 2000).

Les principaux caractères de distinctions des différentes espèces du genre *Klebsiella* sont présentés dans le tableau suivant (Tableau IX).

Tableau IX : Principaux caractères biochimiques du genre *Klebsiella* (Avril et al., 2000).

	VP	ONGP	LDC	indole	malonate	urée
<i>K. pneumoniae</i>	+	+	+	-	+	(+)

K.oxytoca	+	+	+	+	+	+
-----------	---	---	---	---	---	---

() : exception

d : caractère variable

• **Enterobacter spp**

Les *Enterobacter* sont des bactéries commensales du tube digestif de l'homme et des animaux. On les trouve dans l'eau, sur le sol, sur la peau et les muqueuses. Ce sont des bactéries de milieu hospitalier. Ces bactéries pathogènes opportunistes peuvent être responsables de septicémies, de méningites et de suppurations diverses. Les *Enterobacter* se distinguent par leurs mobilités, par la présence d'une ODC, parfois d'une ADH et par l'absence d'uréase. La TDA, la Dnase, la production d'indole et H₂S sont négatives (Avril et al., 2000).

Les caractères des différentes espèces d'*Enterobacter* sont présentés dans le tableau suivant (Tableau X)

Tableau X : caractères biochimiques des différentes espèces d'*Enterobacter* (Avril et al., 2000).

	<i>E.cloacae</i>	<i>E.aerogenese</i>	<i>E.agglomerans</i>	<i>E.gergoviae</i>	<i>E.sakazakii</i>	<i>E.asburiae</i>
ADH	+	-	-	-	+	-
LDC	-	+	-	+	-	-
ODC	+	+	-	+	+	+
sorbitol	+	+	d	-	-	+
urée	-	-	-	+	-	-
Pigment jaune	-	-	d	-	+	-

d : caractère variable

• **Serratia**

Les *Serratia* sont des Enterobacteriaceae généralement mobiles. Elles donnent parfois des colonies pigmentées en rouge. Ce sont des bactéries de l'environnement. On les rencontre sur le sol et sur les plantes. *Serratiamarcescens* (*S.marcescens*) est une espèce ubiquitaire dont l'action est pathogène.

Ce type de bactéries sont résistantes aux agents physiques et chimiques. Elles peuvent survivre des mois dans l'eau distillée, elles sont VP+, ONPG (+) et produisent de nombreuses enzymes extracellulaires. Elles ne possèdent ni TDA, ni uréase et ne produisent pas d' H₂S (Avril et al., 2000).

Les principaux caractères biochimiques des différentes espèces du genre *serratia* sont présentés dans le tableau suivant (tableau XI).

Tableau XI : Principaux caractères phénotypiques des différentes espèces du genre *serratia* (Avril et al., 2000).

	<i>S.marcescens</i>	<i>S.liquifaciens</i>	<i>S.plymuthica</i>	<i>S.rubidaaa</i>	<i>S.odoriiera</i>
pigment	d	-	d	+	-
ODC	+	+	-	-	d

<i>Adonitol</i>	+	-	-	+	+
<i>Raffinose</i>	-	+	+	+	<i>d</i>
<i>Arabinose</i>	-	+	+	+	+
<i>Sorbitol</i>	+	+	<i>d</i>	-	+
<i>Indole</i>	-	-	-	-	+

d : caractères variable

❖ *Pseudomonas* spp

Le bacille pyocyanique, est dénommé sous le nom d'espèce *Pseudomonas aeruginosa* (*P.aeruginosa*). C'est une bactérie ubiquiste qui vit normalement à l'état saprophyte dans l'eau et dans le sol humide ou sur les végétaux, il peut vivre aussi en commensale dans le tube digestif de l'homme et certains animaux.

Ce sont des bacilles à Gram négatif de 1 à 3 µm de long et de 0,5 à 1 µm de large, ils sont parfois entourés d'une pseudo-capsule appelée slime qui peut jouer un rôle important dans leurs pathogénicités (Avril et al., 2000).

P.aeruginosa se cultive facilement sur les milieux ordinaires en développant une odeur de seringine. Sa température optimale pour croître est de 30°C. Sur les milieux solides, trois types de colonies peuvent être observés simultanément ou de manière isolée :

- ✓ des colonies larges « la » de 2 à 3 mm de diamètre bord irrégulier, rugueuses avec une partie centrale bombée présentant des reflets métalliques,
- ✓ des colonies plus petites lisses « S » bombées à bord régulier,
- ✓ des colonies muqueuses « M » bombée, coalescentes, filantes rencontrées chez les souches produisant un slime composé d'un polymère d'alginate (Denis et al., 2007).

L'étude des caractères biochimiques du *P.aeruginosa* fait à 30°C. Il est oxydase+, ADH+, ODC+, LDC+, Gelatinase+, lecitinase+, et utilise comme seule source de carbone et d'énergie de nombreux substrats hydrocarbonés (glucose, maltose) (Avril et al., 1992).

• *Acinetobacter* spp

Les *Acinetobacter* sont des bactéries ubiquistes de l'environnement naturel et hospitalier, ils sont présents dans le sol et dans les milieux aquatiques. Certaines espèces font partie de la flore cutanée de l'homme et des animaux. Ce sont des bactéries peu pathogènes capables de provoquer des infections chez des patients affaiblis ou suite à une plaie traumatique chez les sujets normaux.

Il s'agit de coccobacilles, courts ($0,9-1,6\mu/1,5-2,5\mu$), souvent en diplococcobacilles, à Gram négatif et ils sont immobiles. Ce sont des germes aérobies stricts, généralement encapsulés, phototrophes, ils peuvent croître sur un milieu minéral avec une source de carbone simple.

Les colonies mesurent 1 à 4 mm de diamètre en 24 heures, elles sont lisses souvent muqueuses, blanc-jaunâtre et ont un aspect butyreux. Les principaux caractères biochimiques sont la réduction des nitrates en nitrites, et d'être oxydase négative et catalase positive (Denis et al., 2007).

II-3-3- levures

Les levures sont des germes ubiquitaires de l'environnement, on en retrouve dans l'air et dans la plupart des végétaux, Certaines appartiennent à la flore commensale comme les *Candida albicans*.

Il s'agit de micro-organismes le plus souvent unicellulaires dont les colonies sont glabres, humides, crémeuses et sans hyphes aériens. Les cellules sont rondes ou ovalaires, et leurs multiplications s'effectuent par bourgeonnement. Leur taille est de 3 à 6 μm de diamètre qui les différencie facilement des bactéries. Ce sont des pathogènes opportunistes qui atteignent surtout les ongles et les espaces interdigitaux des mains et du pied chez les diabétiques. Une diminution des défenses naturelles de l'organisme ou un mauvais état général favorisent la prolifération du champignon, tel le déséquilibre hormonal, les agents immunosuppresseurs, les antibiotiques à large spectre, la prise d'héroïne, les traitements contre le sida, favorisent l'infection (Eberlin, 1997).

III- Antibiothérapie et antibiorésistance :

III-1- Antibiotiques

Les antibiotiques sont des molécules qui inhibent sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries statiques, sans exercer habituellement d'effets toxiques pour les organismes supérieurs. Ils sont au sens strict des produits élaborés par des micro-organismes, mais on inclut généralement parmi eux les dérivés semi-synthétiques et les produits entièrement synthétiques. En fonction de la localisation, on choisit un antibiotique susceptible d'agir sur la ou les bactéries en cause. Il est important aussi de distinguer les infections communautaires et les infections nosocomiales, car les espèces en cause et leurs sensibilités aux antibiotiques sont différentes (Nauciel C, 2000).

La plupart des antibiotiques inhibent des voies métaboliques de la bactérie. En fonction de leur nature chimique, les antibiotiques peuvent agir à différents niveaux de la bactérie. Il existe donc :

- ✓ Des antibiotiques agissant sur la synthèse du peptidoglycane, On peut citer plusieurs familles dont les β -lactamines, les Glycopeptides et les Fosfomycine.
- ✓ Des antibiotiques inhibant la synthèse protéiques comme les Aminocyclitolides et les Tétracyclines.
- ✓ Des antibiotiques agissant sur les acides nucléiques comme les Quinolones, les Nitro-imidazoles et les Rifamycines.
- ✓ Des antibiotiques agissant sur la membrane comme les Polymyxines et les Nitrofuranes(Nauciel, 2000).

III-2- Antibiorésistance

La résistance aux antibiotiques peut être naturelle ou acquise :

- **La résistance bactérienne naturelle** est présente chez tous les membres d'une même espèce ou d'un même genre bactérien, Elle est liée à son patrimoine génétique, on peut citer à titre d'exemple les résistances naturelles des Enterobacteries et des *Pseudomonas* aux Macrolides, des bactéries Gram négatif à la Pénicilline et à la Vancomycine.
- **La résistance bactérienne acquise** qui résulte d'une modification du patrimoine génétique. Il peut s'agir d'une mutation qui peut entraîner, par exemple, une modification de la cible de l'antibiotique ou bien diminuer sa pénétration. Le plus souvent il s'agit de l'acquisition d'ADN étranger (par des phénomènes de transduction ou de conjugaison) pouvant provenir de la même espèce ou d'espèce bactérienne différente(Nauciel, 2000).

