

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique  
Centre Universitaire Belhadj Bouchaib d'Aïn-Témouchent



Faculté des Sciences  
Département des Sciences de la nature et de la vie

## **Mémoire**

**Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme  
De MASTER en sciences Biologiques.**

Option : Microbiologie Appliquée

*Présenté par :*

**Mme. ZENASNI Nacera**

---

**Isolement Et Identification Des Germes À Partir Des Plaies Infectées**

**Chez Les Diabétiques**

---

Encadrante :

**Mme. MADANI Khadidja**

Maitre Assistant "A" à C.U.B.B.A.T.

Soutenu le :27/06/2019

**Devant le jury composé de :**

**Présidente :** Mme. ILIAS Faiza

(M.C.A)

C.U.B.B.A.T

**Examineur :** Mr. CHERIF Nadjib

(M.C.B)

C.U.B.B.A.T

**Encadrante :** Mme. MADANI Khadidja

(M.A.A)

C.U.B.B.A.T



## **Remerciements**

*On remercie en premier lieu **Dieu** tout puissant de nous avoir accordé la puissance et la volonté pour achever ce travail.*

*Le vif remerciement s'adresse à la promotrice du mémoire **Mme. MADANI**, maitre assistante A, pour son encadrement, sa patience, sa disponibilité et ses judicieux conseils, et surtout les encouragements qui ont permis de réaliser ce travail.*

*Nous voulons exprimer nos sincères remerciements et notre grand respect*

*À notre chef de département **Mr. BAKLI Mahfoud**.*

*On tient à remercier Madame **M'HAMED I Imene**, Docteur au centre universitaire d'Ain Temouchent et responsable de master de microbiologie.*

*Nous voudrions remercier aussi **Mme ILIAS Faiza**, maitre de conférences A, au centre universitaire d'Ain Temouchent d'avoir accepté de nous faire l'honneur de présider ce jury. Merci également à **Mr. CHERIF Nadjib**, Maitre de conférence B, au centre universitaire d'Ain Temouchent d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*On remercie également toute l'équipe pédagogique du centre universitaire CUBBAT et le personnel de laboratoire, pour avoir assuré notre pratique.*

*Qu'ils me soit permis de présenter tous mes remerciements à tout le personnel*

*Du service de chirurgie générale et médecine interne du EH Dr Benzarjab et Ahmed Madaghrid'Ain temouchant de nous avoir acceptée au sein de*

*Ces service et de nous avoir facilitée le travail.*

*Enfin, nos remerciements s'adressent à toutes les personnes qui nous ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail ou qui nous ont encouragé et soutenu à tout moment.*

*Nous remercions également nos parents, pour leur soutien constant et leurs encouragements.*

## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail:*

*À Dieu tout puissant, qui ma tracé le chemin de ma vie, qui m'a donné la force, la santé et le courage de réaliser ce précieux travail.*

*À Les plus chère personnes dans ma vie, les lumières de mes yeux; ma mère, papa, mon marie, mon bébé d'amour Nihel.*

*Mon cher époux **Khaled**, Aucun mot ne saurait t'exprimer mon profond attachement et ma reconnaissance pour l'amour, la tendresse et la gentillesse dont tu m'as toujours entouré. Grâce à ton aide et à ta patience avec moi, que ce travail a pu voir le jour. Je souhaite que Dieu me le garde et que vie nous donne temps pour le remercier.*

***Maman** qui m'a supportée, Les mots ne suffisent pas pour exprimer toute l'affection que j'éprouve pour toi ; je te dois ma réussite, mon éducation, ma fierté. Tu m'as aimé très profondément et tu as été toujours une mère idéale. Tu es la seule qui comprend ma vie : Je te demande pardon et encore une fois Merci.*

***Mon cher papa**, qui m'ont jamais cessé, de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs.*

*À l'amour de ma vie, le bonheur de mon existence, **ma petite ange Nihel** que j'aime plus fort que tout, plus que ma propre vie.*

*Je dédié aussi :*

*A mes très chères frères **Ali**, et **Rachid** pour l'amour, l'attention et l'aide qu'ils m'ont apportés.*

*A mes **beaux parents** pour leurs précieux encouragements.*

*A mon beaux frère **Madjid** et mes **belles sœurs**.*

*A toute ma famille et à toutes mes amies.*

*A toute la promotion « Microbiologie 2018-2019 » en particulier MESOUAF Zoubida Hind et KORIDAK Imen.*

## Liste des abréviations

**OMS** : Organisation mondiale de la santé.

**IDM** : L'infarctus du myocarde.

**AVC** : Accident vasculaire cérébral.

**IDF** : International Diabètes Fédération.

**ADA** : l'American Diabètes Association.

**DID** : Diabètes type I.

**DNID** : Diabètes type II.

**MEC** : Matrice extracellulaire.

**EGF** : facteur de croissance épidermique.

**PDGF**: platelet-derived growth factor.

**TGF  $\alpha$** : transforming growth factor  $\alpha$ .

**KGF**: Keratinocyte Growth Factor.

**FGF**: fibroblast growth factors.

**AINS** : les anti-inflammatoires non stéroïdiens.

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

**TDA**: Tryptophane désaminase.

**VP** :Vosges-Proskauer.

**BN** :bouillon nutritif.

**GN** : gélose nutritif.

**EH** : Etablissement hospitalier

**SCN**: Staphylocoque à coagulase négatif.

## Listes des figures

<b>Figure 01:</b> Escarre sacrée.....	08
<b>Figure 02 :</b> Mal perforant plantaire chez un patient diabétique.....	09
<b>Figure 03 :</b> Schéma de la démarche suivie au cours de notre étude.....	16
<b>Figure 04 :</b> Remplissage de la galerie API 20 <sup>E</sup> .....	21
<b>Figure 05 :</b> Aspect morphologique des colonies d'entérobactéries sur milieu Mac-conkey...24	
<b>Figure 06 :</b> Aspect macroscopique des souches de <i>Staphylocoque blanc</i> .....	25
<b>Figure 07 :</b> Aspect macroscopique des souches de <i>Staphylocoque doré</i> .....	25
<b>Figure 08 :</b> Répartition des bactéries selon la coloration de Gram.....	26
<b>Figure 09:</b> Observation microscopique après coloration de Gram (Grossissement x100).....	26
<b>Figure 10:</b> Résultats de l'identification biochimique par la galerie API20E.....	28
<b>Figure 11:</b> Résultats positif du test de catalase (effervescence).....	29
<b>Figure 12:</b> Résultats du test de coagulase.....	29
<b>Figure 13 :</b> Répartition en pourcentage des souches identifiées selon les prélèvements.....	31

## **Liste des tableaux**

<b>Tableau 01:</b> présentation des cas étudiés.....	17
<b>Tableau 02:</b> Répartition des souches bactériennes sur les milieux de culture selon les prélèvements.....	22
<b>Tableau 03 :</b> Résultats d'identification des Gram négatifs.....	27
<b>Tableau 04:</b> Répartition des souches bactériennes dans chaque prélèvement.....	30

# **Table des matières**

**Remerciements**

**Liste des abréviations**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Introduction .....1**

**Synthèse bibliographique**

**I. Notion générale sur le diabète .....2**

**I.1. Prévalence du diabète selon l'organisation mondiale de la santé OMS .....2**

**I.1.1. Données mondiales .....2**

**I.1.2. Données nationales .....2**

**I.2. Définition du diabète .....3**

**I.3. Classification du diabète .....3**

**I.3.1. Diabète gestationnel .....3**

**I.3.2. Diabète insipide .....4**

**I.3.3. Diabète de type 1 .....4**

**I.3.4. Diabète de type 2 .....4**

**I.4. Les complications du diabète .....4**

**I.4.1. La micro-angiopathie .....5**

**I.4.2. La macro-angiopathie .....5**

**II. Les plaies .....6**

**II.1. Définition .....6**

**II.2. Les grandes types de plaies .....6**

**II.2.1. Les plaies aiguës .....6**

**II.2.1.1. Les morsures .....6**

**II.2.1.2. Les engelures et gelures .....7**

**II.2.1.3. Les brûlures .....7**

**II.2.1. Les plaies chroniques .....7**

**II.2.1.1. Les escarres .....8**

**II.2.1.2. Les ulcères de jambe .....8**

II.2.1.3. Le pied diabétique.....	8
II.3. Infections des plaies chez les diabétiques.....	9
II.3.1. Caractéristiques des plaies diabétiques infectées.....	10
II.3.2. Diagnostic d'infection chez les diabétiques.....	10
<b>III. La cicatrisation .....</b>	<b>11</b>
III.1. Définition.....	11
III.2. Les types de la cicatrisation.....	11
III.2.1. La cicatrisation primaire.....	11
III.2.2. La cicatrisation secondaire.....	11
III.3. Les acteurs de la cicatrisation.....	11
III.4. Physiologie de la cicatrisation.....	12
III.4.1. La phase de détersion ou inflammatoire.....	12
III.4.2. La phase de réparation tissulaire ou de granulation.....	12
III.4.3. La phase d'épidémisation.....	13
III.4.4. La phase de remodelage.....	13
III.5. Retard de la cicatrisation.....	13
III.5.1. La surinfection.....	13
III.5.2. Un défaut d'oxygénation et/ou de perfusion.....	13
III.5.3. Les carences nutritionnelles.....	14
III.5.4. Les déficits immunitaires.....	14
III.5.5. Les traitements médicamenteux.....	14
III.5.6. Les troubles de la coagulation et pathologies hématologiques.....	14
III.5.7. L'insuffisance rénale chronique.....	14
III.5.8. L'âge du sujet.....	14
III.5.9. Diabète.....	14
<b>Partie expérimentale</b>	
<b>I. Matériels et méthodes.....</b>	<b>15</b>
I.2. Lieu et période d'étude.....	15
I.3. Plan d'étude.....	15
I.4. Méthodes.....	17
I.4.1. Phase de prélèvement.....	17
1.4.1.1. Lieux de prélèvement.....	17
1.4.1.2. Méthodes de prélèvement.....	17
I.4.2. Ensemencement et isolement.....	18
I.4.3. Identification.....	18
I.4.3.1. Aspect macroscopique.....	18
I.4.3.2. Aspect microscopique.....	18
I.4.3.3. Tests physiologique.....	19
I.4.3.4. Identification biochimique par la galerie API 20 E.....	20
<b>II. Résultat et discussion.....</b>	<b>22</b>
II.1. Résultats des prélèvements.....	22
II.2. Identification morphologique des souches isolée.....	23
II.2.1. Etude macroscopique.....	23
II.2.2. Etude microscopique.....	25
II.2.2.1. Examen à l'état frais.....	25

<b>II.2.2.2. Coloration de Gram.....</b>	<b>25</b>
<b>II.3. Identification biochimique.....</b>	<b>26</b>
<b>II.3.1. Identification des Gram négatifs.....</b>	<b>26</b>
<b>II.3.2. Identification des Gram positif.....</b>	<b>28</b>
<b>II.3.2.1. Test de Catalase.....</b>	<b>28</b>
<b>II.3.2.1. Test de coagulase.....</b>	<b>29</b>
<b>II.4. Répartition des souches bactériennes identifiées en fonction des prélèvements du pied diabétique.....</b>	<b>30</b>
<b>III. Discussion.....</b>	<b>32</b>
<b>III.1. les patients atteints.....</b>	<b>32</b>
<b>III.2. L'étude bactériologique.....</b>	<b>33</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>35</b>
<b>Recommandation</b>	
<b>Références bibliographiques</b>	
<b>Liste des annexes</b>	
<b>Résumé</b>	

# *Introduction*

Le diabète est une maladie très fréquente, en Algérie comme ailleurs, qui représente un véritable fléau social dont les conséquences, en terme de morbidité et de mortalité, sont sévères. Sa prévalence est en augmentation rapide dans toutes les parties du monde, au point qu'il a maintenant des proportions épidémiques. Malgré l'envergure de cette maladie et les risques élevés qui en découlent, il est encore difficile d'estimer précisément sa prévalence **(Invs, s.d.)**.

Nombreuses sont les complications qui atteignent les patients diabétiques, comme les maladies cardiovasculaires, l'insuffisance rénale et les problèmes oculaires, mais les complications au niveau des plaies y compris les infections chronique sont parmi les plus fréquentes et redoutées **(International working group on the diabetic foot, 2007)**.

Les plaies constituent un grave problème de santé et s'accompagnent de profondes répercussions personnelles, cliniques et économiques. Elles peuvent être horriblement douloureuses et débilitantes, en plus de miner le fonctionnement, la mobilité et la qualité de vie **(Les plaies difficiles au Canada, 2013)**.

Les infections des plaies cutanées sont multifactorielles variant en fonction de la profondeur de l'atteinte et des bactéries causales. Les patients diabétiques sont plus exposés que la population générale aux infections des plaies et en particulier à celles localisées au niveau du pied. Cette dernière est considérée comme la complication la plus onéreuse, et principale cause d'hospitalisation de long séjour de ces patients **(Chidiac et al., 2007)**. Parfois, l'infection des plaies conduit au développement de la gangrène et de l'amputation des membres inférieurs **(Raja, 2007)**.

