

ANALYSE BACTERIOLOGIQUE QUANTITATIVE ET QUALITATIVE DE BIOPSIES OSSEUSES DE PIEDS DIABETIQUES ET RECHERCHE DES FACTEURS DE PATHOGENICITE



Pourquoi s'intéresser à l'ostéite dans l'infection du pied diabétique?

- ↪ L'infection osseuse complique 1 /3 à 2/3 des plaies chroniques du pied
- ↪ 36% des patients qui ont une ostéite subissent une amputation durant le suivi.
- ↪ 68% des patients qui ont subi une amputation seront amputés une seconde fois dans les 5 ans;
- ↪ Mortalité dans les 5 ans suivant l'amputation initiale est de 50%.

Objectifs de l'étude

- **Caractériser la microbiologie de l'ostéite du pied diabétique**
 - Quantité
 - Qualité
- **Caractériser l'organisation des bactéries dans l'os**
- **Caractériser les staphylocoques**
 - Capacité d'adhérence
 - Capacité à créer un biofilm

Matériel et méthode

- **Etude prospective réalisée entre février 2010 à mai 2011.**
- **Tout patient diabétique présentant une ostéite du pied nécessitant une biopsie osseuse et/ou une amputation.**
 - **Ostéite prouvée par clinique + radio ou IRM**





2 à 3 biopsies osseuses




1 à 2 biopsies
Quantitatif, qualitatif

1 biopsie
MEB

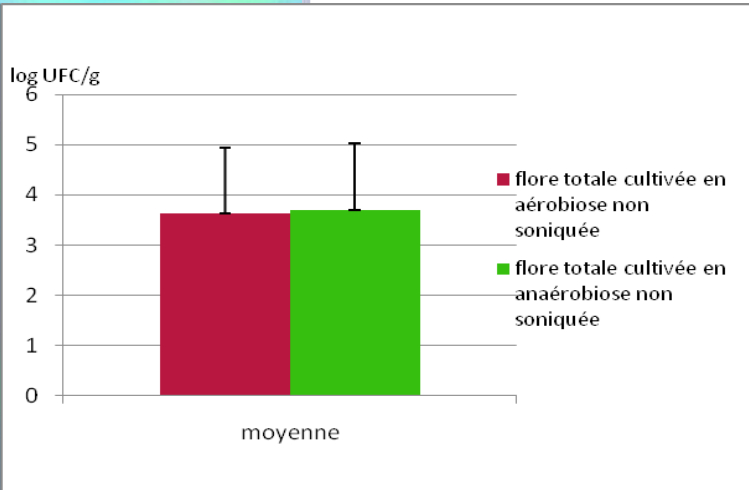
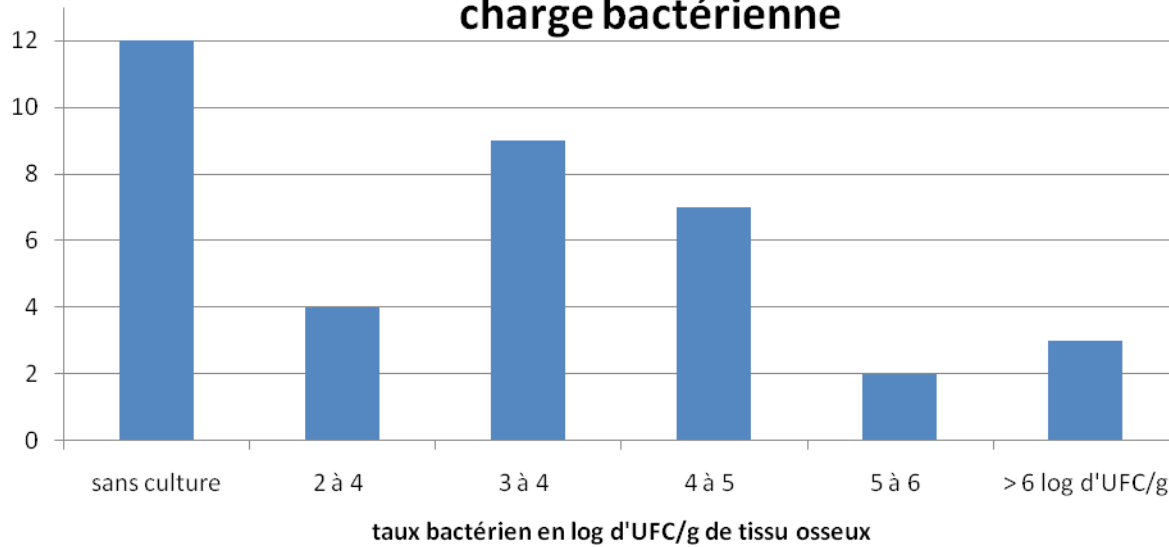