Il existe plusieurs mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques, on peut les classer en quatre groupes : l'inactivation de l'antibiotique, la modification de la cible, la diminution de la perméabilité membranaire et l'excrétion de l'antibiotique.

Les différents mécanismes de résistance pour les différentes espèces bactériennes sont rapportés dans le tableau suivant (**Tableau XII**)

Tableau XII : Principaux mécanismes de résistance vis-à-vis des antibiotiques (Mainardi et al., 1996).

Bactérie	Antibiotiques	Mécanisme de résistance		
		Modification de la cible	Synthèse d'enzymes	Diminution de la concentration
Enterobacteries	B-lactamines	+	+	+
	Aminosides		+	(+)
	Quinolones	+		+
	Sulfamides	+		
Staphylococcus aureus et Staphylocoque à coagulase (-)	Pénicillines	+	+	
	Aminosides		+	+
	Macrolides		+	+
	Quinolones	+		+
	Tétracyclines	+		
Divers	+			
Pseudomonas aeruginosa	B-lactamines	+	+	+
	Aminosides		+	(+)
	Quinolones	+		

+ : action positive, (+) : différente selon l'espèce

Notre travail a été réalisé au sein du laboratoire Central de Secteur Sanitaire de Blida , durant une période de six mois,(de février à juillet 2013).

Cette étude a porté sur l'analyse cyto-bactériologique du pus des plaies superficielles et profondes de toutes infections épidermiques d'origine bactérienne ou fongique du pied chez les patients diabétiques hospitalisés et non hospitalisés.

II.1 Matériel

II.1.1 Matériel biologique

Le produit biologique sur lequel est effectuée l'étude est le pus qui provient de **125** prélèvements, provenant de **111** patients diabétiques hospitalisés et **14** patients non hospitalisés de type 1 et 2, ils sont répartis selon le sexe (**71** hommes et **54** femmes).

II.1.2 Matériel non biologiques

Il est représenté par les appareillages, les verreries, les réactifs, les solutions, les milieux de cultures et d'identification et les disques imprégnés (Voir l'Annexe I).

II .2 Méthodes

II.2.1. Fiche de renseignements

Elle doit obligatoirement accompagner le prélèvement. sur celle-ci sont mentionnés le nom et le prénom, le sexe, l'âge, le service d'origine et surtout le diagnostic clinique détaillé, le traitement d'ATB administré au malade et sa durée en indiquant la date du début et la fin de ce traitement.

II.2.2. Méthode de prélèvement

Le prélèvement doit être réalisé en absence d'antibiothérapie préalable avec des conditions d'asepsie rigoureuse. La technique consiste le plus souvent par l'intermédiaire d'un écouvillon de coton, sur lequel doit contenir une étiquette qui comporte le nom, le prénom et le numéro du malade (deux écouvillons au minimum sont utilisés pour chaque prélèvement).

Après l'élimination de pus existant à la surface de la plaie, l'écouvillon a été raclé sur une surface de 1 à 2cm de la plaie, dans un mouvement de zigzag combiné à une rotation on évitant que le prélèvement ne contienne du sang.

II.2.3. Transport

Il est conseillé de réaliser le prélèvement au laboratoire. Si les prélèvements ne sont pas réalisés au laboratoire ils doivent y être transportés rapidement. En cas de transport long, les prélèvements seront conservés à 4°C.

II.2.4.Examen cyto-bactériologique du pus

Les différentes étapes effectuées pour cet examen sont représentées dans la figure suivante :

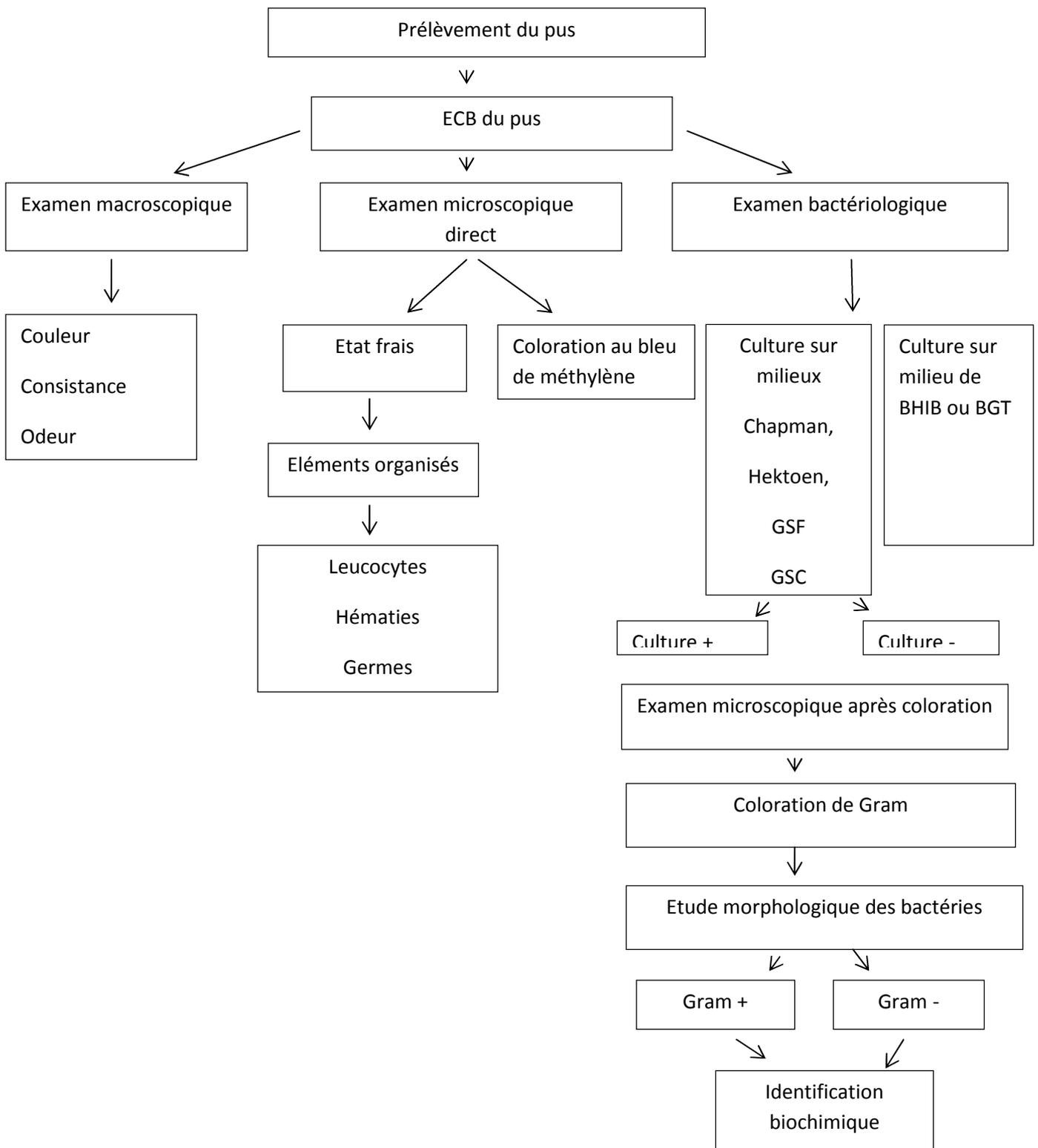


Figure n°04 : Examen cyto-bactériologique de pus

II.2.4.1 Examen macroscopique

Cet examen nous renseigne sur :

- la consistance, la couleur, son caractère éventuellement sanglant (hémolyse), l'odeur, ainsi on peut évoquer des anaérobies devant un pus marron et fétide.
- Un pus jaune, épais bien lié, oriente vers *les Staphylocoques*.
- Un pus clair, séreux, blanchâtre oriente vers *les Streptocoques*.
- Un pus verdâtre ou bleuâtre d'odeur aromatique oriente vers le bacille pyocyanique (**Carbonnel et al. 1987**).

II.2.4.2 Examen microscopique

L'examen microscopique est systématique soumis en dehors de l'examen macroscopique et comporte plusieurs étapes :

II.2.4.3 Examen directe à l'état frais

L'examen cytologique doit être réalisé rapidement puisqu'on considère que les polynucléaires neutrophiles sont lysés à 32% une heure après leur prélèvement (**Carbonnel et al. 1987**).

➤ Principe

Cette étape elle est qualitative et permet l'observation des bactéries vivantes en absence de toutes fixation ou coloration, elle permet d'observer la morphologie des bactéries, leurs mode de regroupement et leurs mobilités.