D'autre part, l'infection retarde la cicatrisation ; elle empêche la prolifération du tissu conjonctif et ralentit l'épithélialisation, aussi elle peut détruire le nouvel épiderme et/ou les îlots de la couche basale. Elle provoque l'insuffisance de la circulation sanguine dans la plaie, qui prive les cellules d'apport d'oxygène, de nutriments et d'antibiotiques à la zone infectée et favorise l'extension du processus infectieux **(Stahl, 2006)**.

Le but de notre travail est d'établir le profil bactériologique de l'infection, les germes pathogènes qui existent dans les plaies infectées chez les diabétiques. Pour cela, nous avons isolé des souches bactériennes à partir des plaies de dix (10) malades. Ensuite, une identification par méthodes microbiologiques de ses souches a été réalisée.

*Synthèse*  
*bibliographique*

## **I. Notions générales sur le diabète**

### **I.1. Prévalence du diabète selon l'organisation mondiale de la santé (l'OMS)**

#### **I.1.1. Données mondiales**

Quand on évoque la prévalence du diabète à l'échelle planétaire on peut parler d'épidémie mondiale voire de pandémie.

- Selon l'OMS le nombre de personnes atteints de diabète est passé de 108 millions en 1980 à 422 millions en 2014. La prévalence de cette maladie dans le monde, chez les adultes, est passée de 4,7 à 8,5% entre 1980 et 2014(**OMS , 2016**).
- Les Etats-Unis et la France observent de façon similaire un ralentissement de la progression de cette pandémie depuis l'année 2008. Cependant, de très fortes disparités s'observent dans les différentes régions du monde. Les pays à revenu faible ou intermédiaire voient leur prévalence augmenter plus rapidement que les pays à revenu élevé (**Geiss et al.,2014**).
- Le diabète est une cause majeure de cécité ; d'insuffisance rénale ; d'IDM, d'AVC et des amputations des membres inférieurs. En 2012 on a estimé que 1,5 million de décès étaient directement dus au diabète et que 2,2 millions de décès supplémentaires devaient être attribués à l'hyperglycémie (**Centre des médias, 2016**).
- Selon l'International Diabetes Fédération (IDF) le nombre de décès imputables au diabète est de 3,2 millions par an et pourrait augmenter de 50 % dans les 10 prochaines années (**Fédération internationale de diabète, 2005**).
- L'OMS prévoit qu'en 2030, le diabète sera la 7ème cause de décès dans le monde (**Centre des médias, 2016**).

#### **I.1.2. Données nationales**

Les chiffres sur la prévalence du diabète en Algérie sont approximatifs. Le nombre des diabétiques à voisine les 4 millions de personnes souffrant de cette maladie. Les spécialistes divergent sur la quantification du diabète, quatrième cause de mortalité chez nous.

En Algérie, L'étude nationale des indications multiples menée par le ministère de la santé, de la population et réforme hospitalière en collaboration avec l'office national des statistiques et des représentations des nations unies à Alger, classe quand elle, la pathologie du diabète en 2<sup>ème</sup> position derrière l'hypertension artérielle.

Elle est de 0,3% chez les sujets âgés moins de 35 ans, 41% chez les patients entre 35 et 59 ans, et à 12,5% chez les plus de 60 ans.

Pour ce qui est des complications entraînées par cette maladie le ministre de la Santé, de la Population et de la Réforme hospitalière a révélé en 2010 que:

- 14% des dialysés sont des diabétiques.
- 21,8% des rétinopathies sont d'origine diabétique.
- 33% des neuropathies sont diabétiques.
- 25% des artériopathies oblitérantes des membres inférieures.
- 50% des amputés diabétiques meurent dans les 5 ans qui suivent l'amputation. (**Chakib, 2011**)

### **I.2. Définition du diabète**

Le diabète est défini comme une affection métabolique, caractérisée par une hyperglycémie (taux de sucre dans le sang trop élevé) liée à une carence de la sécrétion ou de l'action de l'insuline, ou des deux (**Jean-Pierre, 2009**).

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

### **I.3. Classification du diabète**

Selon l'American Diabètes Association (ADA), l'OMS et l'International Diabètes Fédération (IDF), le diabète a été classé en :

#### **I.3.1. Diabète gestationnel**

Le diabète gestationnel ou diabète de grossesse est un diabète transitoire qui apparaît durant le 3<sup>ème</sup> trimestre de la grossesse (**Jean-Pierre, 2009**). Il se caractérise par une hyperglycémie modérée, sans gravité pour la mère mais pouvant avoir des répercussions sur l'enfant. La plus importante est la macrosomie (croissance intra-utérine excessive), qui peut rendre l'accouchement difficile. L'enfant peut également présenter une hypoglycémie néonatale, ou un défaut de maturation pulmonaire (**Blickle, 2014**).

### **I.3.2. Diabète insipide**

Diabète insipide est un trouble fonctionnel caractérisée par une incapacité des reins à concentrer les urines, se traduisant par une polyurie (émission d'une quantité d'urines très importantes diluée) et par une polydipsie (soif intense) (**Jean-Pierre, 2009**). Il est nommé insipide car il n'y a pas de sucre dans les urines (**Saborio et al., 2000**).

### **I.3.3. Diabète de type 1**

Le diabète de type 1, ou diabète insulino-dépendant (DID), est une maladie auto-immune chronique caractérisée par la destruction sélective des cellules du pancréas la produisant. Conduisant à un déficit majeur de la sécrétion d'insuline. Il représente 5 à 10% des diabètes (**Monnier & Fumat, 2010**).

Le DID se traduit à la fois par une soif très intense, une émission abondante d'urines, un amaigrissement brutal et une fatigue importante. Il peut aussi se déclarer par l'apparition d'une complication aiguë telle que l'acidocétose (accumulation excessive de corps cétonique dans l'organisme). Mais il peut aussi survenir insidieusement (**Jean-Pierre, 2009**).

### **I.3.4. Diabète de type 2**

Le diabète de type 2, encore appelé diabète non-insulino-dépendant (DNID) ou diabète de la maturité, est une maladie hétérogène, non auto-immune, caractérisé par une résistance à l'insuline et une carence relative de la sécrétion d'insuline. Il représente 90 à 95% des diabètes, mais on estime qu'environ 50% des diabètes de type 2 sont méconnus car peu symptomatiques (**Monnier & Fumat, 2010**).

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

### **I.4. Les complications du diabète**

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

Les complications à long terme du diabète sont classiquement divisées en deux catégories :

### **I.4.1. La micro-angiopathie diabétique**

C'est l'altération des petits vaisseaux sanguins : artérioles, veinules et capillaires. Trois tissus sont particulièrement le siège de cette micro angiopathie : la rétine (la rétinopathie), le glomérule rénal (la néphropathie) et le nerf périphérique (les neuropathies) (**Noubel, 2009**).

### **I.4.2. La macro-angiopathie diabétique**

Le terme de macro-angiopathie diabétique à été introduit par opposition à la microangiopathie qui touche la microcirculation, on désigne sous le terme de macroangiopathie, l'atteinte des gros vaisseaux (des artères de gros et moyens calibres) responsable de cardiopathies ischémiques, vasculaires cérébrale, atteinte des membre inferieurs (**Schlienger, 2013**).

## **II. Les plaies**

### **II.1. Définition**

Une plaie est une rupture de la cohérence anatomique et fonctionnelle du tissu vivant, généralement associée à une perte de substance.

Prise au sens large, la plaie peut également être un défaut ou une dégradation de la barrière cutanée suite à un dégât physique, mécanique, thermique, ou qui se développe suite à la présence d'un trouble sous-jacent (**Plaies et pansements, 2018**).

### **II.2. Les grands types de plaies**

Elles se classent en deux grandes catégories : les plaies aiguës et les plaies chroniques. D'origines différentes, elles sont comparables dans les soins qu'elles nécessitent. (**Téot et al., 2004**).

#### **II.2.1. Les plaies aiguës**

Les plaies aiguës s'apparaissent sous l'action de facteurs extérieurs ponctuels et traumatismes – souvent imprévisibles - qu'on peut considérer comme des accidents de la vie.

Les plaies qui sont produites sont de nature différente de celles produites par les maladies, mais elles n'en demandent pas moins de précaution.

Elles touchent principalement la tête (49%), le membre supérieur (36%), et le membre inférieur (13%) (**Téot, 2007**).

Les étiologies incluent notamment les : Morsures, greffes, plaies chirurgicales, brûlures, abcès, gelures, dermabrasions profondes... (**Battu & Brischoux, 2012**).

##### **II.2.1.1. Les morsures**

Les morsures sont des plaies à la fois contuses et fortement souillées. Leur principale complication est l'infection. Le risque infectieux est déterminé par l'animal en cause, la localisation de la morsure, les antécédents de la victime et la qualité des soins locaux de la plaie. Le traitement repose avant tout sur une désinfection par irrigation sous pression et un parage drastique avec débridement des tissus (**Battu & Brischoux, 2012**).

### II.2.1.2. Engelures et gelures

Les gelures sont des lésions cutanées de type inflammatoire causées par le froid. Elles se traduisent par une coloration violacée, d'œdèmes, de démangeaisons ou encore d'érythèmes localisés principalement au niveau des extrémités (nez, doigts, orteils).

Elles guérissent heureusement la plupart du temps en une à deux semaines (**Limoges, 2013**).

### II.2.1.3. Les brûlures

Une brûlure est une destruction de la peau après exposition à un agent thermique, chimique, électrique ou une radiation. Sa cicatrisation est fortement dépendante d'un certain nombre de facteurs (surface atteinte, profondeur, âge du patient, qualité du traitement local).

Plusieurs degrés de brûlure sont distingués selon la profondeur :

#### ✓ La brûlure du premier degré

Affecte uniquement les couches superficielles de l'épiderme, laissant la couche basale intacte.

#### ✓ La brûlure du deuxième degré

Se caractérise par la présence de phlyctènes :

– superficiels : caractérisés par une atteinte superficielle de l'épiderme, avec un aspect rouge vif, très douloureux au contact.

– profonds : présentant un aspect moins rouge, moins douloureux.

#### ✓ La brûlure du troisième degré

Se caractérise par une zone blanche, dure, cartonnée et insensible, voire carbonisée (**Echinard et Latarjet, 1993**).

### II.2.2. Les plaies chroniques

Une plaie chronique se définit par une absence de cicatrisation à 4-6 semaines (**Schultz et al., 2004**), perturbée dans une phase de processus méthodique normal de guérison ou qui n'arrive pas à reproduire l'intégralité anatomique et fonctionnelle normale de la peau (**Vézina et Saint Pierre, 2006**).

Les étiologies les plus fréquentes sont: ulcères de jambe, escarres, moignons d'amputation, plaies de pieds diabétiques, brûlures (**Battu et Brischoux, 2012**).

### II.2.2.1. Les escarres

Les escarres représentent une pathologie fréquente chez les personnes âgées, les patients neurologiques ou les patients en milieu de réanimation. Résultent d'une immobilisation prolongée voire définitive (Téot et Dealey, 1997).



**Figure 01:** Escarre sacrée (Desmouliere *et al.*, 2013).

### II.2.2.2. Les ulcères de jambe

L'ulcère est une affection très fréquente, touchent généralement des sujets âgés. Siégeant le plus souvent au niveau de la jambe, il ne guérit pas de lui-même.

Les ulcères de jambe sont principalement dus à une altération de la circulation sanguine dans le réseau artério-veineux. La cause principale est l'insuffisance veineuse ou artérielle chronique, mais également le diabète (micro- et macroangiopathies).

Il existe trois principaux types d'ulcères de jambe : veineux, artériel, mixte (artério-veineux) (Battu et Brischoux, 2012).

### II.2.2.3. Le pied diabétique

Le pied diabétique souvent due à une combinaison des troubles circulatoires périphériques, la neuropathie et de l'angiopathie. Caractérisé par la perte de la sensibilité normale et la mal vascularité abouti à des ulcérations, diminution de l'hydratation (sécheresse), fissures, et par conséquent l'augmentation du risque d'infection (Abdelkbir, 2014). Et toute blessure même minime doit être immédiatement traitée, car elle peut donner lieu à des complications gravissimes, qui nécessitent encore trop souvent son amputation (Jean-Pierre, 2009).



**Figure 02** : Mal perforant plantaire chez un patient diabétique  
(Desmouliere *et al.*, 2013).

### **II.3. Infections des plaies chez les diabétiques**

L'infection est définie par un envahissement des tissus par des bactéries, accompagnée d'une multiplication avec ou sans réponse inflammatoire de l'hôte (Stahl, 2006).

L'infection doit être distinguée de la colonisation bactérienne. La colonisation est un phénomène physiologique impliquant des bactéries commensales de la peau, qui suppose à l'infection incluant des bactéries virulentes (Lipsky *et al.*, 2004).

Plusieurs facteurs déterminent le passage de la colonisation à l'infection, notamment la charge microbienne, la virulence des micro-organismes, l'action synergique des espèces bactériennes différentes et la capacité de l'hôte à se défendre.

Les infections de plaies ont deux causes essentielles :

- Cause endogène : la contamination se fait par la flore endogène du patient.
- Cause exogène : la contamination peut s'effectuer dans ce cas par la flore de l'environnement, du personnel de soins, mais aussi par du matériel de soin contaminé (Ewma, 2006).