➤ Mode opératoire

- On ajoute aux écouvillons contenant le pus 2 à 3 ml d'eau physiologique
- Agiter le tube contenant le prélèvement
- déposer une goutte de suspension bactérienne à l'aide d'une pipette pasteur stérile sur une lame dégraissée par l'alcool et recouvrir par une lamelle.
- observé au microscope à l'objectif 40.

Après l'observation jeter la lame et lamelle dans le bac à l'eau de javel.

- **Les éléments organisés**

○ Leucocytes

Le pus est également le résultat d'une réponse immunitaire cellulaire, d'où la présence contient d'une grande quantité de globules blancs normales ou lysées et leur présence signifie une infection.

○ Hématies

La présence des hématies n'est pas intéressante dans le prélèvement de pus, car lors du prélèvement on peut prélever du sang et leur présence signifie une mauvaise condition de prélèvement. On peut également trouver des cellules épithéliales.

II.2.4.4 Coloration au bleu de méthylène

➤ Principe

Lacoloration simple au bleu de méthylène, consiste à évaluer l'abondance et la nature des leucocytes (lymphocytes, polynucléaires), la forme des bactéries (cocci, bacilles) et leur disposition (chaînettes, diplocoques, grappe) ainsi la présence des levures, des hématies, des cellules épithéliales.

➤ Mode opératoire

- On dépose une goutte d'eau physiologique sur une lame propre avec l'écouvillon de prélèvement on étale par un mouvement circulaire
- On laisse sécher la lame à l'air chaud de sècheuse, afin de fixer les éléments.
- On recouvre le frottis avec le colorant « bleu de méthylène »
- On laisse agir 5 à 15 minutes selon la concentration du colorant.
- On rince à l'eau et on laisse sécher.
- On examine la lame au microscope à l'objectif×100 après avoir ajouté sur le frottiscoloré l'huile à immersion
- On dessine un champ caractéristique, en conservant les proportions relatives
- Toutes les structures colorables sont bleues

II.2.4.5 Examen microbiologique

Les examens sont effectués dans la zone stérile du bec Bunsen.

❖ Préparation de la suspension bactérienne

- A partir d'une culture pure de 18 heures sur un milieu d'isolement, prélever à l'aide d'une pipette Pasteur stérile quelques colonies parfaitement identiques.
- Décharger la pipette dans 10ml d'eau physiologique stérile.
- Homogénéiser la suspension bactérienne, Son opacité doit être équivalente à 0,5 Mac Farland.

➤ Ensemencement du prélèvement

Le prélèvement de pus doit être ensemencé sur les différents milieux de culture, selon le protocole suivant :

- Ensemencement par un écouvillon du prélèvement de pus d'un tiers (1/3)du milieu de culture.
- Sur le même milieu, réensemencer à l'aide d'une pipette pasteur stérile la surface du premier ensemencement en stries serrées.

Les différents milieux de cultures utilisés dans notre étude microbiologique sont représentés dans le tableau suivant(**tableau XIII**) :

Tableau XIII : Principaux milieux de culture ensemencés

Milieux	Spécifié	Incubation	Temps
Gélose au sang cuit	Milieux enrichi pour les bactéries exigeantes	La jarre à 37°C	18 à 24 h

Gélose au sang frais	Milieux enrichi surtout pour les bactéries ayant un pouvoir hémolytique (ex : <i>Streptocoques</i>)	Etuve à 37°C	18 à 24 h
Chapman	Milieu d'isolement des Staphylocoques grâce à un taux élevé de NaCl (pouvoir sélectif)	Etuve à 37°C	18 à 24h
Hektoen	Milieu d'isolement des BGN surtout les Enterobacteries grâce à une présence de sel biliaire.	Etuve à 37°C	18 à 24h

➤ Enrichissement des prélèvements

Après l'ensemencement des prélèvements sur les milieux cités ci-dessus. Ces derniers sont transposés dans un milieu d'enrichissement qui peut être soit du Bouillon Glucosé Tamponné (BGT) ou Bouillon Cœur Cerveau (BHIB), pour favoriser la croissance des bactéries très faible ou fragile pour pouvoir ainsi les réensemencer après une incubation de 24 h si la culture d'origine est faible ou absente.

II.2.4.6 Identification des bactéries

En cas de cultures positives, on procède à leur identification par une étude biochimique et d'autres tests spécifiques. La première étape étant la coloration de Gram.

❖ Coloration de Gram (double coloration)

C'est une coloration différentielle qui permet de diviser les cellules bactériennes en deux groupes selon leurs affinités pour les colorants et liée à la structure générale de la paroi cellulaire.

➤ Principe

Cette coloration permet une meilleure appréciation de l'aspect morphologique des bactéries et leur mode de regroupement, la coloration différentielle de Gram repose sur la composition de la paroi bactérienne en protéines et en lipides, la composition de la paroi bactérienne des Gram+ et des Gram- est représentée dans le tableau suivant (**tableau XIV**)

Tableau XIV : Composition des parois bactériennes (Gram+, Gram-) en protéines et en lipides

	Paroi des Gram (+)	Paroi des Gram (-)
Lipides	+	+++
Protéines	+++	+

+ : Faible présence, +++ : Forte présence

(Joffin et Legrel, 2001)

➤ Mode opératoire

- Déposer au centre d'une lame propre une goutte d'eau physiologique.
- Prélever une petite colonie bien isolée et la déposer sur la goutte puis l'étaler avec un mouvement circulaire.
- Fixer à la chaleur.

Le tableau XV résume les différentes étapes de la coloration de Gram.

Tableau XV : Principales étapes de la coloration de Gram.

Coloration	Mode opératoire	Temps d'agir
Coloration primaire	Recouvrir le frottis par le violet de Gentiane, puis rincer à l'eau	1 min
Mordançage	Recouvrir la lame avec le Lugol puis rincer à l'eau	30 secondes
Décoloration	Décolorer la lame par l'alcool (75°C) ensuite rincer	20 secondes
Coloration secondaire	Recolorer par la Fuchsine puis rincer à l'eau	1 min

Après avoir sécher la lame, ajouter une goutte d'huile à immersion et observer au microscope optique à l'objectif×100

➤ Lecteur

- Les bactéries à Gram(-) sont colorées en rose.
- Les bactéries à Gram(+) sont colorées en bleu violacé.

L'interprétation de cet examen permet d'orienter l'identification biochimique du germe isolé.

❖ Identification biochimique des germes

✓ Teste d'orientation

Ce test est constitué par:

- Test de catalase : effectué pour différencier les bactéries à Gram positive (les *Streptococcus* et les *Staphylococcus*).
- Test d'oxydase : permet de différencier les Enterobacteries des autres bacilles à Gram négatif (*Pseudomonas*, *Acinetobacter*)

A)- Test de catalase

✓ Principe

La catalase est une enzyme contenant un noyau du groupe de cytochrome (transporteurs d'électrons), elle joue un rôle majeur dans l'élimination du peroxyde d'hydrogéné (**Joffine et Legral, 2001**), selon la réaction :



➤ Mode opératoire

Déposer sur une lame, une goutte H₂O₂ que l'on mélange à une colonie de germe à étudier.

➤ Lecture

- Un dégagement des bulles d'air indique la présence d'une catalase (catalase+).
- Absence des bulles d'air indique l'absence d'une catalase (catalase-).

B)- Test d'oxydase

➤ Principe

L'oxydase est la dernière enzyme intervenant dans la phosphorylation oxydative. Ce test permet la différenciation entre les Enterobacteries et autres bacilles de Gram négatif.

➤ Mode opératoire

- On dépose sur une lame propre un disque d'oxydase.
- Prélever une colonie bactérienne avec une pipette Pasteur stérile et la déposer sur le disque.

➤ Lecture

- Oxydase + : virage de couleur de papier au violet.
 - Oxydase - : pas de changement de couleur.
- Oxydase (+)(original)



A) Identification des bactéries à Gram négatives

○ La galerie classique

❖ Recherche de la bêta galactosidase par le test d'ONPG (Orthonitrophenyl-β-D-galactose) :

➤ Principe

β -galactosidase est une enzyme intracellulaire capable de scinder la molécule de lactose en glucose et galactose et par la suite de distinguer les bactéries **lactose-**, **lactose+** en utilisant un milieu synthétique (ONPG), qui est une molécule incolore, capable de pénétrer dans le cytoplasme bactérien et libère par hydrolyse un composé jaune (**Joffin et Legral, 1998**).

➤ Mode opératoire

- Un disque imprégné d'ONPG est introduit dans un tube à essai contenant 0,5ml de suspension bactérienne déjà préparée.
- Incuber le tube dans l'étuve à 37°C pendant 24 h.

➤ Lecture

- Réaction positive : coloration jaune.
- Réaction négative : pas de coloration.



ONPG (-)



ONPG (+) (original)

❖ Etude d'utilisation des trois sucres (Glucose- Saccharose- Lactose) sur milieu TSI

Le milieu TSI apporte de façon simple de nombreux renseignements taxonomiques :

- Fermentation des trois sucres (Glu, Sac, Lac), ce qui entraîne une acidification du milieu d'où le virage au jaune de l'indicateur du PH (rouge de phénol).
- La production de gaz : elle se manifeste par l'apparition de poche gazeuse, soit par la formation de bulles d'air dans la gélose ou autour de la paroi des tubes, ou même la fragmentation du culot de gélose.
- Production de H₂S à partir du thiosulfate, en présence de sodium et de fer (III) dans le milieu (**Joffin et Legral, 2001**).

➤ Mode opératoire

- A partir de la suspension bactérienne préparée et à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, ensemercer la pente par stries et le culot par piqure centrale.
- Laisser le tube légèrement ouvert de façon à permettre l'aération de milieu, puis incuber à 24 h à 37°C dans l'étuve.

Lecture

***La pente** :- s'il y a un virage au jaune, la Bactérie est dite lactose et saccharose positive.

- s'il reste rouge la bactérie dit lactose et saccharose négative

***le culot** :-s'il y a un virage au jaune, la bactérie dite glucose positive.

- s'il reste rouge la bactérie est dite glucose négative.

***La gélose** :-S'il y a une poche d'aire : Gaz positif

-S'il n y a pas poche d'aire : gaz négatif

-S'il y a noircissement du milieu :

Production d'H₂S

- S'il n y a pas le noircissement du milieu : Pas de production d'H₂S



❖ **L'utilisation de citrate de Simmons TSI+Gaz(+)**

➤ **Principe**

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

❖ **Mode opératoire**

Ensemencer le milieu citrate de Simmons en surface par des stries longitudinales à partir de colonies bien isolées.

❖ **Lecture**

- **Citrate (+)** : culture abondante avec virage de couleur de milieu de vert au bleu due à l'alcalinisation de milieu **Citrate(+), Citrate (-)**
- **Citrate(-)**: pas de culture, pas de virage de couleur.



❖ **Recherche du nitrate réductase**

➤ **Principe :**

La recherche du nitrate réductase permet de déterminer si une bactérie est capable ou non de réduire le nitrate.

Le nitrate et le nitrite réductase appartiennent à l'oxydoréductase et catalysent la réduction des nitrates en nitrites ou en azote gazeux.

NO₃

NO₂

→ N₂ →

→



❖ Recherche de la voie de fermentation du glucose

➤ Principe

Il existe deux voies de fermentation du glucose, à savoir la voie des acides mixtes, mise en évidence par réaction de RM et la voie butylène-glycolique, mise en évidence par la réaction de VP.

Ces deux réactions s'effectuent en même temps, en utilisant le milieu de Clark et Lubs après l'ensemencement et l'incubation à 37°C pendant 24h. Ce milieu est divisé en deux tubes pour réaliser les deux réactions séparément. Une bactérie RM (+), elle est VP (-)(Marchall et al.,1987).

➤ But

Les réactions de VP et RM, permettent l'étude des dérivés de l'acide pyruvique.

➤ Mode opératoire

❖ Teste 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 10 gouttes de réactif VPI, puis 10 gouttes de réactif VP II, au deuxième tube de Clark et Lubs, chauffé, puis incliner pendant 5 minutes sur la paillasse.

➤ Lecture



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

RM(+): coloration rouge.

RM(-): coloration jaune.



❖ Dégradation de Manitol sur un milieu Manitol mobilité

➤ **Principe :**

Ce milieu convient plus particulièrement à l'étude des BGN fermentatifs, ainsi que leur caractère de mobilité, l'acidification du milieu est indiquée par le virage de l'indicateur du PH, rouge vers le jaune (Joffin et Legral, 2001).

➤ **Mode opératoire**

Nous avonsensemencé le milieu par une piqure centrale à l'aide d'une pipette Pasteur stérile chargée en suspension bactérienne déjà préparée, Puis incuber à 35°C pendant 18 à 24 h

Lecture

- **Manitol mobilité (+)** : La fermentation de manitol entraîne le virage du milieu au jaune.
- **Manitol mobilité (-)** : 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 piqure d'ensemencement.



Manitol (+) (bactéries mobiles)

❖ **La mise en évidence d'une uréase, d'un tryptophane désaminase et de la production d'indole**

Le milieu urée-indole est un milieu synthétique, non nutritif, permet la recherche de trois activités enzymatiques

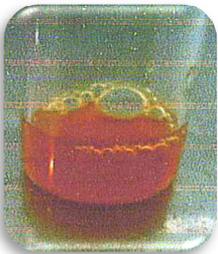
- **L'uréase** : qui est une enzyme qui hydrolyse l'urée en ions ammonium et en carbonate.
- **Le tryptophane désaminase** : agit sur le tryptophane en donnant de l'acide indole pyruvique et de l'ammoniac, la réaction est lisible après addition du réactif de TDA.
- **Le tryptophanase** : est un complexe multienzymatique qui permet aux microorganismes de produire de l'indole à partir du tryptophane, après l'addition du réactif de KOVACS (Joffin et Legral, 2001).

➤ **Mode opératoire**

- Distribuer stérilement 1ml du milieu(urée-indole) dans deux tube stériles (T1 ,T2)
- Ensemencer chaque tube à partir de l'inoculum
- Incuber à 35°C pendant 18 – 24h

➤ **Lecture**

La lecture des tubes est représentée dans le tableau suivant :

Réactif et Teste lecture	Recherche d'indole	
	Indole (+)	Indole (-)
Ajouter dans le tube (T1) quelques gouttes de réactif de KOVACS.		
Lecture	Anneau rouge en surface	Anneau brunâtre
	Recherche d'uréase	
	Uréase (+)	Uréase (-)
		
Lecture	Virage du milieu au rouge, violet ou rose	Coloration orange
	Recherche de TDA	
	TDA (+)	TDA (-)
Ajouter quelques gouttes de réactif de TDA dans le tube (T2).		
Lecture	Coloration brun-rouge	Coloration jaune- orange

❖ **Mise en évidence des décarboxylases des acides aminés LDC-ODC-ADH**

➤ **Principe**

Les décarboxylases scindent les acides aminés en entraînant la formation de l'amine correspondant et la libération de CO₂.

Ces enzymes sont induites, elles sont synthétisées dans un milieu acide et en anaérobiose. La méthode de Moeller est valable pour mettre en évidence LDC, ODC et ADH, le milieu utilisé contient du glucose, un acide aminé et un indicateur de PH.

➤ **Mode opératoire**

- Nous avonsemencéchaacun des tubes contenant 1ml des acides aminés ainsi que le tube témoin, avec 2 à 3 gouttes de la suspension bactérienne dense.
- Puis on recouvre en suite la surface des tubes avec une couche d'huile de vaseline.

- L'incubation se fait dans l'étuve à 37°C pendant 18-24 h.

➤ **Lecture**

Pour les autres tubes : la présence de l'enzyme décarboxylase et l'enzyme déshydrogénase, est révélée par un virage du jaune au violet. Dans le cas contraire, s'il y a absence de l'enzyme, le milieu reste jaune.

➤ **Remarque**

La lecture ne s'effectue que si le témoin vire au jaune.

○ **Système API 20E**

API 20E est une bande plastique avec 20 micro cupules contenant des substrats déshydratés pouvant détecter certains caractères biochimiques.

L'identification d'une bactérie avec ce système consiste à :

Réaliser 20 tests avec la galerie.

Interpréter les résultats obtenus à l'aide de la base des données numérique API 20 E.

➤ **Mode opératoire**

- On Réunit le fond et le couvercle d'une boîte d'incubation et on répartit 5 ml d'eau distillée stérile dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- On place la galerie dans la boîte d'incubation.
- Ensuite on prépare l'inoculum bactérien : une colonie pure dans 5 ml d'eau distillé.
- Remplir les micro tubes et cupules des tests : Citrate, VP, GEL avec la suspension bactérienne et avec la pipette pasteur ayant servi au prélèvement
- Remplir uniquement les micro tubes (et non pas les cupules) des autres tests
- Puis créer en anaérobiose dans les tests : ADH, LDH, ODC URE et H₂S en remplissant leur cupule d'huile de paraffine stérile.
- Renfermer la boîte d'incubation et la placer à (35°C-37°C) pendant 24h.

➤ **Lecture**

La lecture des réactions se fait en s'accordant au **tableau XVII, (voir l'annexeII)**.

L'identification est obtenue par le retour à l'index de profil analytique, pour l'utiliser il faut transformer les profils biochimiques en profil numérique l'ensemble des résultats est comparé à ceux qui figurent dans le catalogue accompagnons la galerie.