Les infections cutanées sont fréquentes chez le diabétique, essentiellement bactériennes et fongiques et s'avèrent plus sévères que chez le non diabétique. L'infection est souvent superficielle, mais dans certains cas, elle peut s'étendre en profondeur plus profonde qui peut engager le pronostic vital.

La fréquence et la gravité des infections sont favorisées d'une part par des facteurs locaux (portes d'entrée à l'infection que sont les fissures, les crevasses, les dermatophytoses interdigitales, les plaies par frottement, l'ischémie chez l'artéritique) et d'autre part par des facteurs généraux (l'hyperglycémie et les perturbations des fonctions leucocytaires) (**Jean *et al.*, 2007**).

### **II.3.1. Caractéristiques des plaies diabétiques infectées**

- Absence de sensation douloureuse (neuropathie sensitive).
- Sécheresse des pieds (neuropathie autonome).
- Déformations d'orteils et des pieds (neuropathie motrice).
- Risque infectieux important (ostéite, septicémie).
- Cicatrisation retardée (**Rachel, 2014**).

### **II.3.2. Diagnostic d'infection chez les diabétiques**

Les signes habituels d'infection sont : augmentation du volume de l'exsudat, induration, érythème péri lésionnel, sensibilité locale ou douleur, chaleur locale, présence de pus, tissu friable, base de l'ulcère devient humide, jaunâtre ou grise, mauvaise odeur (**Ait Lhaj Ou Said, 2014**).

### **III. La cicatrisation**

#### **III.1. Définition**

La cicatrisation est un phénomène biologique naturel de réparation faisant intervenir une multitude de cellules, de composants inflammatoires et de médiateurs solubles qui communiquent et interagissent entre eux pour aboutir à la reconstitution et la régénération d'un tissu lésé (**Sarah, 2015**).

#### **III.2. Les types de la cicatrisation**

La cicatrisation classée en deux types selon la nature de la plaie.

##### **III.2.1. La cicatrisation primaire**

La cicatrisation primaire est la mise au contact de l'épiderme et du derme des 2 berges de la plaie. Celle-ci se produit lorsque les bords de la plaie sont nets, bien accolés et qu'il n'y a pas de perte significative de substances, ni d'infection. La guérison survient en une à deux semaines (**Hienne et al.,2008**).

##### **III.2.2. La cicatrisation secondaire**

Les bords libres de la plaie sont trop éloignés pour permettre une suture directe, en raison d'une perte de substance ou d'une infection purulente : ce type de plaie demande la formation d'un nouveaux tissus appelés tissus de granulation pour obtenir la fermeture de la plaie (**Barthelemy, 2005 ; Hienne et al.,2008**).

#### **III.3. Les acteurs de la cicatrisation**

Trois grands type d'acteurs sont impliqués dans la cicatrisation

- Les cellules (les kératinocytes, les fibroblastes, les endothéliocytes et les cellules inflammatoires).
- Les composants de la matrice extracellulaire (MEC) notamment la fibronectine, laminine et les proteoglycanes.
- Les facteurs de croissance (l'EGF, le PDGF, le TGF  $\alpha$ , le KGF et les FGF) (**Thomas, 2011**).

### **III.4. Physiologie de la cicatrisation**

La cicatrisation d'une plaie se déroule sous forme d'événements successifs organisés en cascade. Chacune de ces phases est caractérisée par des activités cellulaires (**La cicatrisation I, s.d.**).

#### **III.4.1. La phase de détersion ou inflammatoire**

Elle se produit au cours des 24 premières heures. Une blessure cutanée se traduit par la rupture de vaisseaux sanguins, ce qui déclenche le système d'hémostase primaire (**Meaume, 2005**).

Cette réaction est débutée par l'activation de l'agrégation des plaquettes pour former le clou plaquettaire qui est le premier pansement biologique sur lequel va se construire le caillot sanguin. Ce dernier est formé par la libération de substances vasoconstrictrices qui oblitèrent les vaisseaux sanguins (**Singer et Clarck, 1999**).

Cette vasoconstriction est suivie d'une vasodilatation afin de fournir une augmentation du flux sanguin vers le site lèse, permet l'afflux de diverses molécules et cellules au niveau de tissu lèse, c'est la production d'exsudat (**Meaume, 2005**).

Il s'agit d'une réaction inflammatoire à pour but de stopper le saignement, d'éliminer les divers débris tissulaires et d'assurer une défense locale contre les infections. Elle dure en général entre 2 et 4 jours (**Sarah, 2015**).

Du point de vue clinique, cette phase comporte tous les signes caractéristiques de l'inflammation : une rougeur (érythème), un gonflement (œdème), une douleur et une augmentation de la température locale (**Cardenas, 2015**).

#### **III.4.2. La phase de réparation tissulaire ou de granulation**

Encore appelée phase de bourgeonnement, elle correspond à la cicatrisation dermique.

Cette étape est orchestrée par des médiateurs chimiques libérés, aboutit à l'activation des fibroblastes présents à l'état quiescent au niveau des berges et du lit de la plaie. Ces fibroblastes activés migrent vers le foyer inflammatoire afin de reconstituer la nouvelle matrice extra-cellulaire (**Allas, 1997 ; Hatz, 1994 ; Vandenbussche, 1983**).

C'est au cours de cette phase que s'effectue l'angiogenèse. Un nouveau réseau vasculaire indifférencié va être formé. Cette phase commence en moyenne au quatrième jour et peut durer de quelques jours à trois semaines (**Teot et al., 2001**).

### **III.4.3. La phase d'épidémisation**

Cette phase correspond à la cicatrisation épidermique.

Les myofibroblastes, conduire à la fermeture de la plaie. La cicatrisation d'une plaie suturée (cicatrisation primaire) débute à cette phase.

Celle-ci peut durer des mois dans le cas de plaies largement ouvertes et très étendues (**Hienne et al.,2008** ).

### **III.4.4. La phase de remodelage**

La matrice extracellulaire va progressivement être remodelée dans les deux mois qui suivent la fermeture de la plaie. La maturation secondaire peut ensuite se poursuivre jusqu'à deux ans en fonction de l'étendue de la plaie, avec une diminution progressive du tissu de granulation. A partir du 21<sup>ème</sup> jour, la contraction de la plaie est terminée. Cependant à ce stade, la résistance de la cicatrice n'égale que 15% de celle d'une peau normale. Ce remodelage va permettre d'accroître cette résistance jusqu'à 80 voir 90% à la sixième semaine (**La cicatrisation, s.d.**).

### **III.5. Retard de la cicatrisation**

La plaie devient chronique et de nombreux facteurs locaux ou liés à l'état général du patient peuvent entraver le bon déroulement du processus de cicatrisation.

#### **III.5.1. La surinfection**

Une colonisation bactérienne excessive peut retarder la cicatrisation en entraînant une lyse cellulaire, et donc une destruction progressive de la MEC. Il est important de distinguer la surinfection d'une plaie et l'infection naturelle qu'il s'y produit des l'effraction épidermique (taux inférieur à  $10^5$  germes par gramme de tissu) (**Hienne et al.,2008 ; Rotthan-Tondeur et al.,2001**).

#### **III.5.2. Un défaut d'oxygénation et/ou de perfusion**

L'oxygène est en effet essentiel à la synthèse de collagène de bonne qualité.

Une hypoxie tissulaire peut être la conséquence d'une plaie présentant de nombreux débris nécrotiques ou fibrineux ou encore d'un hématome (**Charlotte, s.d. ; Hienne et al.,2008**).

### **III.5.3. Les carences nutritionnelles**

Les carences protéino-caloriques sont les plus importantes en termes de conséquences. Elles retardent toutes les phases de la cicatrisation et accroissent le risque de surinfection en altérant la phagocytose.

### **III.5.4. Les déficits immunitaires**

On observe une altération de la qualité de la phase inflammatoire, une mauvaise détersion de la plaie et un risque accru à la surinfection.

### **III.5.5. Les traitements médicamenteux**

Les principales classes impliquées dans les retards de cicatrisation sont les corticoïdes, les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et les immunosuppresseurs.

### **III.5.6. Les troubles de la coagulation et pathologies hématologiques**

Les déficits en facteurs de la coagulation et les thrombopénies entraînent des perturbations de la phase d'hémostase de la cicatrisation en compromettant la formation du caillot initial (**La cicatrisation, s.d.**).

### **III.5.7. L'insuffisance rénale chronique**

L'urémie provoquée par le mauvais fonctionnement rénal altère la synthèse de collagène et retarde la formation du tissu de granulation (**Hienne *et al.*,2008 ; Meaume, 2005**).

### **III.5.8. L'âge du sujet**

La cicatrisation d'une plaie chez un sujet âgé est plus longue en raison d'une diminution physiologique de la synthèse de collagène, de l'angiogenèse et de l'épithélialisation (**Charlotte, s.d.**).

### **III.5.9. Diabète**

Les patients diabétiques présentent fréquemment des retards de cicatrisation, qui peut aboutir à un cas courant, à savoir, les blessures non-curatives. Le maintien d'une glycémie normale paraît essentiel pour une cicatrisation normale.

En effet, L'hyperglycémie altère les fonctions leucocytaires (diminution de la phagocytose et du chimiotactisme) et accroît le risque infectieux.

Par ailleurs, L'altération des fibres du système neurovégétatif chez le diabétique entraîne des troubles de la microcirculation responsables d'une hypoxie cutanée.

Ces différents facteurs font du patient diabétique un sujet à risque concernant les plaies chroniques, extrêmement difficiles à cicatrifier, se compliquant souvent de phénomènes infectieux qui peuvent entraîner secondairement des amputations (mal perforant plantaire diabétique) (**La cicatrisation, s.d.**).

*Partie*  
*expérimentale*

## **I. Matériels et méthodes**

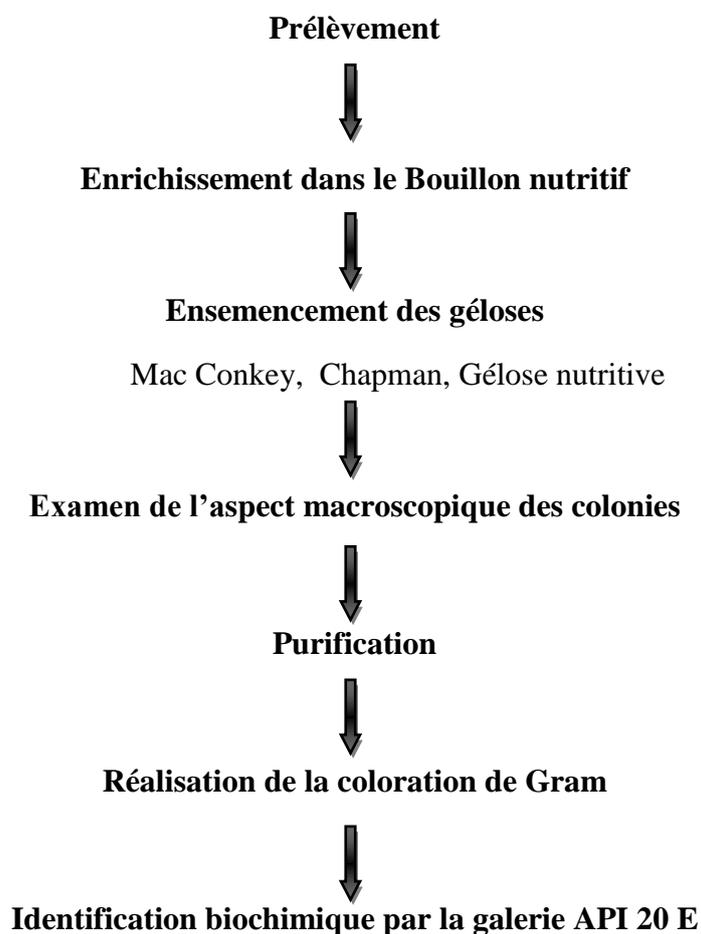
### **I.1. Objectif**

Notre étude vise à établir le profil bactériologique de l'infection des plaies chez les diabétiques par isolement et identification biochimique des bactéries pathogènes.

### **I.2. Lieu et période d'étude**

L'intégralité de ce travail a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie du centre universitaire Belhadj Bouchaib d'Aïn-Témouchent, durant une période d'un mois et demi allant de 20 mars jusqu'à le 5 mai 2019.

### **I.3. Plan d'étude**



**Figure 03:** Schéma de la démarche suivie au cours de notre l'étude.

## **I.4. Méthodes**

### **I.4.1. Phase de prélèvement**

#### **1.4.1.1. Lieux de prélèvement**

Dix (10) prélèvements, ont été réalisés sur des plaies infectées des pieds diabétiques (la pathologie rencontrée) des malades admis pour hospitalisation au service de médecine interne et chirurgie général du Centre Hospitalier Dr Bendzergheb et Ahmed madaghri d'Ain Temouchent.

**Tableau 01:** présentation des cas étudiés.

<b>Patient</b>	<b>Sexe</b>	<b>Age</b>	<b>Type de pathologie</b>
P 1	H	49 ans	Pied diabétique
P 2	H	74 ans	Pied diabétique
P 3	H	53 ans	Pied diabétique
P 4	H	60 ans	Pied diabétique
P 5	H	66 ans	Pied diabétique
P 6	H	50 ans	Pied diabétique
P 7	F	68 ans	Pied diabétique
P 8	H	70 ans	Pied diabétique
P 9	H	60 ans	Pied diabétique
P 10	H	62 ans	Pied diabétique

#### **1.4.1.2. Méthodes de prélèvement**

##### **✓ préparation de la plaie**

Avant tout prélèvement, la plaie doit être préparée :

- Un débridement au moyen d'une curette ou d'un scalpel stériles afin d'éliminer les parties molles nécrosées, les tissus dévitalisés et contaminés et les tissus fibreux.
- un nettoyage avec une compresse stérile imbibé de sérum physiologique stérile afin d'éliminer la flore bactérienne colonisante (**Lipsky, 2004**).

### ✓ L'écouvillonnage de la plaie

L'écouvillonnage consiste à passer l'écouvillon stérile sur une surface de 1 cm<sup>2</sup> de la plaie, dans un mouvement en Z combiné à une rotation. Ce prélèvement doit être pratiqué lors de plaies superficielles (Calhoun *et al.*, 2002 ; Dow G, 2003).

Replacer délicatement l'écouvillon dans un tube à vis stériles pré-remplies par un bouillon nutritif d'enrichissement (BN) pour enrichir immédiatement les prélèvements réalisés et assurer un transport adéquat des échantillons (Denis, 2011). Les prélèvements sont ensuite aussitôt acheminés au laboratoire de microbiologie et incubés à 37°C pendant 24h.

### I.4.2. Ensemencement et isolement

La méthode d'ensemencement utilisée est la méthode d'ensemencement en quadrant. Ce mode d'ensemencement permet d'isoler les différentes bactéries contenues dans un mélange. Chaque culture fraîche, obtenue sur BN a été ensemencé sur deux milieux sélectifs Chapman et Mac Conkey.

- **Le milieu de Mac Conkey:** permet d'isoler les bactéries à Gram négatif, grâce à l'action des deux inhibiteurs le cristal violet et les sels biliaries (Biokar, 2009).
- **Le milieu de Chapman :** est un milieu sélectif, surtout, permettant la croissance des germes halophiles, La forte concentration en chlorure de sodium inhibe la croissance de la plupart des bactéries autres que les staphylocoques (Bio-Rad ,2007).

Après l'incubation des milieux ensemencés pendant 24h à 48h à 37°C, nous procédons à la purification bactérienne par repiquage successif sur le même milieu afin d'obtenir des souches pure à identifier. La composition et le mode de préparation des milieux qui ont servi à notre étude sont rapportés en détail dans l'Annexe 02.

### I.4.3. Identification

#### I.4.3.1. Aspect macroscopique

L'observation des colonies est une description directe faite sur boîtes d'isolement, permettant au moins une distinction des souches les unes des autres à fin de les purifier. **Annexe 03**

#### I.4.3.2. Aspect microscopique

C'est une étape clé dans la démarche diagnostique des infections bactériennes.

**a) Examen à l'état frais**

Une méthode rapide consiste à observer entre lame et lamelle une suspension bactérienne à l'objectif 40 (Denis *et al.*, 2007).

L'observation microscopique des bactéries à l'état frais permet de déterminer leur mobilité. La taille, la forme et le type de regroupement des cellules bactériennes (Bousseboua, 2002).

**b) Coloration de Gram**

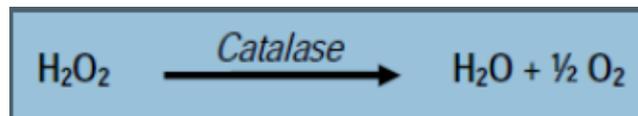
La coloration de Gram pour vérifier la pureté des isolats et s'orienter dans le diagnostic.

On commence par préparer des suspensions bactériennes dans de l'eau stérile, puis on réalise un étalement (réaliser un frottis) sur une lame porte objet en verre qu'il faut sécher d'abord à l'air ensuite à la chaleur du bec bunsen. Sur le frottis fixé on applique la coloration de gram (violet de gentiane, Ethanol, fuchsine) **Annexe 04**, ce frottis une fois séché, est lu en microscope optique, objectif x100 à l'immersion (Soukaina, 2013)

**I.4.3.3. Tests physiologique**

**a) Test catalase**

Le test catalase est une enzyme catalysant la dismutation de l'eau oxygénée (peroxyde d'hydrogène) selon la réaction suivante :



La recherche de catalase est utilisée systématiquement pour la différenciation des staphylocoques dotés d'un catalase positif et les entérobactéries dotés d'un catalase négatif.

• **Technique**

Pour chaque souche, une goutte d'eau oxygénée est placée sur une lame stérile, sur laquelle quelques colonies sont réparties. Les réactions positives se manifestent par une effervescence traduit la décomposition de l'eau oxygénée sous l'action de la catalase (Joffin & Layeral, 2005).

### b) Recherche de la coagulase

La coagulase ou staphylocoagulase est une enzyme capable de faire coaguler le plasma sanguin. La mise en évidence de la coagulase libre permet la différenciation des espèces du genre *Staphylococcus*.

- **Technique**

Mélanger dans un tube à hémolyse stérile 1 mL de plasma humain frais et 1 mL de la culture fraîche en bouillon nutritif des souches à étudier. Porter le mélange à l'étuve à 37°C et incubé pendant 24h (Joffin & Lateral, 2005).

#### I.4.3.4. Identification biochimique par la galerie API 20 E

Le système API (Appareillage et Procédés d'Identification) 20 E (Entérobactéries) est une version miniaturisée et standardisée des techniques biochimiques conventionnelles pour l'identification des bactéries.

La galerie API 20 E comporte 20 microtubes contenant des substances déshydratées. Lorsqu'une suspension bactérienne de densité convenable est répartie dans ces différents microtubes, les métabolites produits durant la période d'incubation se traduisent par des virages des couleurs spontanés ou révélés par addition de réactifs.

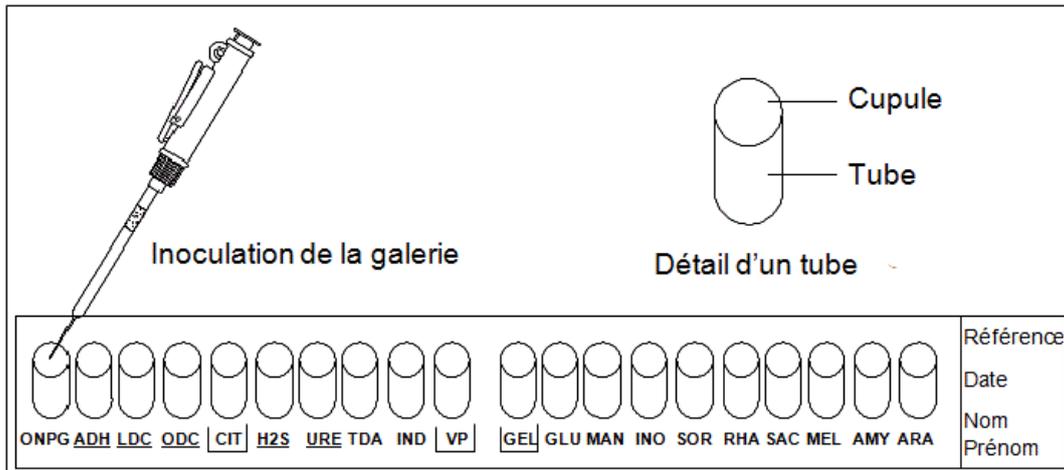
- **Techniques**

- ✓ **Préparation de l'inoculum :**

Ouvrir un tube à vis stérile contenant 5 ml d'eau distillé stérile. À l'aide d'une pipette prélever 1 à 4 colonies de morphologie identique de la gélose MacConkey. Utiliser préférentiellement des cultures jeunes (18-24 heures). L'inoculum servira au remplissage des microtubes de la galerie API 20E.

- ✓ **Inoculation de la galerie :**

Les alvéoles du support de la galerie doivent être remplis d'eau pour former une chambre humide, dans laquelle notre galerie est déposée. Le remplissage des microtubes suit des règles bien précises. **Annexe 05**



**Figure 04 :** Remplissage de la galerie API 20E (DOLISI, 2001).

✓ **Incubation de la galerie**

La galerie est incubée à une température de 37°C pendant 24 à 48 heures.

✓ **Lecture de la galerie :**

Après addition des réactifs nécessaires à la révélation de différents tests (TDA, VP et Kovacs). La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de Lecture. Les tableaux d'interprétation de la galerie API 20E sont illustrés dans l'**annexe 06**.

✓ **Détermination du profil numérique :**

Sur la fiche des résultats **annexes 07**, les tests sont séparés par groupe de trois et une valeur 1, 2 ou 4 est indiquée pour chacun. En additionnant à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondant à des réactions positives, on obtient 7 chiffres qui constituent le profil numérique et l'identification est réalisée à l'aide du Catalogue Analytique ou du logiciel d'identification (**Bio Merieux, 2002**).

## II. Résultat et discussion

### II.1. Résultats des prélèvements

Nous avons réalisé une étude bactériologique sur les dix (10) échantillons prélevés à partir des plaies infectées chez des patients diabétiques au niveau des hôpitaux Dr. Benzerdjeb et Ahmed Medaghri. La pathologie la plus rencontrée dans les services de chirurgie générale et médecine interne des deux hôpitaux était le pied diabétique. La majorité de nos patients était de sexe masculin, soit 90% contre 10% de sexe féminin avec un sexe ratio de 9. L'âge moyen de nos patients était de 61 ans (de 49 à 74 ans).

**Tableau 02:** Répartition des souches bactériennes sur les milieux de culture selon les prélèvements.

Numéro de prélèvement	Souches sur (Mac conkey)	Souches sur (Chapman)
01	2	1
02	2	1
03	1	0
04	1	1
05	1	1
06	1	1
07	1	1
08	1	1
09	1	1
10	1	1
Total	12	9

Le tableau ci-dessus représente les résultats de la mise en culture des dix (10) prélèvements dans une température de 37°C sur :

- Milieux Mac conkey pendant une durée de 24 h : la totalité des cultures était positives ce qui représente 10/10 (nombre des échantillons), avec deux types de colonies enregistrés sur deux boites de culture (01et 02).
- Milieux Chapman pendant 48 h d'incubation : nous avons obtenu 9 résultats positifs sur dix cultures (9/10).
- D'après les résultats obtenus sur les deux milieux on peut constater que neuf de nos prélèvements (90 %) sont poly-bactériens contre un seul prélèvement (prélèvement numéro 03) mono-bactérien. la flore des plaies s'est avérée majoritairement poly-microbienne.

### **II.2. Identification morphologique des souches isolée**

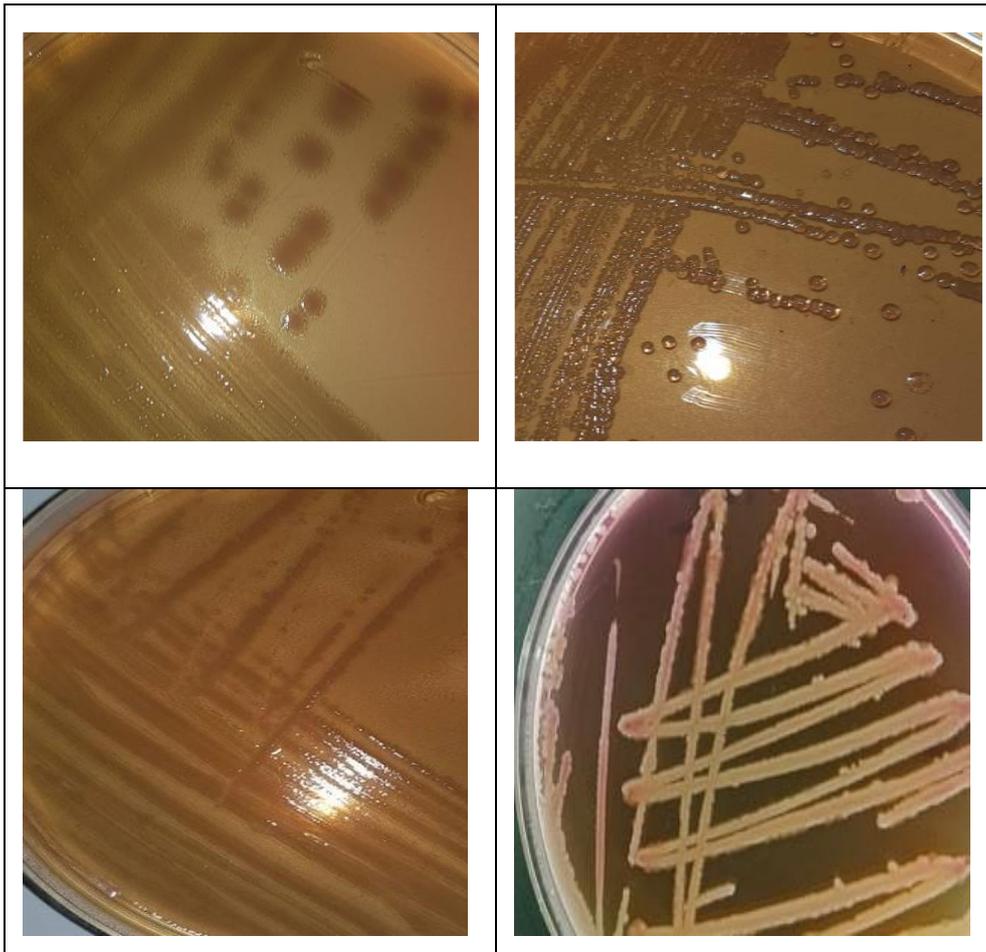
#### **II.2.1. Etude macroscopique**

La première étape du diagnostic bactérien et du biotypage d'une souche est la description macroscopique des colonies isolées (parfois cette seule étude permet de connaître le germe isolé car les colonies sont typiques).