L'identification biochimique de BGN peut être effectuée avec une galerie classique ou par galerie API 20^E à partir des colonies isolées sur différents milieux, les étapes d'identification sont représentées dans les figures n°05

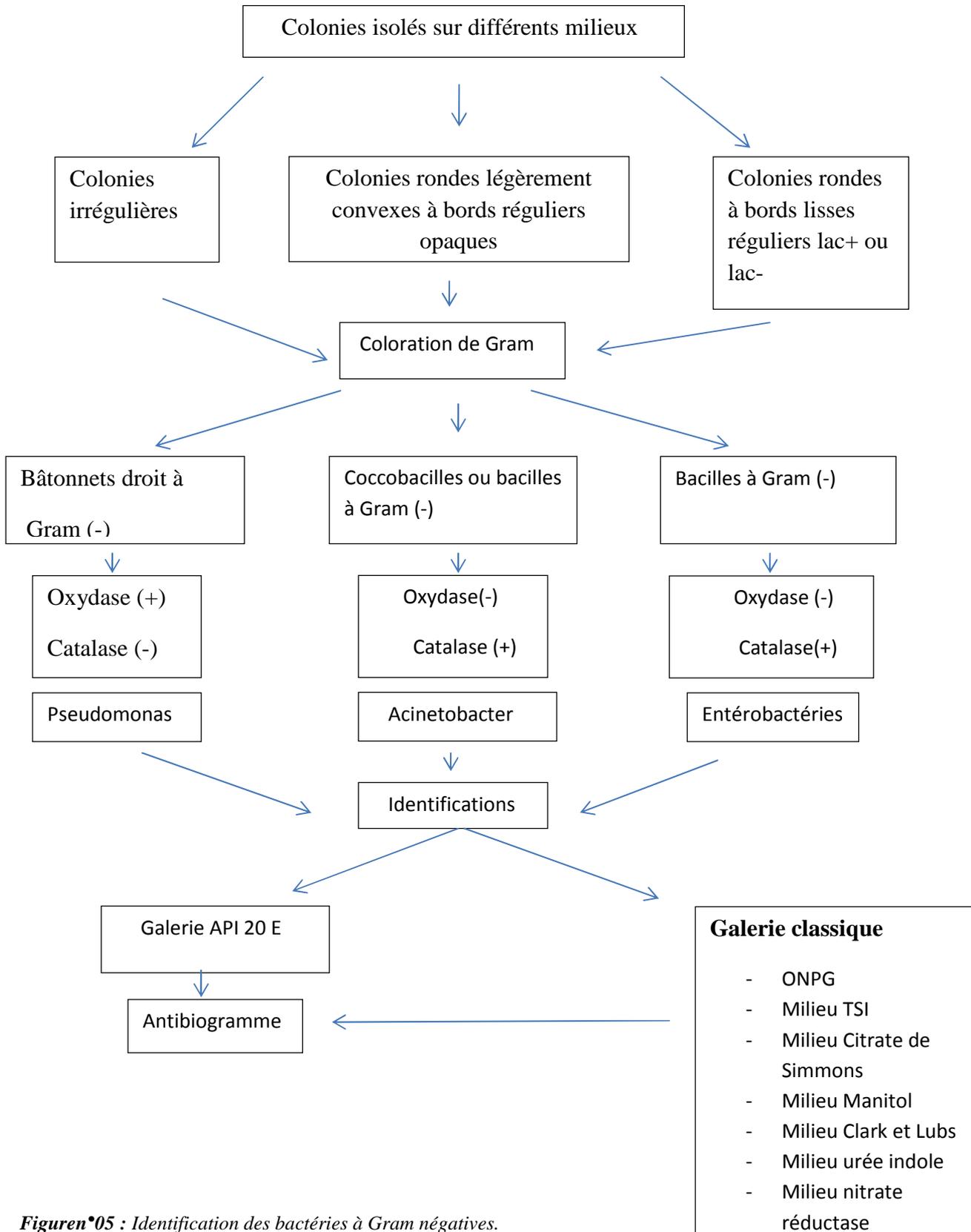


Figure n°05 : Identification des bactéries à Gram négatives.

B) Identification des bactéries à Gram positives

○ Identification des staphylococcus spp

❖ Test de coagulase

Ce test permet la différenciation entre l'espèce *Staphylococcus aureus* et les autres espèces des Staphylocoques.

➤ Principe

La coagulase est l'enzyme qui permet la coagulation de plasma de lapin par transformation du fibrinogène en fibrine.

➤ Mode opératoire

- Dans un tube à essai stérile, mettre 0,5 ml de plasma de lapin et ajouter 0,5 ml de la suspension bactérienne déjà préparée.
- L'incubation se fait dans l'étuve à 37°C pendant 2-4 h.

➤ Lecture

- La prise en masse de deux tiers (2 /3) de mélange traduit une coagulation de plasma de lapin, cela indique qu'il s'agit d'une *Staphylococcus aureus*.

○ Identification des Streptococcus spp

❖ La recherche de pouvoir hémolytique

Le caractère hémolytique des Streptocoques est visualisé sur milieu de culture ensemencé sur gélose au sang frais, l'incubation se fait à 37°C dans l'étuve pendant 24 h.

➤ Lecture

- S'il y a apparition d'une zone verdâtre autour des colonies, la bactérie est ***α-hémolytique***.
- S'il y a apparition d'une zone claire autour des colonies la bactérie est dite ***β-hémolytique***.
- S'il y a absence des zones autour des colonies, la bactérie est non hémolytique.

L'identification biochimique des **CGP** est résumée dans la figure suivante (figure n°06) à partir des colonies isolées sur différents milieux

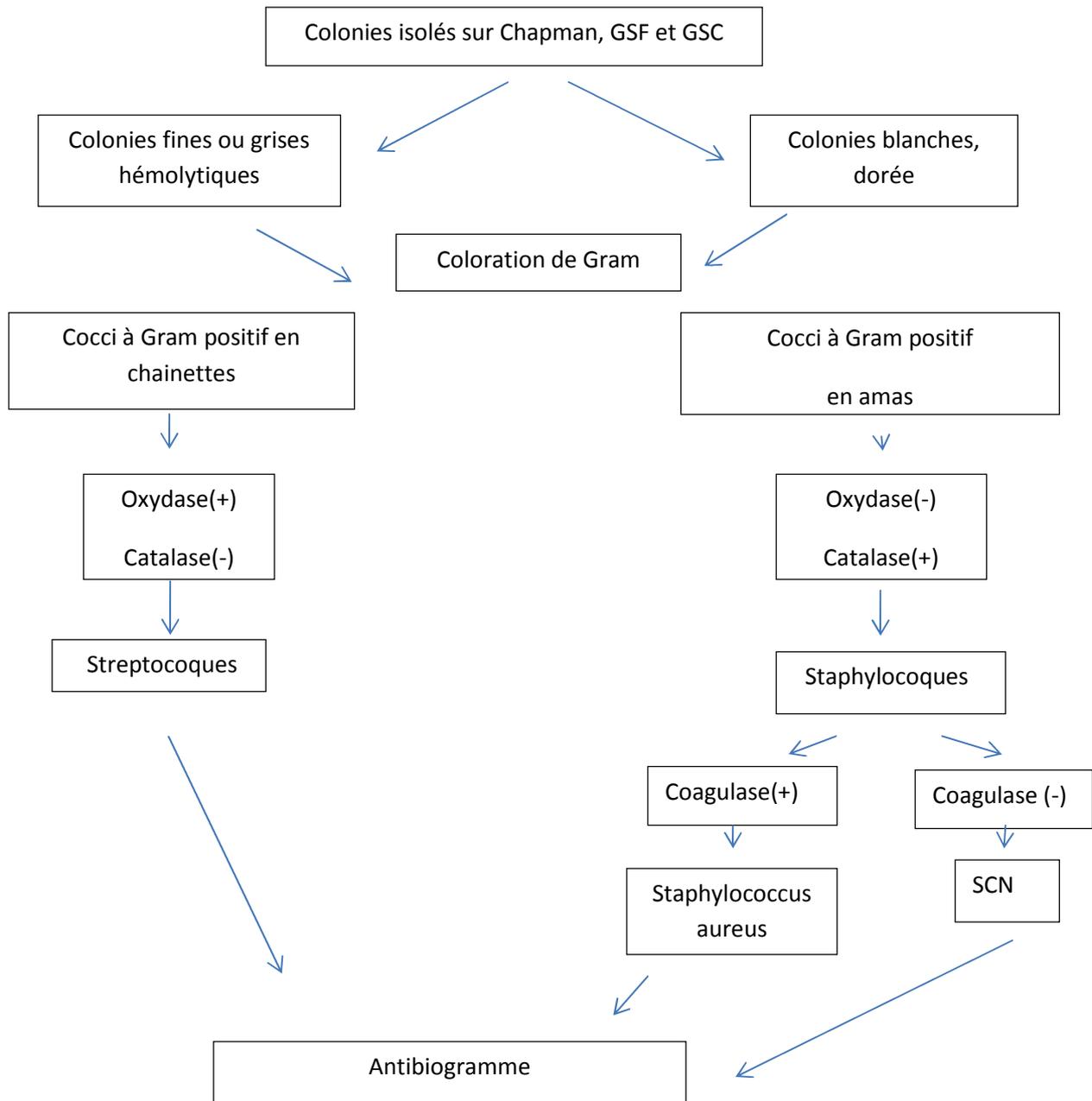


Figure n°06 : Identification des CGP.