##### **✓ Sur milieux Mac conkey**

L'observation macroscopique a révélé plusieurs types de colonies:

- Des petites colonies mates ou bien opaques, lisses, Bombés ou légèrement bombées avec un bord régulier et parfois irrégulier (**Figure 05**).



**Figure 05:** Aspect morphologique des colonies d'entérobactéries sur le milieu Mac-conkey.

✓ **Sur milieu Chapman**

Les colonies sont arrondies, lisses, à bords régulier atteignant 1 à 2 mm de diamètre et présentant l'aspect macroscopique caractéristiques du genre *Staphylococcus*.

Les colonies de *Staphylococcus* sont apparues :

- Jaunes sur fond jaune ou entourées d'un halo jaune dans le cas où le mannitol est fermenté (*Staphylocoque doré* ou *Staphylococcus aureus*). (**Figure 07**)
- Blanches sur fond rouge (*Staphylocoque blanc*). (**Figure 06**)



**Figure 06:** Aspect macroscopique des souches de *Staphylocoque blanc*.



**Figure 07:** Aspect macroscopique des souches de *Staphylocoque doré*.

## **II.2.2. Etude microscopique**

### **II.2.2.1. Examen à l'état frais**

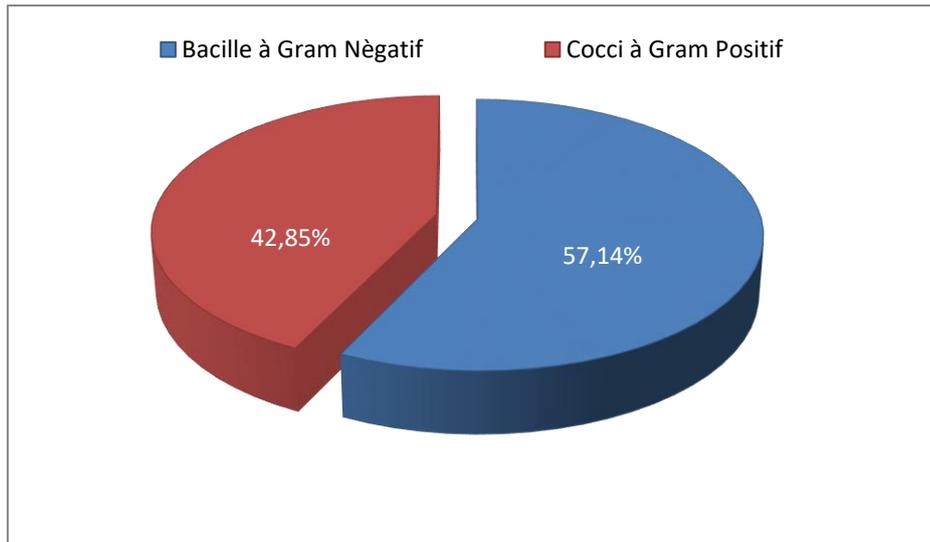
L'examen à l'état frais a montré la présence :

- De nombreux bacilles immobiles.
- Des bacilles mobiles avec un mouvement rapide.
- Des coques mobiles avec un mouvement lent.

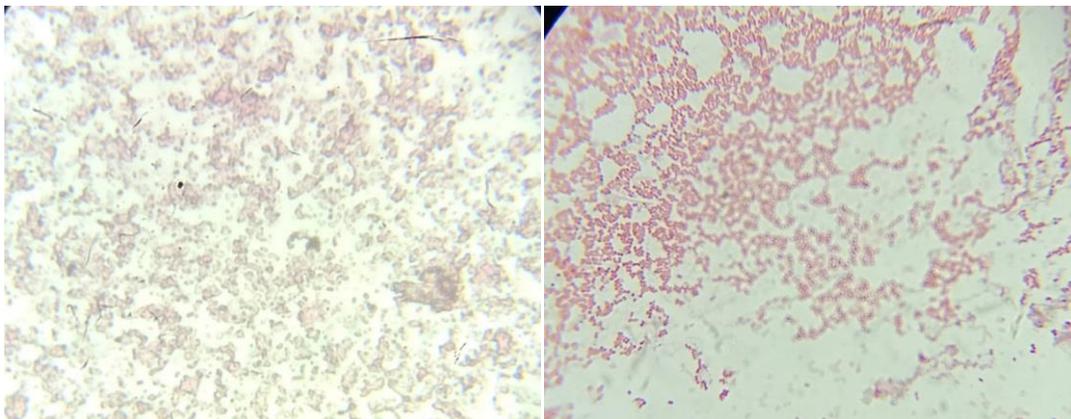
### **II.2.2.2. Coloration de Gram**

La coloration de Gram des colonies isolées à partir des milieux Chapman et Mac conkey, nous a fournis des résultats suivants :

- Des cocci à Gram positif 42, 85%.
- Des fins bacilles à Gram négatif 57,14%.



**Figure 08:** Répartition des bactéries selon la coloration de Gram.



**Cocci à Gram positif**

**Bacilles à gram négatif**

**Figure 09:** Observation microscopique après coloration de Gram (Grossissement x100).

### **II.3. Identification biochimique**

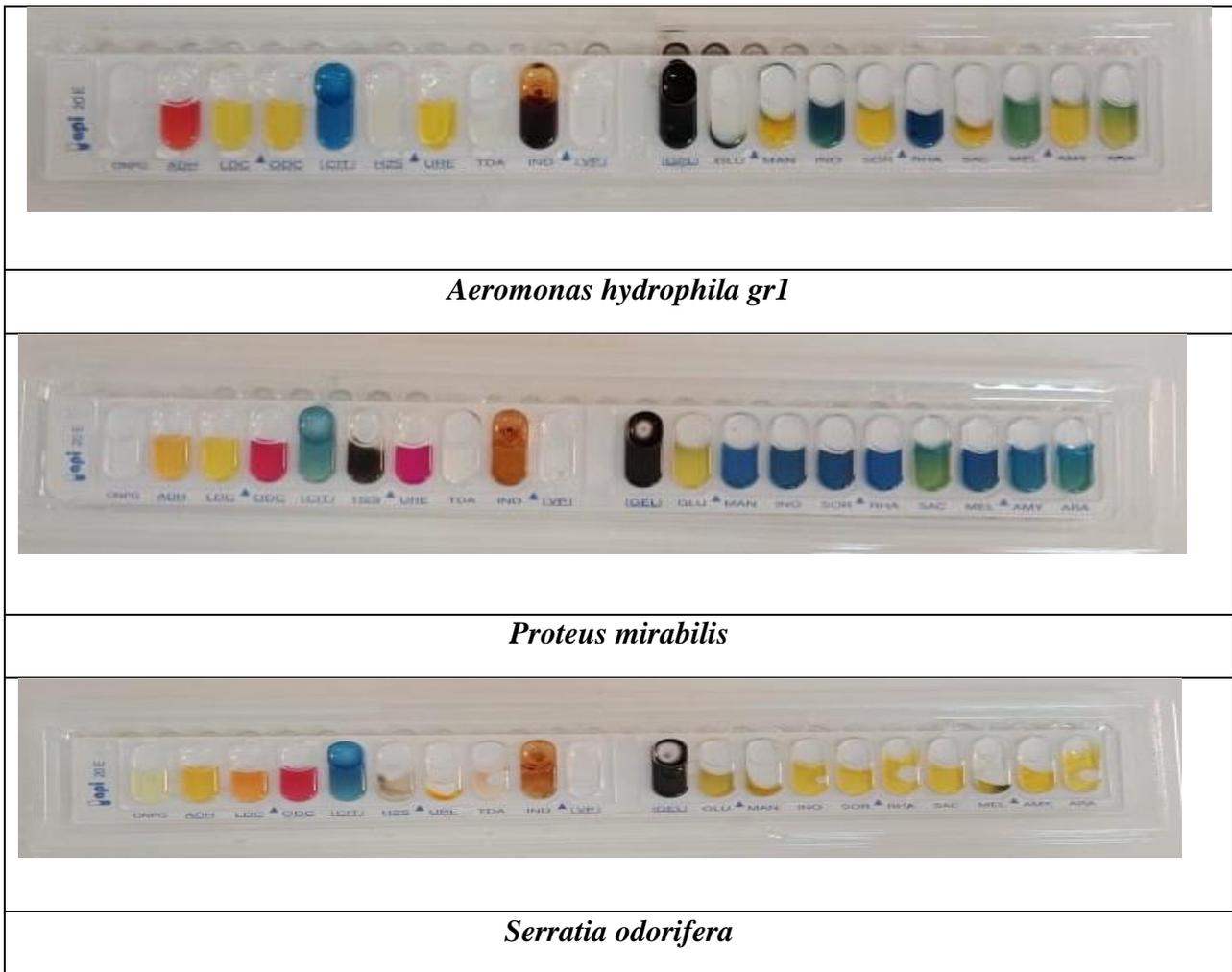
#### **II.3.1. Identification des Gram négatifs**

Les résultats des tests biochimique de la galerie API 20 E ont révèlè la présence de 9 souches, sont présentés dans le tableau.

**Tableau 03:** Résultats d'identification des Gram négatifs.

Numéro de prélèvements	Les souches Gram-
01	<i>Klebsiella oxycota</i> <i>Serratia fonticola</i>
02	<i>Serratia odorifera</i> <i>Klebsiella pneumonia</i>
03	<i>Aeromonas hydrophila gr1</i>
04	<i>Providencia alcalifaciens rustigiani</i>
05	<i>Proteus mirabilis</i>
06	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
07	<i>Acinetobacter baumannii</i>
08	<i>Klebsiella pneumonia</i>
09	<i>Klebsiella pneumonia</i>
10	<i>Klebsiella pneumonia</i>

Selon le tableau 03, les résultats bactériologiques obtenus à partir de ces prélèvements montrent que *Klebsiella pneumonia* a été le germe le plus abondant (dans 4prélèvements), suivi d'une faible présence de *Serratia fonticola*, *Klebsiella oxycota*, *Serratia odorifera*, *Aeromona shydrophila gr1.*, *Providencia alcalifaciens rustigiani*, *Proteus mirabilis*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*.



**Figure 10:** résultats de l'identification biochimique par la galerie API20E.

### **II.3.2. Identification des Gram positif**

#### **II.3.2.1. Test de Catalase**

Toutes les bactéries testées étaient catalase positif, le résultat se traduit par le dégagement des bulles de gaz (production d'O<sub>2</sub> provenant de la dégradation d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).

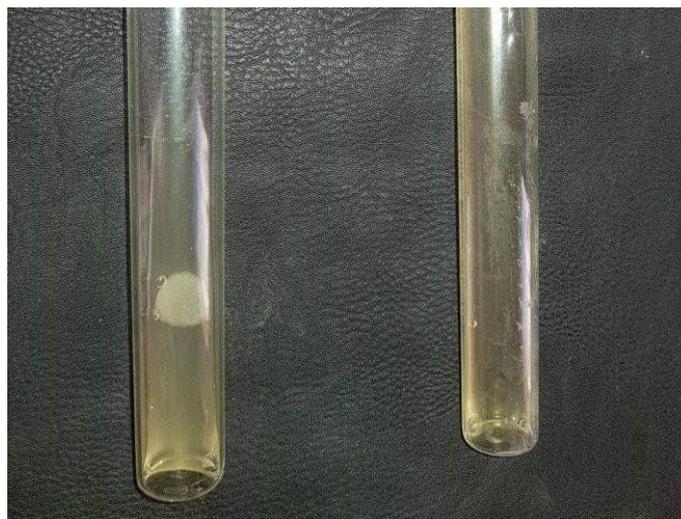


**Figure 11:** Résultats positif du test de catalase (effervescence).

### **II.3.2.1. Test de coagulase**

Parmi les 9 souches isolées de staphylocoques nous comptons 7réactions de coagulations positives issues des prélèvements (01, 04, 05, 07, 08,09 et10). Le résultat positif se traduit par la formation d'un caillot qui est le plasma coagulé (**Figure 12**).

Le test de la coagulase en tube est un moyen valable pour différencier entre les *Staphylocoques* à coagulase positive principalement *S. aureus*, et le *Sstaphylocoques* à coagulase négative (**Sperber & Tatini, 1975**).



**Coagulase (+)**

**Coagulase (-)**

**Figure 12:** résultats du test de coagulase.

Les résultats de l'identification des Gram positif ont révélé qu'au total de 9 souches isolés appartenant au genre *Staphylococcus*, 7 souches étaient coagulase positif ce qui représentent les *Staphylococcus aureus* et 2 souches étaient coagulase négatif appartenant aux groupes des SCN (Staphylocoque à coagulase négatif).

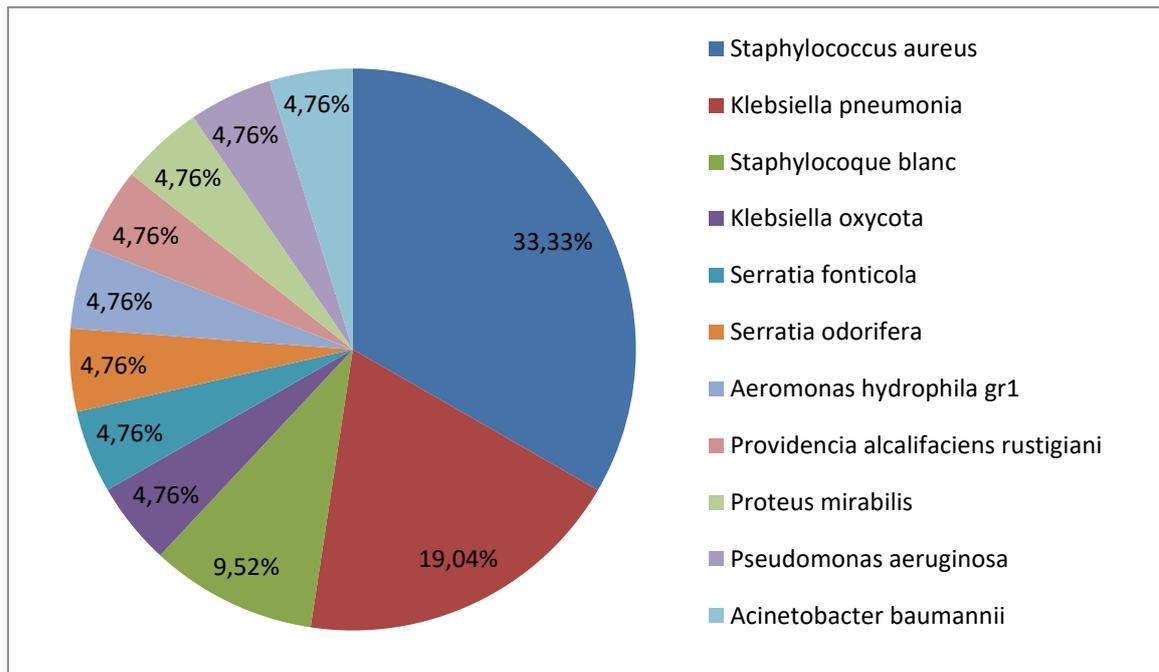
**II.4. Répartition des souches bactériennes identifiées en fonction des prélèvements du pied diabétique**

Le tableau ci-dessous montre les souches bactériennes dans chaque prélèvement. L'infection du pied chez le diabétique est souvent poly-microbienne inclut les bacilles Gram+ et les cocci Gram+. Les germes les plus observés étaient les *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumonia*, Staphylocoque blanc. *Serratia fonticola*, *Klebsiella oxycota*, *Serratia odorifera*, *Aeromonas hydrophila gr1*. *Providencia alcalifaciens rustigiani*, *Proteus mirabilis*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*.

**Tableau 04:** Répartition des souches bactériennes dans chaque prélèvement.

Numéro de prélèvements	Les souches identifiées
01	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Klebsiella oxycota</i></li> <li>- <i>Serratia fonticola</i></li> <li>- <i>Staphylococcus aureus</i></li> </ul>
02	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Serratia odorifera</i></li> <li>- <i>Klebsiella pneumonia</i></li> <li>- Staphylocoque blanc</li> </ul>
03	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Aeromonas hydrophila gr1</i></li> </ul>
04	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Providencia alcalifaciens rustigiani</i></li> <li>- <i>Staphylococcus aureus</i></li> </ul>
05	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Proteus mirabilis</i></li> <li>- <i>Staphylococcus aureus</i></li> </ul>
06	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Pseudomonas aeruginosa</i></li> <li>- Staphylocoque blanc</li> </ul>
07	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Acinetobacter baumannii</i></li> <li>- <i>Staphylococcus aureus</i></li> </ul>

<b>08</b>	- <i>Klebsiella pneumonia</i> - <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>09</b>	- <i>Klebsiella pneumonia</i> - <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>10</b>	- <i>Klebsiella pneumonia</i> - <i>Staphylococcus aureus</i>



**Figure 13:** Répartition en pourcentage des souches identifiées selon les prélèvements.

La répartition des souches pathogènes prélevées à partir des plaies infectées du pied diabétique était comme suit : *Staphylococcus aureus* à un pourcentage de 33,33% des germes isolés, suivie des souches de *klebsiella pneumonia* à 19,04% ; 9,52% de staphulocoque à coagulase négative ; et enfin 4,76% de chaque espèce : *Serratia fonticola*, *Klebsiella oxycota*, *Serratia odorifera*, *Aeromonas hydrophila gr1.*, *Providencia alcalifaciens rustigiani*, *Proteus mirabilis*, *Acinetobacte rbaumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*.

### III. Discussion

Les plaies infectées rencontrées dans notre étude étaient le pied diabétique, cette pathologie fréquente et plurifactorielle (**Darbellay et al., 2011**), constitue un problème majeur de santé publique par son poids économique et sa conséquence grave sur les patients diabétiques qui en sont atteints (**Ashford et al., 2000**).

#### III.1. les patients atteints

Dans notre étude l'âge moyen des dix (10) patients était de 61 ans avec un sex-ratio de 9, cette catégorie d'âge était dominante chez 57,54% des cas d'une étude faite par Yahia-Berouiquet en 2008 sur les plaies du pied chez les diabétiques au niveau de CHU de Tlemcen et selon Mezhoud et Khalfallah, au niveau de l'hôpital militaire régional universitaire de Constantine (HMRUC) en 2018, l'âge moyen de 146 patients hospitalisé était de 65 ans (**Yahia-Berouiquet, 2008 ; Mezhoud et Khalfallah, 2018**).

Sur le total des 10 patients, l'infection du pied diabétique était plus fréquente chez le sexe masculin avec un pourcentage de 90%, par rapport au sexe féminin 10%. Ce qui concorde avec l'étude réalisée par **Faraoun et al., 2013** au niveau du CHU d'Oran où le sexe masculin était prédominant de l'atteinte du pied diabétique avec 57.60% et 56.55% de l'étude de **Yahia-Berouiquet (2008)** réalisée au niveau du service de médecine interne au CHU de Tlemcen.

Cette prédominance masculine dans la population étudiée est confirmée par plusieurs auteurs. Le sex-ratio était de 4,3 dans l'étude de Zemmouri et al au maroc en 2015 et de 6,8 dans une étude faite par Mendes et al au Portugal en 2012 (**Zemmouri et al., 2015 ; Mendes et al., 2012**).

Le pied diabétique peut s'expliquer par une mauvaise observance thérapeutique par nos patients. La mauvaise observance thérapeutique généralement reconnue chez les hommes expliquerait cette prédominance masculine. Les raisons de cette mauvaise observance sont multiples : la non acceptation du diabète, la tradithérapie, les croyances et surtout la pauvreté (**Quassimi, 2015**).

Le tabagisme masculin prédominant est aussi un facteur de risque de développer des complications chez les personnes diabétiques telles que le pied diabétique, Diminution de l'oxygénation de la plaie et anomalies de la coagulation dans les petits vaisseaux sanguins

### III.2. L'étude bactériologique

Dans Notre étude réservé d'établir le profil bactériologique de l'infection des plaies chez les diabétiques, nous avons opté pour la technique de prélèvement par écouvillonnage adapté aux infections superficielles et moyennement profondes des plaies des malades inclus dans notre étude (**Jean et al., 2007**).

Sur les 10 prélèvements réalisés 90% étaient poly-bactériens contre 10% mono-bactériens. Ce résultat est confirmé par des études similaires effectuées par Diam et al en 2007, Ramkant et al en 2010 dont les cultures poly-microbiennes étaient prépondérantes avec un pourcentage de 83.3% et 66% respectivement (**Ramkant et al.,2010 ; Diane et al.,2007**).

Le microbiote des plaies chroniques se constitue à partir de la flore cutanée, de l'environnement et des flores commensales des cavités avoisinant la lésion. Cette flore est donc mixte cela peut expliquer les plaies poly-microbiennes.

Parmi les 21 germes identifiés dans notre étude, les bacilles à Gram négatif prédominent avec 57,14% contre 42,85% de cocci à Gram positif. Ces résultat sont été comparés avec ceux de plusieurs études faites sur l'infection de pied diabétique; c'est le cas des études effectuées par Tiwari et al en Inde du nord (2012) et Shankar EM au sud de l'Inde (2005) dont la répartition en pourcentage étaient de 57.6% de bactérie Gram négatif et 42.3% de bactérie Gram positif, ce qui reflètent une approximation aux résultats de notre étude (**Tiwari et al.,2012 ;Shankar et al .,2005**). Par contre La littérature médicale et l'étude de Sharma et al et en 2006 sur l'infection du pied diabétiques rapporte que les bactéries à Gram positif ont été isolées plus couramment que les bactéries à Gram négatif chez les diabétiques (**Richard et al.,2011 ;Sharma et al.,2006**).

Les résultats de l'identification biochimique des bactéries ont révélé une diversité des espèces isolées à partir des pieds diabétiques. Nous avons consigné une prédominance des souches *Staphylococcus aureus* avec un pourcentage de 33,33%, suivie de 19,04% de *klebsiella pneumonia*, 9,52% des staphylocoque à coagulase négative et 4,76% pour chaque une des espèces suivantes : *Serratia fonticola*, *Klebsiella oxycota*, *Serratia odorifera*, *Aeromona shydrophila gr1.*, *Providencia alcalifaciens rustigiani*, *Proteus mirabilis*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*. Cela est confirmé par l'étude effectuée par Akhi et al en 2015 en Iran qui montre que la bactérie aérobie prédominante isolée des pieds diabétiques

était *Staphylococcus aureus* à 28% ; suivie de la famille des enterobacteriaceae à 24% (**Akhi et al., 2015**).

Notre résultat est également identique à celui de Saseedharan et al (2018) en Inde qui indique que la bactérie la plus fréquemment isolée était *Staphylococcus aureus* (**Saseedharn et al., 2018**).

Nous avons constaté une absence totale des anaérobies et des mycoses dans notre étude, ceci est peut être justifié par la nature des lésions superficielles des atteintes de pied diabétique inclus dans notre étude, ces germes ont été souvent isolés lors des infections profondes avec aspiration à l'aiguille fine ou par biopsie tissulaire (**Gerdning, 1995**).

# *Conclusion*

Les plaies infectées présentent un problème clinique important et souvent difficile chez les personnes diabétiques en raison de leurs évolutions vers de nombreuses complications sévères. Les lésions du pied chez les diabétiques, restent une complication très fréquente et grave par sa mortalité, sa morbidité et le handicap qu'elles occasionnent.

Dans l'objectif d'étudier les différentes bactéries pathogènes responsables d'infecter les plaies chez les diabétiques, nous avons réalisé cette étude qui s'est déroulée dans une période de un mois et demi au laboratoire de microbiologie du centre universitaire Belhadj Bouchaib d'Aïn-Témouchent sur dix prélèvements à partir des plaies infectées chez des personnes présentant la symptomatologie du pied diabétique au niveau de l'Etablissement Hospitalier Dr Bendzergé et l'hôpital Ahmed madaghri d'Ain Temouchent.

Les résultats de l'étude bactériologique sont comme suit :

Staphylococcus aureus a présenté 33,33% des germes isolés, suivie des souches de klebsiella pneumonia qui a présenté 19,04% ; 9,52% de staphylocoque à coagulase négative ; et enfin 4,76% pour chaque espèce : Serratia fonticola, Klebsiella oxycota, Serratia odorifera, Aeromonas hydrophila gr1, Providencia alcalifaciens rustigiani, Proteus mirabilis, Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter baumannii.

A la lumière de nos résultats nous pouvons conclure que l'atteinte infectieuse du pied diabétique est polybactérienne dans la majorité des cas. Cette infection est prédominée par les *staphylococcus* suivie par les entérobactéries.

# *Recommendations*

Notre étude évidemment reste préliminaire et elle doit être élargie sur plusieurs axes. A l'avenir, il serait intéressant d'approfondir nos recherches par l'introduction d'un nombre plus élargi de malades, et mettre en place d'autres procédés de prélèvement, d'enrichissement sélective et de mise en culture pour la recherche de bactéries anaérobies strictes à fin de comprendre la circulation des souches.

Aussi étudier l'antibiothérapie des infections et réaliser l'antibiogramme puis déterminer l'antibiorésistance des bactéries pathogènes en cas d'échec thérapeutique.