II.2.5 L'antibiogramme

L'antibiogramme a un rôle dans la pratique bactériologique, il permet d'apprécier la sensibilité ou la résistance de bactéries vis-à-vis diverse antibiotiques testées, et de guider le médecin vers l'antibiotique convenu pour traiter un pied infecté (**Kamoun et Frejaville,2002**).

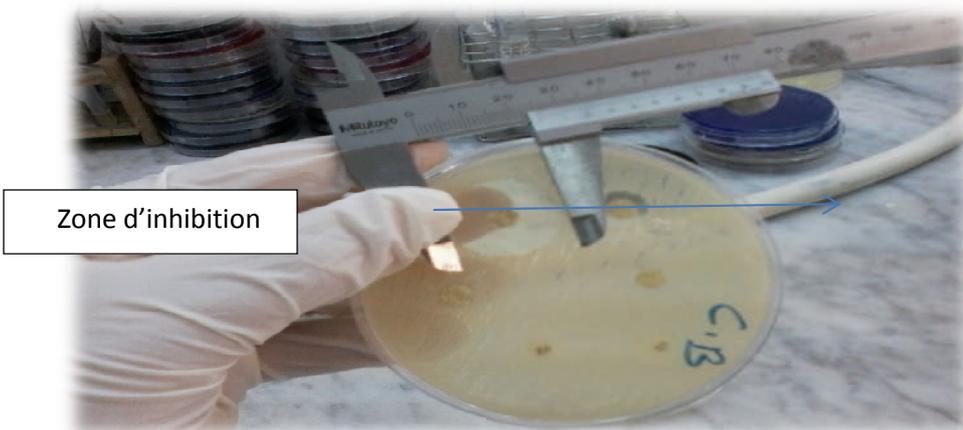
➤ Technique

- Les milieux utilisés sont : le Muller Hinton (MH) pour les BGN et les Staphylocoques, et MH additionné de sang dans le cas de *Streptocoques*.

- Préparation de la suspension bactérienne : à partir d'une culture pure de 18-24h, à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, racler 3 à 5 colonies bien isolées, et ensemencer dans un tube contenant 10 ml d'eau physiologique stérile.
- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne et l'essorer en le tournant sur la paroi interne du tube
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de surface sèche de haut en bas en stries serrées.
- Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois.
- Appliquer les disques d'antibiotiques à l'aide d'une pince (il faut pas dépasser 6 disques sur une boîte de 90 mm de diamètre)
- Incuber à 35°C pendant 24 heures.

➤ **Lecture**

- Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse métallique.
- Comparer ces résultats aux valeurs critiques (**annexe II**)
- Classer les bactéries dans l'une des catégories : résistante, intermédiaire, sensible.



Zone d'inhibition

Figure n 07: Antibiogramme de *Streptocoque* (photo originale)

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AGNES H.H ., CAMILLE D.2004.« Artériopathie oblitérante des membres inférieurs et diabète sucré ». Mini revue de John Libbey Eurotext. Volume 16. N 393-402.
- AVRIL J.L., DABERNAT.H.,DENIS F et MONTIEIL H.2000. « Bactériologie clinique ». 3^{ème} Edition Ellipses. Paris 602P.
- BERCHE P, GAILLARO J.L ET SIMONET M. ,1999,« Bactériologie, bactéries des infections humaines ».Edition : Flammarion
- BRYSKIER A.1999. « Antibiotiques Agents antibactériennes et Antifongiques ».Edition : Ellipses.
- CARBONNEL B.,DENIS F.,MARMONIER A.,PINON G et VARGUESR R 1987. « Bactériologie médicale ». 3^{ème} Edition SIMEP. Paris.325p.
- DELARRAS C.2007, « Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire ». Edition : Lavoisier. Paris 476p.
- DENIS F, POLY M, MARTIN CH et al.,2007 « Bactériologie médicale techniques usuelles »Edition : Elsevier Masson. France
- DOMATR A., BOURNEUF J., 1981. Nouveau Larousse Médical. 1142 P
- DUCLOUX R.ALTMAN J.J.2012. « Pied du patient diabétique ». Edition : Elsevier Masson
- EBERLIN TH, 1997. « les infections microbiennes »\ Tom 1 \ « Agents infectieux » Edition : Nathan ,128p.
- FERRAN AZELE. « bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine ». 14^{ème} Edition Flammarion : 14Me 14, 1992, p245.
- FIGARELLA J, LEYRAL G ET TERRET M. 2001, « Microbiologie générale et médicale ». Edition : Jaques Lanore-Henrens. Paris.282p.
- FREYCHET P, TCHOUBROUTSKY G, GENARD S et ROGES A, 1991 « Traite de diabétologie ». Edition : Pradel.
- GEAN P.S., CHRISTIAN C et LOUIS B, 2006. « Pied diabétique infecté ».

- GRIMALDI A.2005. « Traite de diabétologie ». Edition : Flammarion.
- JOFFIN J.M .,LEGREL G, 1998 ; « Microbiologie technique, dictionnaire des techniques tom 2 ».2éme Edition CRDP d'Aquitaine.299P.
- JOFFIN J.M., LEGREL G., 2001. « Microbiologie technique, dictionnaire des techniques, Tome 1 ». 3éme Edition CRDP d'Aquitaine. 320p.
- HERISSON C, SIMON L.1993. « Pied diabétique ». Edition : Masson.
- KAMAN P., FREJAVILLE J.P, 2002. « Gide des examens de laboratoire ». Edition : Flammarion, 1438p.
- KHALFA S, 2001. « Le diabète sucré. Alger office des publications universitaires.148p.
- LEMINOR L., VERON M. 1990. « Bactériologie médicale ». 2 éme Edition. Médecine Sciences Flammarion. Paris.1107p.
- LUBETZKI J ., CHASSON P., GUILLAUSSEAU P.J. 2005. « Endocrinologie et maladies métabolique ». 3éme Edition Médecine Science Flammarion. Paris.565 p.
- MARC TH.2002. « Le diabète ».
- MAINARDI J.L., GOLDESTSTEIN F.W et GUTMAN I. 1996. « Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques ». Edition : EncyclMedchir (Elsevier). Paris.
- MALGRANGE D.2008 : « Physiopathologie de pied diabétique ». Edition : La revue de Médecine interne.
- MARCHAL N., BOURDON J.L ET RICHARD C.L.1987. « Les milieux de cultures pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries ». Edition DOIN.505P.
- MONNIER L. 2010,« Diabétologie ». Edition Elsevier Masson.
- NAUCIEL C,2000. « Bactériologiemédicale ». Edition : Masson. Paris.1107P.
- OLIVIER H CHRISTOPHE P. 2007. « Le diabète et ces complications ». Edition Pearson d'or. France.156P.

- PACAUDE G.1995. « Le diabète et ces complications ». Edition Album SA. Pris. 129P.
- PERLEMUTER L ., COLLIN.D'HORTET G.1995. « Diabète et maladies métabolique ». 3éme Edition Masson.Paris.395P.
- PHILIPPE O.2006. « Les lésions des pieds chez les patients diabétiques adultes quelle prise en charge à l'hôpital ». Revu de Drees. N°473.1-8P.
- RICHARD J.L.2005. « Le pied diabétique ». MPT. Nîmes (France). 65P.
- SEKKAL F, 1998. « la revue Médico-pharmaceutique n°4. Edition : Masson.220P.
- Société Française de microbiologie. « Examen microbiologique des lésions et suppurations cutanées » in Rémic. 4éme Edition 2010. p147.
- TOURNIAIRE J.1994. « Endocrinologie de diabète pour la nutrition praticien ». Edition Simep. Paris. 402P.
- TOUMI A, BERNARD, CHAKROUN M. 2011.“Antibiothérapie des infections du pied diabétiques». Revue Tunisienne d'infectiologie.Vol.5, N°2 :61-67.

Matériel non biologique :

Il est représenté par les appareillages, la verrerie, les réactifs, les colorants, les milieux de culture et les antibiotiques

a- Verreries et appareillages :

- Lames et lamelles
- Pipettes Pasteur stérile
- Tubes à essais stériles
- Bocal rempli de l'eau de javel
- Boite de pétri
- Ecouillons
- Poire
- Pied à coulisse
- Pince métallique
- Portoir a tubes
- Bec Bunsen
- Vortex
- Cloche
- Etuve d'incubation à 35C°
- Poupinelle
- Réfrigérateur à 4C° et à 20C°
- Microscope optique

b- Solutions :

- Eau physiologique stérile à (9%)
- Eau oxygénée (H₂O₂)
- Huile de vaseline stérile
- Sérum humain
- Alcool à 95C°

c- Les colorant

- Fushine
- Lugol
- Violet de Gentiane

Annexe I

Les milieux liquides		
Milieu	Composition g/l	Utilisation
<p>Urée-indole</p> 	<p>-Tryptophanes.....3 -Phosphate mono potassique....1 -Phosphate bi potassique.....1 -Chlorure de sodium.....5 -Urée.....20 -Rouge de phénol.....0,025 -Alcool à 95°.....0,1 -PH.....6, 7</p>	<p>La recherche de :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Urée - TDA - Indole
<p>Bouillon nitrate</p> 	<p>-Cœur cerveau infusion.....25 -Nitrate de sodium.....10 -PH.....7,2</p>	<p>Recherche de nitrate réductase.</p>
<p>Clark et Lubs</p> 	<p>-Peptone.....5 -Glucose.....5 -Phosphate.....5 -PH.....7,5</p>	<p>Utilisé pour déterminer mode de la voie fermentaire</p>

Annexe I

Milieux liquides		
Milieu	Composition g/l	Utilisation
ADH 	<ul style="list-style-type: none"> -Extrait de levure.....3 -L-arginine.....5 -Glucose.....1 -Bromocrésol pourpre..0,16mg -Ethanol solvant de BCP...1 cm3 -Chlorure de sodium.....5 -PH.....6,8 	Recherche d'ADH
LDC 	<ul style="list-style-type: none"> -Extrait de levure.....3 -L-lysine.....5 -Glucose.....1 -Bromocrésol pourpre.....0,16mg -Ethanol solvant de BCP....1cm2 -Chlorure de sodium.....5 -PH.....6,8 	Recherche de LDC
ODC 	<ul style="list-style-type: none"> -Extrait de levure.....3 -L-Orithine.....5 -Glucose.....1 -Bromocrésol pourpre.....0, 16mg -Ethanol solvant de BCP....1cmé -Chlorure de sodium.....5 -PH.....6, 8 	Recherche d'ODC

Annexe I

Réactif	Composition	Utilisation
<p>Kovacs</p> 	<p>-Diméthyle-amino 4 benzaldéhyde...50g -Acide chlorhydrique....250cm³ -Pentanol.....750cm³</p>	<p>Recherche d'indole</p>
<p>TDA</p> 	<p>-Perchlorure de fer.....3,4g -Eau distillé.....100ml</p>	<p>Recherche de TDA</p>
<p>VPI</p> 	<p>-Naph-1-ol.....60g -Ethanol.....1cm³</p>	<p>Recherche de l'acétoïne</p>
<p>VPII</p> 	<p>Solution aqueuse d'hydroxyde de potassium à 4mol.cm³ (10%)</p>	<p>Recherche de l'acétoïne</p>

Annexe I

<p>RM</p> 	<p>-Rouge de méthyle.....5g -Ethanol.....1cm3</p>	<p>Recherche des acides</p>
--	---	------------------------------------

Les disques imprégnés :

Disque de l'oxydase	Disque d'ONPG	Disque d'antibiotiques
		

Tableau XVII : Table de lecture pour la galerie API20E

Tests :	Composant actifs :	Réaction/Enzymes :	Résultats	
			Négatifs :	Positifs
ONPG	2-nitrophenyle- β -D-galactopyranoside	B-galactosidase	Incolore	Jaune
<u>ADH</u>	L-arginine	Arginine dihydrolase	jaune	Rouge-orange
LDC	L-lysine	Lysine décarboxylase	jaune	Rouge-orange
ODC	L-Ornithine	Ornithine décarboxylase	jaune	Rouge-orange
CIT	Citrate de sodium	Utilisation du Citrate	Vert pale/jaune	Bleu vert/bleu
H2S	Thiosulfate de sodium	Production d'H2S	incolore	Dépôt noir
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge orange
TDA	L-tryptophane	Tryptophane désaminase	Réactif TDA	
			jaune	Marron foncé
IND	L-tryptophane	Production d'indole	Réactif de Kovacs	
			jaune	Anneau rouge
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	VP1+VP11/10 min	
			Incolore	Rose-rouge
GEL	Gélatine de khon	Gelatinase	Non diffusion	Diffusion de pigment noir
GLU	D-glucose	Fermentation/oxydation	Bleu-vert	Jaune
MAN	D-manitol	Fermentation/oxydation	Bleu-vert	Jaune
SOR	D-sorbitol	Fermentation/oxydation	Bleu-vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation/oxydation	Bleu-vert	Jaune
RHA	L-rhamnose	Fermentation/oxydation	Bleu-vert	Jaune
SAC	D-saccharose	Fermentation/oxydation	Bleu-vert	Jaune
MEL	D-melibiose	Fermentation /oxydation	Bleu-vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation /oxydation	Bleu-vert	Jaune
ARA	L-arabinose	Fermentation /oxydation	Bleu-vert	Jaune
OXY	Oxydase	Cytochrome oxydase	Incolore	Violet

Tableau XVIII : Table de lecture des valeurs critique des diamètres des zones d'inhibition pour les Entérobactéries.

Antibiotiques testés	Signe	Diamètres critique (mm)		
		Résistant	Intermédiaire	Sensible
<u>B-Lactamines :</u>				
Ampicilline	AM	≤13	14-16	≥17
Amoxicilline+AC clavulanique	AMC	≤13	14-17	≥18
Céfazoline	CZ	≤14	15-17	≥18
Céfoxitine	FOX	≤14	15-17	≥18
Céfotaxime	CTX	≤14	15-22	≥23
Céfalexine	CN	≤13	13-17	≥18
<u>Aminosides:</u>				
Amikacine	AN	≤14	15-16	≥17
Gentamicine	GM	≤12	13-14	≥15
<u>Autres:</u>				
Chloramphénicol	C	≤12	13-17	≥18
Nitrofurantoine	FT	≤14	15-16	≥17
Triméthoprim/Sulfaméthoxazole	SXT	≤11	11-15	≥16
levofloxacine	LVX	≤13	11-20	≥21

Tableau XIX: Table de lecture des valeurs critique des diamètres des zones d'inhibition pour pseudomonas aeruginosa.

Antibiotique testes	Signe	Diamètres critique (mm)		
		Résistant	Intermédiaire	Sensible
<u>B-Lactamines :</u>				
Ticarcilline	TIC	≥14	-	≤15
Pipéracilline	PIP	≥17	-	≤18
Ceftazidime	CAZ	≥14	15-17	≤18
<u>Aminosides :</u>				
Amikacine	AN	≥14	15-16	≤17
Gentamicine	GM	≥12	13-14	≤15
Tobramycine	TM	≥12	13-14	≤15
<u>Autres :</u>				
Tétracycline	TE	≥14	15-18	≤19
Triméthoprim/Sulfaméthoxazole	SXT	≥10	11-15	≤16
Chloramphénicol	C	≥12	13-17	≤18
Rifampicine	RA	≥14	14-18	≤19

(OMS ,2003)

Tableau XX : Table de lecture des valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour *Staphylococcus sp*

Antibiotique testes	signe	Diamètres critique (mm)		
		Résistant	Intermédiaire	Sensible
<u>B-Lactamines :</u>				
Pénicilline	P	≤28	-	≥29
Oxacilline	OX	≤10	11-28	≥13
S.aureus			-	≥18
S.a coagulase négative				
<u>Aminosides :</u>				
Gentamycine	GM	≤12	13-14	≥15
Amikacine	AN	≤14	15-16	≥17
<u>Macrolide :</u>				
Pristinamycine	PT	≤19	-	≥22
Erythromycine	E	≤13	14-22	≥23
Clindamycine	CM	≤14	15-20	≥21
<u>Glycopeptides :</u>				
Vancomycine	VA	-	-	≥15
<u>Quinolones :</u>				

Annexe II

Lévofoxacine	LVX	≤13	14-16	≥17
<u>Sulfamides :</u>				
Triméthoprine/Sulfaméthoxazole		≤16	17-19	≥20
<u>Autres :</u>				
Acide fusidique	FA	≤15	13-15	≥22
Rifampicine	RA	≤14	15-18	≥19

(OMS, 2003)

Tableau XXI : Table de lecture des valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour Streptococcus sp (autre que S.pneumoniae)

Antibiotiques testés	signe	Diamètres critique (mm)		
		Résistant	Intermédiaire	Sensible
<u>B-Lactamines :</u>				
Pénicilline		P	-	≥24
Ampicilline		AM	-	≥24
<u>Macrolides</u>				
Pristinamycine	Pt	≤14	-	≥18
Erythromycine	E	≤15	16-20	≥21
clindamycine	CM	≤15	16-18	≥19
<u>Glycopeptides :</u>				
vancomycine	VA	-	-	≥17
<u>Quinolones :</u>				
Lévofoxacine	LVX	≤13	14-16	≥17
<u>Nitrofuranes :</u>				
furanes	FT	≤13	14-15	≤13