Ces recommandations ont comme buts essentiels de :

- Prévenir et réduire la survenue des lésions et particulièrement des amputations.
- Optimiser le temps de cicatrisation
- Réduire la récurrence des lésions

➤ **Aux patients diabétiques**

La lutte contre ce fardeau repose sur l'éducation des patients:

- Contrôle et surveillance visuels réguliers (par soi-même, un proche ou un spécialiste) de l'état des pieds, et consulter le plus tôt possible un médecin dès l'apparition d'une lésion au niveau du pied.
- Hygiène des pieds, des orteils et des ongles.
- Soins et traitement adaptés à la moindre blessure ou anomalie.
- En cas de pied infecté, il faut retrouver un diabète équilibré, arrêter de fumer (car le tabac a des effets sur la circulation sanguine), éviter les facteurs de risque, etc.
- Eviter de marcher pieds nus et faire une attention particulière au choix des chaussures.
- Exercer des activités physiques afin de promouvoir un mode de vie sain.

➤ **Au public**

Faire la glycémie au moins une fois par an afin d'éviter un diagnostic tardif du diabète et ses complications.

*Références  
bibliographiques*

### A

- **AbdelkbirKh. (2014).** Les marqueurs biologiques des complications du diabète sucré. Mémoire de magister en physiologie cellulaire et moléculaire. Département de biologie animale université Constantine, Algerie.p.24-28.
- **Ait Lhaj Ou Said Z. (2014).** Prise en charge en milieu d'urgence du pied diabétique [En ligne]. Thèse de doctorat en médecine. Université de Médecine et de Pharmacie Marrakech.p.2-38.
- **Allas, S. (1997).** Effets et mécanismes d'actions d'extraits plaquettaires de porc sur la cicatrisation cutanée par première et seconde intention. Thèse d'obtention du grade de Philosophiae Doctor en sciences biomédicales, Montréal 1997, 141P.
- **Ashford RL, MC Gee P., Kinmond K.** Perception of quality of life by patients with diabetic foot ulcers. *The diabetic foot* **2000**, 3 : 150-155.
- **Akhi MT, Ghotaslou R, Asgharzadeh M, Varshochi M, Pirzadeh T, Memar MY, ZahediBialvaei A, SeifiYarijanSofla H, Alizadeh N. (2015).** Etiologie bactérienne et modèle de susceptibilité aux antibiotiques des infections du pied diabétique à Tabriz, Iran.GMSHyg Infect Control [Pub med].

### B

- **Blickle J.F.** Chapitre 17 - Diabète. *Nutrition Clinique Pratique* (2ème édition) ; **2014** pp189-206.
- **Battu V, Brischoux S.** Les plaies: définitions et étiologie. *Actual Pharm.* **2012**;51(518):14–9.
- **Barthelemy S.** La pratique des soins a l'officine. *Actualités pharmaceutiques*, **2005**, n°442, p.16-20.
- **Biokar. (2009).**Gélose de Mac Conkey. [www.solabia.com](http://www.solabia.com).
- **Bio-Rad. (2007)** Chapman - mannitol sait agar. [www.afnor-validation.org](http://www.afnor-validation.org).
- **Bousseboua H., 2002.** Techniques d'étude des bactéries. Dans *Microbiologie générale*.
- **Bio Merieux S.A. 2002.**API 20 E Système d'identification des entérobactéries France.

### C

- **Chidiac C, Bru J-P, Choutet P, et al.** Recommandations pour la pratique clinique Prise en charge du pied diabétique infecté. *Médecine et maladies infectieuses*. **2007**;37:1-13.
- **Centre des medias.** OMS. avril **2016**.
- **Chakib M.** Prévalence du diabète en Algérie : la valse des chiffres. *Santé-Mag* ; **2011** ; 1:31.
- **Cardenas Jesus.** (01 décembre **2015**). Plaies : les phases de la cicatrisation normale.
- **Charlotte F.** *Histologie et mécanismes de la cicatrisation..*  
<http://www.anmsr.asso.fr/anmsr00/36Cica/cicachar.html>
- **Calhoun JH, Overgaard KA, Stevens CM, Dowling JP, Mader JT,** Diabetic foot ulcers and infections: current concepts, *Adv. Skin Wound Care*, **2002**, 15, 31-42.

### D

- **Durand AC. (2012).** La sixième complication du diabète. Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire. [En ligne] Préparée à l'UFRd'odontologie de BREST.
- **Desmouliere A., Bonte F., Couquet Y., Rigal M.L.** Le miel, quel intérêt en cicatrisation? *Actualités Pharmaceutiques*, **2013**, 52 (531), pp.17-35.
- **DOW G.,** Bacterial swabs and the chronic wound: when, how, and what do they mean?, *Ostomy Wound Manage*, **2003**,49, 8-13.
- **Denis F. Bactériologie médicale (2011)** : technique usuelles Elsevier Masson, **2011** :430-524.
- **Denis F, Ploy M, Martin C, Bingen E, Quentin R,** Bactériologie médicale Techniques usuelles, Edi III : Masson ; **2007** page 20.
- **Darbellay P .,Uckay I.,Dominguez D.,Mugnai D.,Filtri L.,Lew D &Assal M.2011.** Traitement du pied diabétique infecté : une approche multidisciplinaire par excellence, *Revue Médicale Suisse* .[www.revmed.ch](http://www.revmed.ch).pp 1.
- **Diane M, Ellie J. Goldstein C, Vreni C, Clin J, Benjamin A. Lipsky A, Abrams A (2007).** Bactériology of moderate-to-sever diabetic foot infections and in vitro activity of antimicrobial agents microbial.2007, 45(9):28, 19.doi:10.1128/jcm.00551.07.

### E

- **Echinard C, Latarjet J.** Les brûlures. Paris: Masson; **1993**.
- **Ewma.** L'identification des critères d'infection des plaies. [Document électronique]. Londres, **2006**. Disponible sur:[http://www.publicare.ch/m/mandanten/130/download/French\\_Wundinfektion\\_fina1.pdf](http://www.publicare.ch/m/mandanten/130/download/French_Wundinfektion_fina1.pdf)

### F

- **Fédération international de diabète. (2005).** Clinical Guidelines Task Force. Global guideline for type 2 diabetes. Brussels.

### G

- **Geiss LS, Wang J, Cheng YJ, Thompson TJ, Barker L, Li Y, et al.** Prevalence and Incidence Trends for Diagnosed Diabetes Among Adults Aged 20 to 79 Years, United States, 1980-2012. JAMA. 24 sept **2014**; 312(12):1218-26.
- **Gerding D. 1995.** Foot infections in diabetic patients: the role of anaerobes. Clin Infect Dis;20:S283-8.

### H

- **HIENNE S. et al.** Les pansements des plaies. Paris, Pharmathemes Edition, **2008**.
- **Hatz, RA, Niedner, N., Vanscheidt, W., Westerhof, W. (1994).** Wound healing and wound management- a guide for private practice. Springer Verlag, Berlin, 113p.

### I

- **INVS.** [invs.sante.fr/surveillance/diabete/generalites.htm#ref](http://invs.sante.fr/surveillance/diabete/generalites.htm#ref). Invs.sante.fr. [En ligne] <http://invs.sante.fr>.
- **International working group on the diabetic foot.** International consensus on the diabetic foot and practical guidelines on the management and prevention of the diabetic foot. Noordwijkerhout: International working group on the diabetic foot; **2007**.

### J

- **Jean-Pierre Wainsten. (2009).** Larousse médical (5e éd). Paris, France.

## Références bibliographiques

---

- **Jean P., chidiac & Louis B. 2007.** Médecine et maladies infectieuses. Recommandations pour la pratique clinique Prise en charge du pied diabétique infecté, <http://france.elsevier.com/direct/MEDMAL.ELSEVIER MASSON>, pp3.
- **Joffin J.N., Leyral G., 2005.** Microbiologie Technique. Tome 1 Dictionnaire des techniques. Académie de bordeaux et crdp d'Aquitaine, 171-189.

### L

- **Les plaies difficiles au Canada.** Performance du système de santé. (Aout 2013).
- **Limoges CHU.** Peau de miel. Disponible sur [http://www.chulimoges.fr/IMG/pdf/peau\\_de\\_miel\\_2013w.pdf](http://www.chulimoges.fr/IMG/pdf/peau_de_miel_2013w.pdf).
- **Lipsky B., Berendt A & Deery H. 2004.** Diagnosis and treatment if diabetic foot infections. *Clin Infect Dis* ; 39 : 885-910.
- **La cicatrisation.** I - Reconstitution tissulaire. Cicatrisation primaire - Cicatrisation secondaire.
- **La cicatrisation.** Faculte de Medecine Pierre et Marie CURIE. <http://www.chups.jussieu.fr/polys/orthopedie/polyortho/POLY.Chp.19.html>
- **LIPSKY BA,** Medical treatment of diabetic foot infections, *Clin.Infect. Dis.*, 2004, 39, S104-14.

### M

- **Monnier Louis; Fumat Carole.** Diabétologie. Issy-les-Moulineaux : Elsevier Masson. 2010.
- **Meaume S., Dereure O. et Teot L.** Plaies et cicatrisations. Paris, Masson, 2005.
- **Mezhoud Raoune, Khalfallah Narimene. (2018).** Profil de résistance des bactéries associées à l'infection du pied diabétique au niveau de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine (HMRUC) (Mémoire de Master). Université des Frères Mentouri Constantine.
- **Mendes J, Marques-Costa A, Vilela C, et al.** Clinical and bacteriological survey of diabetic foot infections in Lisbon. *Diabetesresearch and clinical practice.* 2012;95(1):153-161.

### N

- **Noubel. J. (2009).** Prise en charge des patients diabétiques dans un groupement interprofessionnel de santé territorial. France: Univ de Dijon.

### O

- **Organisation Mondiale de la Santé (OMS).** Rapport mondial sur le diabète. **2016.**

### P

- **Plaies et pansements.** FICHE TECHNIQUE DE SOINS. juillet **2018.**

### Q

- **Qassimi F. (2015).**Le pied diabétique : Expérience du service de dermatologie à l'Hopital Militaire Moulay Ismail de Meknes [En ligne]. Thèse de doctorat en médecine. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah Faculté de Médecine et de Pharmacie Meknes .p.90-92-107.

### R

- **Raja NS. (2007).** Microbiologie des infections du pied diabétique dans un hôpital universitaire en Malaisie : une étude rétrospective de 194 cas .J MicrobiolImmunol Infect. [Pub med] ; 40(1) : 39-44.
- **Rachel Lamarque – service infirmier. (avril 2014).** LES PANSEMENTS INDICATIONS ET UTILISATIONS RECOMMANDÉES. La vanelle.
- **Rothan-Tondeur et al.** *Hygiène et Plaies.* Paris, Sauramps medical, **2001.**
- **Ramkant P, Verma AK, Misra R, Prasad KN, Chand G, Mishra A, Agarwal G, Agarwal A, Mishra SK. (2010).** Changing microbiologicalprofil of pathogenic bacteria in diabetic foot infections: time for a rethink on which empirical therapy to choose.
- **Richard JL, Lavigne JP, Got I, et al.** Management of patients hospitalized for diabetic foot infection: results of the French OPIDIA study. Diabetes & metabolism. Jun 2011;37(3):208-215.

### S

- **Stahl PJ. (2006).** Recommandations pour la pratique clinique. Prise en charge du pied diabétique infecté. [En ligne]. Société de pathologie infectieuse de la langue française (SPILF) CHU de Grenoble.
- **Saborio P1, Tipton GA, Chan JC. (2000).**Diabetesinsipidus. *PediatrRev*, 21(4) ,122-9.
- **Schlienger J.L.** Complications du diabète de type 2. *Presse Médicale*. **2013**, 42, 5: 839-848.
- **Schultz GS, Barillo DJ, Mozingo DW, Chin GA.** Wound bed preparation and a brief history of TIME. *Int Wound J*. **2004** Apr;1(1):19–32.
- **Sarah Koechler.** Le miel dans la cicatrisation des plaies : un nouveau médicament ? [En ligne]. Thèse de doctorat en pharmacie. France : Metz : université de LORRAINE : faculté de pharmacie, **2015**, 129 p. Format PDF. Disponible sur <[http://docnum.univ-lorraine.fr/public/BUPHA\\_T\\_2015\\_KOECHLER\\_SARAH.pdf](http://docnum.univ-lorraine.fr/public/BUPHA_T_2015_KOECHLER_SARAH.pdf)>.
- **Singer, A.J. etClarck, R.A.F. (1999).** Cutaneous wound healing, *The New England Journal of Medicine*, 341(10) : 738-746.
- **Soukaina, SOLBI. 2013.** EFFET DU REPIQUAGE DE PSEUDOMONAS AERUGINOSA SUR LES CARACTÈRES MORPHOLOGIQUES, BIOCHIMIQUES ET SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES. UNIIVERSITE MOHAMMED V - SOUISSIFACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE.RABAT.
- **Sperber, W. Z., &Tatini, S. R. (1975).** Interpretation of the tube coagulase test for identification of *Staphylococcus aureus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 29(4), 502-505.
- **Sharma VK, Khadka PB, Joshi A, Sharma R. (2006).** Pathogènes communs isolées dans l'infection du pied diabétiques à l'hôpital de Bir.
- **Shankar E .,Mohan V., Premalantha G .,Srinivasan R &Usha A. 2005.** Bacterial etiology of diabetic foot infections in South India. *Eur J Intern Med*;16:567–70.
- **Saseedharan S, Sahu M, Chddaha R, Pathrose E, Bal A, Bhalekar P, Sekar P, Krishnan P. (2018).** Epidémiologie des infections du pied diabétique dans un hôpital tertiaire de référence en Inde. *Braz J Microbiol* [Pub med]. 49 (2) : 401-

### T

- **Téot. L, M. Briggs, F.-D. Ferris, C.S. Glynn, K. Harding, D. Hofman, H. Hollinworth, D.-L. Krasner, C. Lindholm, C. Moffatt, P. Price, M. Romanelli, G.**

## Références bibliographiques

---

**Sibbald, M. Stacey.** JPC N° 46 - Décembre 2004 – Tome IX : atténuation de la douleur au cours des procédures de renouvellement de pansements.