Annexe II

<u>Autres :</u>				
Rifampicine	RA	≤14	14-18	≥19
Tétracycline	TE	≤18	19-22	≥23

(OMS ,2003)

Tableau XXII :Listes des antibiotiques à testes pour les bactéries exigeantes et non exigeantes

Bactéries non Exigeantes			Bactéries Exigeants
<i>Entérobactéries</i>	<i>Pseudomonas sp</i> <i>Acinetobacter sp</i>	<i>Staphylococcus sp</i>	<i>Streptococcus sp autre que S.pneumoniae</i>
-Ampicilline ou Amoxicilline	-Ticarcilline	-Pénicilline ou Ampicilline	-Pénicilline
-Amoxicilline+AC clavulanique*	-Pipéracilline	-Oxacilline	-Ampicilline
-Céfazoline	-Ceftazidime	-Gentamicine	-Erythromycine
-Céfoxitine	-Imipinème	-Amikacine	-Pristinamycine
-Céfotaxime ou Ceftriaxone	-Gentamicine	-Kanamycine	-Clindamycine
-Imipinème	-Tobramycine	-Erythromycine	-Tétracycline
-Gentamicine	-Amikacine	-Lincomycine ou Clindamycine	-Vancomycine
-Amikacine	-Ofloxacin	-Pristinamycine	
-Chloramphénicol	-Fosfomycine	Ofloxacin	
-Contrimoxazole		-Vancomycine	
-Colistine		-Rifampicine	
-Ofloxacin		-Fosfomycine	
-Furanes		-Contrimoxazole	
		-Ac fusidique	

(*) : Le disque d'AMC doit être appliqué près d'un disque de céphalosporine de 3^{ème} génération

Annexe II

Tableau XXIII: valeurs critique des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *P aeruginosa* et *Acinetobacter*

Antibiotique testés	Charge des disques	Diamètres critique (mm)			CMI critique (µg/ml)	
		Résistant	Intermédiaires	Sensibles	Résistant	Sensibles
<u>β-Lactamines :</u>						
- Ticarcilline :	75µg					
<i>p. aeruginosa</i>		≤14	-	≥15	≥128	≤64
<i>Acinetobacter</i>		≤14	15-19	≥20	≥128	≤16
-Pipéracilline :	100µg					
<i>P aeruginosa</i>		≤17	-	≥18	≥128	≤64
<i>Acinetobacter sp</i>		≤17	18-20	≥21	≥128	≤16
Ceftazidime	30µg	≤14	15-17	≥18	≥32	≤8
Aztréonam	10µg	≤15	16-21	≥22	≥32	≤8
Imipénème	10µg	≤13	14-15	≥16	≥16	≤4
<u>Aminosides :</u>						
Amikacine	30µg	≤14	15-16	≥17	≥32	≤16
Gentamicine	10µg	≤12	13-14	≥15	≥8	≤4
Tobramycine	10µg	≤12	13-14	≥15	≥8	≤4
<u>Quinolones :</u>						
Ofloxacine	5µg	≤12	13-15	≥16	≥8	≤2
Ciprofloxacine	5µg	≤15	16-20	≥21	≥4	≤1

Annexe III

Tableaux des résultats obtenus :

Tableau XXIV : Répartition des prélèvements selon leurs origines

Origine	Nombre	%
Patients hospitalisés	111	88,8
Patients non hospitalisés	14	11,2
Totale	125	100

Tableau XXV : Répartition des prélèvements selon le sexe

Sexe	Nombre	%
Homme	71	56,8
Femme	54	43,2
Totale	125	100

Tableau XXVI : Répartition des prélèvements en fonction de l'âge et du sexe

Age	Sexe	Homme		Femme	
		Nombre	%	Nombre	%
(40 ans≤)		/	/	1	0,8
(20-40 ans)		3	2,4	1	0,8
(40-60 ans)		27	21,6	13	10,4
(≥60 ans)		46	36,8	34	27,2

Tableau XXVII : Distribution des prélèvements analysés selon le type de diabète

Type	Fréquence	nombre	%
Type I		18	14,4%
Type II		107	85,6%
Totale		125	100%

Annexe III

Tableau n°XXVIII : répartition des prélèvements selon le type de l'infection

Type d'infection \ Fréquences	Nombre	%
Infection superficielle	46	36,8 %
Infection profonde	79	63,2 %
Totale	125	100 %

Tableau XIX : Fréquences des différentes cultures obtenues

Culture \ Fréquences	Nombre	%
Culture positive	112	89,6%
Culture négative	11	8,8%
FP	2	1,6%
Totale	125	100%

Tableau XXX : Pourcentage de résistance, de sensibilité de souche de Staphylococcus aureus aux antibiotiques

ATB	P	OX	GM	PT	RIF	E	CM	VA	K	SXT	FA	TE
Résistance	100%	41,38%	27,59%	6,90%	3,45%	24,14%	20,69%	00%	44,82%	17,24%	72,41%	17,24%
Sensibilité	0%	58,62%	72,41%	93,10%	96,55%	75,86%	79,31%	100%	55,18%	82,75%	27,59%	82,75%

Tableau XXXI: Pourcentage de résistance, de sensibilité des souches de Pseudomonas aeruginosa aux antibiotiques

ATB	TIC	PIP	CAZ	AN	GM	IPM	TB	SXT	CIP	NA
Résistance	27,28 %	45,46 %	36,37%	9,09%	18,19%	00%	18,19%	9,09%	36,37 %	45,46%
Sensibilité	72,72 %	54,54 %	63,63%	90,91 %	81,81%	100%	81,81%	90,91 %	63,63 %	54,54%

Annexe III

Tableau XXXII : Pourcentage de résistance, de sensibilité des Enterobacteries isolées vis-à-vis des antibiotiques

Antibiotique s	<i>Proteus</i>		<i>E. coli</i>		<i>Morganella</i>		<i>Klebsiella</i>		<i>Enterobacter</i>		<i>Citrobacter</i>	
	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S
AM	55%	45%	88,9%	11,70%	55,57%	44,43%	100%	00%	100%	00%	50%	50%
AMC	20%	80%	77,79%	22,21%	77,79%	22,21%	14,29%	85,71%	50%	50%	00%	100%
CZ	25%	75%	88,9%	11,10%	55,57%	44,43%	28,57%	71,43%	100%	00%	50%	50%
FOX	00%	100%	11,10%	88,9%	55,57%	100%	00%	100%	50%	50%	00%	00%
CTX	00%	100%	00%	100%	00%	100%	00%	100%	00%	100%	00%	00%
TIC	25%	75%	59,57%	44,43%	22,21%	77,79%	100%	00%	50%	50%	00%	00%
IPM	00%	100%	00%	100%	00%	100%	00%	100%	00%	100%	00%	00%
GM	5%	95%	22,21%	77,79%	00%	100%	14,29%	85,71%	00%	100%	00%	100%
NET	00%	100%	00%	100%	00%	100%	00%	100%	00%	100%	00%	100%
SXT	30%	70%	22,21%	100%	22,21%	77,79%	28,57%	71,43%	00%	100%	00%	100%
CIP	20%	80%	55,57%	44,43%	22,21%	77,79%	28,57%	71,43%	00%	100%	00%	100%
NA	30%	70%	00%	100%	22,21%	77,79%	14,29%	85,71%	00%	100%	50%	50%

Annexe III

Tableau XXXIII : Pourcentage de résistance de sensibilité des souches de *Streptocoques sp* aux antibiotiques

ATB	<i>Streptococcus sp</i>		<i>Streptococcus</i> groupe « A »		<i>Streptococcus</i> groupe « b »		<i>Streptococcus</i> groupe « D »	
	R	S	R	S	R	S	R	S
P	100%	00%	00%	100%	00%	100%	100%	100%
AM	00%	100%	00%	100%	00%	100%	100%	100%
PT	00%	100%	00%	100%	00%	100%	12,5%	87,5%
E	00%	100%	00%	100%	00%	100%	37,5%	62,5%
CM	00%	100%	00%	100%	00%	100%	37,5%	62,5%
VA	00%	100%	00%	100%	00%	100%	00%	100%
RIF	00%	100%	00%	100%	00%	100%	00%	100%
GM	00%	100%	50%	50%	20%	80%	00%	100%
CRO	00%	100%	00%	100%	00%	100%	25%	75%
TE	50%	50%	50%	50%	20%	80%	100%	00%

- ❖ Résultat des quelques aspects des cultures après l'ensemencement et l'enrichissement de prélèvement :



Figure n° 19 :

Staphylococcus sur gélose de chapman Figure n°20 : Pseudomonas aeruginosa sur GSC



Figure n°21 : infection profonde du pied d'un patient diabétique atteint le type I de diabète



Figure 22 : plaies chroniques nécrosées des pieds des patients diabétiques



Figure 23 : Plaies chroniques associées d'ostéite des pieds des patients diabétiques



Figure 24 : plaies superficielles des pieds des patients diabétiques