- **Téot Luc.** Plaies, pansements et douleurs des soins : Plaies sans douleurs: un challenge multidisciplinaire. Service Brûlés-Chirurgie Plastique ;HôpitalLapeyronie - CHU Montpellier. 2007.
- **Téot L, Dealey C.** Plaies et cicatrisations. Comment prévenir les escarres. Paris: Médias Flash; 1997.
- **THOMAS Steven.** (22 novembre 2011). RELAIS HÔPITAL-VILLE DANS LA PRISE EN CHARGE DES PLAIES (Thèse de doctorat en pharmacie). UNIVERSITE HENRI POINCARÉ - NANCY 1.
- **Tiwari S, Pratyush DD, Dwivedi A, Gupta SK, Rai M, Singh SK.** (2012). Caractéristiques microbiologiques et cliniques des infections du pied diabétique en Inde du nord. J infect devctries [Pub med] 6(4) : 329-32.
- **TEOT L., MEAUME S. et DEREURE O.** Plaies et cicatrisations au quotidien. Livre et CD-ROM.Montpellier, Saurampsmedical, 2001.

### V

- **Vézina J, Saint Pierre C.** Cahier 7 Le soin des plaies: Principes de bases. [document électronique]. Université du Québec, 2006. Disponible sur:[http://w4.uqo.ca/giresss/docs/cahier7\\_soinplaies.pdf](http://w4.uqo.ca/giresss/docs/cahier7_soinplaies.pdf)
- **Vandenbussche, F.** (1983). Histoire naturelle de la cicatrisation retardée. NPN Médecine, 3 : 357-362.

### Y

- **Yahia-Berrouiguet A.** (2008). Les plaies du pied chez le diabétique : Épidémiologie et prise en charge au CHU Tlemcen. [En ligne]. 34(3) :74.

### Z

- **Zemmouri A, Tarchouli,M ,Haimeur CH.** (2015). Profil bactériologique du pied diabétique et son impact sur le choix des antibiotiques. *The Pan AfricanMedical Journal*[Pub med].

# *Annexes*

**Annexes 01 : Matériel utilisé.**

- Ecouvillons stériles
- Anse de platine
- Pipette pasteur
- Boîtes de pétri
- Tubes à essais
- Tubes à hémolyse
- Lames et lamelles
- Etuve
- Bec bunsen
- Vortex
- Eau oxygénée
- Eau distillée
- Violet de gentiane
- Lugol
- Fuchsine
- Ethanol
- **Tests biochimiques**
- Galerie API20 NE
- **Réactifs**
- Huile de paraffine
- Kovax
- TDA
- **Les milieux de culture**
- ❖ **Milieux de culture liquides**
- Bouillon nutritive
- ❖ **Milieux de culture solides**
- Le milieu de Mac Conkey
- Le milieu de Chapman

**Annexe 02** : la composition et le mode de préparation des milieux de culture.

**1. Gélose Mac conkey**

Peptone.....	20g
Lactose.....	10g
Sels biliaires.....	.05g
Chlorure de sodium.....	.05g
Rouge neutre.....	0,075mg
Agar.....	12g

**PH=7,4**

Stériliser à 120 °C pendant 15 min.

**2. Gélose Chapman**

La formule théorique de ce milieu de culture en g/L d'eau purifiée est :

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

**pH=7,6**

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

**3. Gélose nutritive pour la conservation**

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

**pH=7.3**

**Préparation** : prêt à l'emploi en petits tubes fins.

### Annexe 03 : La description des colonies.

1. **La forme** : ronde, irrégulière, étoile, envahissante.
2. **Le relief** : Très fréquemment observé : Bombée et plate, Couramment observé : en vague concentrique.
3. **Le contour** : Les colonies à bords réguliers (= nets) et celles à bords irréguliers
4. **La taille** :
  - ✓ Colonies punctiformes : Colonies à peine visibles, dont la taille est inférieure au millimètre
  - ✓ Petites colonies : Colonies dont le diamètre est compris entre 1 et 2 mm
  - ✓ Colonies moyennes : Colonies dont le diamètre est compris entre 3 et 5 mm
  - ✓ Grosses colonies : Colonies dont le diamètre est supérieur à 5 mm
5. **La surface** : On distingue les colonies lisses et les colonies rugueuses.
6. **La couleur** : du a un colorant ou un indicateur de pH présent dans le milieu.

### Annexe 04 : Protocole de coloration de Gram.

- Etaler une goutte de suspension microbienne sur une lame.
- Laisser bien sécher à l'air.
- Recouvrir la lame avec du violet de Gentiane ou Crystal violet ; laisser agir 30s. puis ajouter le lugol 30s.
- Eliminer les colorants et décolorer rapidement à l'alcool 30sec.
- Rincer à l'eau pour arrêter la décoloration.
- Recouvrir la lame de Fuchsine ou safranine 1 min.
- Observation à l'objectif X 100 avec l'huile à immersion.

### Annexe 05 : Les règles précises de l'inoculation de la galerie API 20<sup>E</sup>.

- . Pour les tests CIP, VP, GEL remplir les tubes et les cupules.
- . Pour les autres tests, remplir uniquement les tubes.
- . Recouvrir les tests ODC, ADH, LDC, H<sub>2</sub>S, URE avec 2 gouttes d'huile de paraffine.

**Annexe 06 :** Tableau de lecture de la galerie API20E.

Tests	Substrat	Caractère recherché	Résultat	
			Négatif	Positif
ONPG	Ortho-nitro-Beta-galactosidase	Beta-galactosidase	Incolore	Jaune
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	
LDC	Lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Orangé
ODC	Ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge orangé
CIT	Citrate desodium	Utilisation de citrate	Vert pale/ jaune	Bleu-vert /vert
H2S	Thiosulfate de sodium	Production d'H2S	Incolore/grisâtre	Dépôt noir/fin liseré
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge orangé
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	TDA I Immédiat	
			Jaune	Marron foncé
IND	Tryptophane	Production d'indole	IND / 2min, maxi	
			Jaune	Anneau rouge
VP	Pyruvatede sodium	Production d'acétone	VP1 + VP2 / I0 min	
			incolore	Rosé /rouge
GEL	Gélatine de kohn	Gélatine	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	Glucose	Fermentation /oxydation	Bleu /bleu-vert	Jaune
MAN	Manitol	Fermentation /oxydation	Bleu /bleu-vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation /oxydation	Bleu /bleu-vert	Jaune

SOR	Sorbitol	Fermentation /oxydation	Bleu /bleu-vert	Jaune
RHA	Rhamnose	Fermentation/ oxydation	Bleu /bleu-vert	Jaune
SAC	Saccharose	Fermentation /oxydation	Bleu /bleu-vert	Jaune
MEL	Melibiose	Fermentation /oxydation	Bleu /bleu-vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation /oxydation	Bleu /bleu-vert	Jaune
ARA	Arabinose	Fermentation /oxydation	Bleu /bleu-vert	Jaune

Annexe 07 : Fiche de lecture des résultats de galerie API 20<sup>E</sup>.

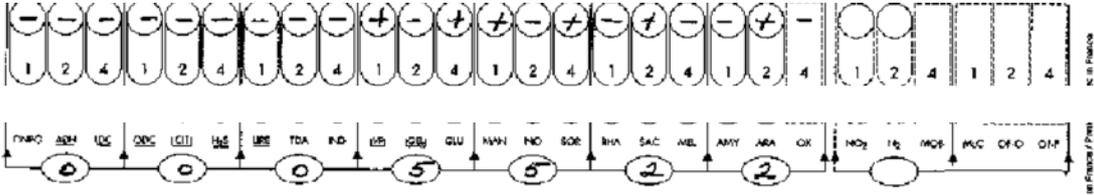


REF : \_\_\_\_\_

Origine / Source / Herkunft / Origin / Provenza : \_\_\_\_\_



---



Autres tests / Other tests / Weitere Tests / Altri tests / Otros tests :

Ident. :

Erwinia amylovora

## Résumé

L'objectif de ce travail est basé sur l'isolement et l'identification des germes responsable d'infecter les plaies chez les diabétiques. Notre étude bactériologique a été réalisée sur une durée de un mois et demi, allant de 20 Mars à 5 Mai 2019, chez 10 patients diabétique admis pour une infection au niveau de pied et hospitalisés au EH Dr benzarjeb et Ahmed Madaghri. Les prélèvements effectués étaient superficielles par écouvillonnage. Un total de 10 échantillons à été analysé. L'identification des souches a été basée sur l'étude des caractères morphologiques, culturels et biochimiques grâce à des galeries Api 20<sup>E</sup>. Les résultats des prélèvements étaient poly-microbiens (90%). Parmi les germes identifiés, entérobactéries (Gram-) étaient les plus représentés avec un taux 57,85%, et les cocci à Gram positif étaient de 42,85% des isolats. Au total de 21 souches identifiées avec une prédominance des souches staph aureus (33,33%) suivis des souches de *klabsiella pneumonia* 19,04%, 9,52% des staphylocoque à coagulase négative et 4,76% pour chaque une des espèces suivantes : *Serratia fonticola*, *Klebsiella oxycota*, *Serratia odorifera*, *Aeromona shydrophila gr1.*, *Providencia alcalifaciens rustigiani*, *Proteus mirabilis Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*.

**Mots clés :** Infection, Plaies, patients diabétiques, staphylocoques, entérobactéries.

## ملخص

يهدف هذا العمل إلى عزل وتحديد الجراثيم المسؤولة عن إصابة الجروح عند مرضى السكر. تمتد فترة دراستنا البكتريولوجية شهر ونصف ، من 20 مارس إلى 5 ماي 2019 ، كانت على 10 عينات من مرضى مصابين بالقدم السكرية تم قبولهم في مستشفى احمد مدغري و دكتور بن زرجب. العينات المأخوذة كانت سطحية عن طريق المسح.

استند تحديد السلالات على دراسة المورفولوجية والبيوكيميائية من خلال نظام API 20E.

كانت نتائج العينات 90 بالمائة متعددة البكتيريا. من بين التي تم تحديدها، كانت بكتيريا المعوية هي الأكثر تمثيلاً بنسبة 57.85 % من بين الجراثيم التي تم تحديدها ، وكانت الكوتسي إيجابية الجرام 42.85 % من العينات. في مجموع 21 سلالة محددة مع غلبة سلالات المكورات العنقودية الذهبية (33.33 %) تليها سلالات الالتهاب الرئوي كلاسيكياً 19.04 % ، *Serratia fonticola* 9.52 % من المكورات العنقودية سلبية المخثر و 4.76 % لكل من الأنواع التالية: *Klebsiella oxycota* ، *Serratia odorifera* ، *Aeromona shydrophila gr1.* ، *Providencia alkalifaciens rustigiani* ، *Proteus mirabilis Pseudomonas aeruginosa* ، *Acinetobacter baumannii*.

**الكلمات المفتاحية:** العدوى ، الجروح ، مرضى السكري ، المكورات العنقودية ، المكورات المعوية.

## Abstract

The purpose of this work is based on the isolation and identification of germs responsible for wound infection in diabetics. Our bacteriological study was carried out over a period of one and a half months, ranging from March 20 to May 5, 2019. In 10 diabetic patients diabetic foot infection and hospitalized at EH Dr benzarjeb and Ahmed Madaghri. The samples taken were superficial by swabbing. A total of 10 samples were analyzed. The identification of bacterial strains was based on the study of morphological, cultural and biochemical characteristics through Api galleries. The results of the samples were taken, 90% of the cultures were polymicrobial. Of the identified organisms, enterobacteria (Gram-) were the most represented at 57.85%, and Gram-positive cocci were 42.85% of the isolates. A total of 21 strains identified with a predominance of staph aureus (33.33%) followed by strains of *klabsiella pneumonia* 19.04%, 9.52% coagulase negative staphylococcus and 4.76% for each of the species following: *Serratia fonticola*, *Klebsiella oxycota*, *Serratia odorifera*, *Aeromona shydrophila gr1.*, *Providencia alkalifaciens rustigiani*, *Proteus mirabilis Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*.

**Key words:** Infection, Wounds, diabetic patients, staphylococci, enterobacteria.