Laboratoire de bactériologie clinique, Faculté de Pharmacie U995

Université Lille 1

- 
- ⇒ **n= 38 prélèvements ; 35 patients**
 - ⇒ **65,8% d'hommes**
 - ⇒ **89.4% diabétiques de type II**
 - ⇒ **âge moyen 65 ans.**
 - ⇒ **55% chirurgie orthopédique du CH de Tourcoing**
 - ⇒ **33% étaient conclus stériles (n=7) par le laboratoire de routine.**
 - ⇒ **45% chirurgie vasculaire du CHRU de Lille.**
 - ⇒ **23% étaient conclus stériles (n=4).**

Distribution des prélèvements en fonction de la charge bactérienne



3,7 log d'ufc/ g
5000 bactéries par gramme d'os

$$\frac{N}{V \times d} / m$$

En UFC/g de tissu

	Bactérie identifiée dans l'ostéite	nb
Cocci Gram+	<i>Staphylococcus aureus</i>	12
	<i>Staphylococcus capitis</i>	2
	<i>Staphylococcus caprae</i>	2
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	9
	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	2
	<i>Staphylococcus pettenkoferi</i>	2
	<i>Staphylococcus sciuri</i>	1
	<i>Staphylococcus simulans</i>	1
	<i>Staphylococcus warneri</i>	2
	<i>Staphylococcus sp</i>	1
	<i>Micrococcus luteus</i>	1
	<i>Micrococcus sp</i>	1
	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1
	<i>Enterococcus faecalis</i>	5
	<i>Enterococcus faecium</i>	1
Bacille Gram+	<i>Corynebacterium</i>	10
	<i>Dermabacter hominis</i>	2
Bacille Gram - Entérobactérie	<i>Citrobacter diversus</i>	1
	<i>Enterobacter cloacae</i>	3
	<i>Escherichia coli</i>	2
	<i>Serratia liquefaciens</i>	1
	<i>Serratia marcescens</i>	2
	<i>Proteus mirabilis</i>	3
	<i>Providencia rettgeri</i>	1
	<i>Morganella morganii</i>	1
Autres BGN	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1
Anaérobie	<i>Anaerococcus prevotii</i>	1
	<i>Fingoldia magna</i>	2
	<i>Propionibacterium acnes</i>	2
	<i>Veillonella</i>	2

77 souches identifiées:

28% staphylocoques coagulase négative

15,3% *Staphylococcus aureus*

12,8% *Corynebacterium*

⇒ Ostéite chronique:

⇒ 1,76 bactéries/ plvt

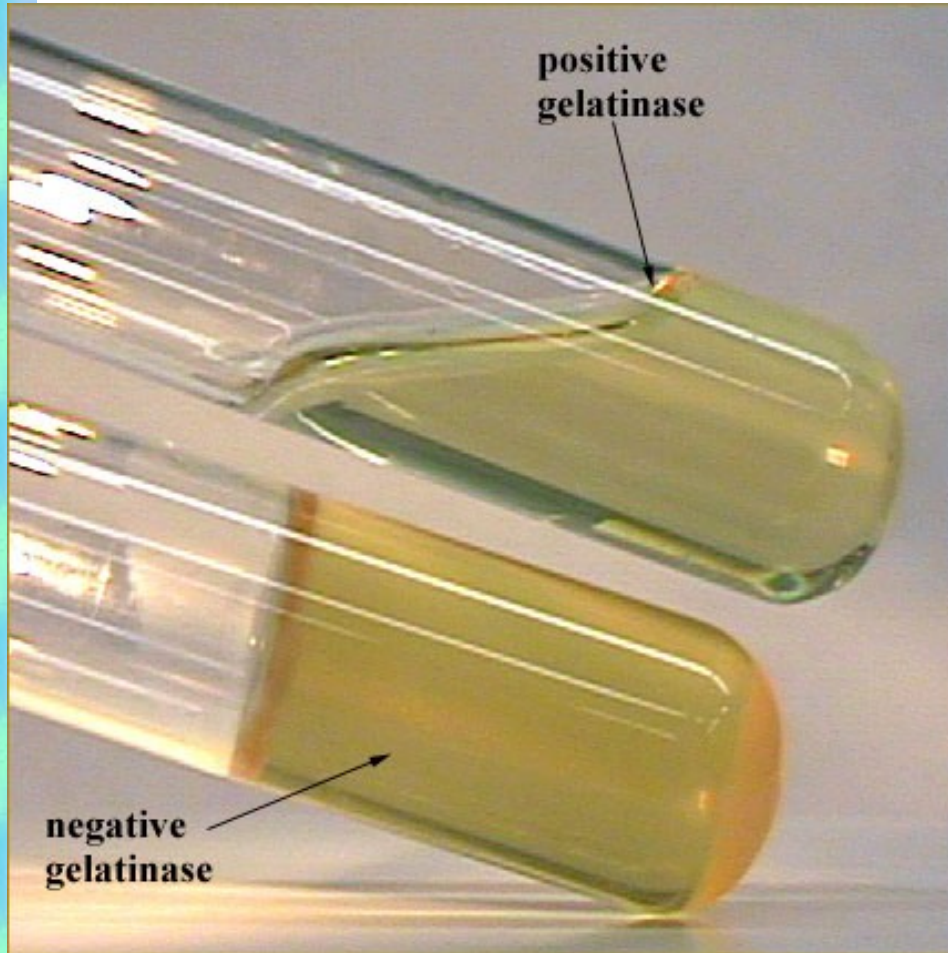
⇒ 15.4% des souches
sont des anaérobies

⇒ 28,6% des plvts:
présence
d'anaérobies.

Caractéristiques des staphylocoques

Capacité à dégrader le collagène

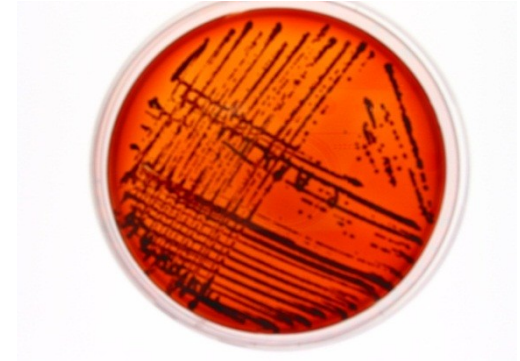
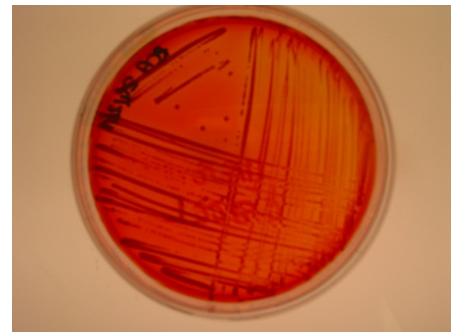
↪ Gélatinase



staphylocoques

es coagulase

Capacité à produire un exopolysaccharide



↪ Test au Rouge congo

↪ 65% de positivité

↪ 70% des *Staphylococcus aureus*

↪ Sur plaie chronique

↪ 55 souches de *S. aureus*: 69% +

↪ 20 souches *S. epidermidis* 73% +

↪ Nasopharynx

↪ 146 *Staphylococcus epidermidis* 58,9% +

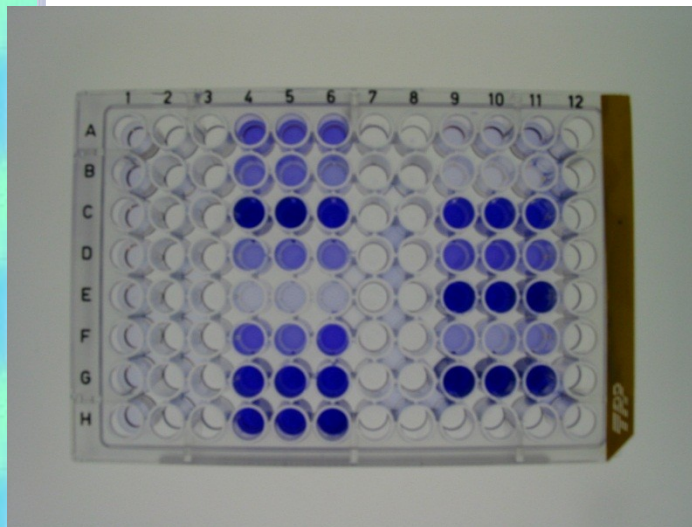
↪ Los, R. et al. A comparative analysis of phenotypic and genotypic methods for the determination of the biofilm-forming abilities of *Staphylococcus epidermidis*. *FEMS Microbiol. Lett* 310, 97-103 (2010)

Capacité d'adhérence à une surface

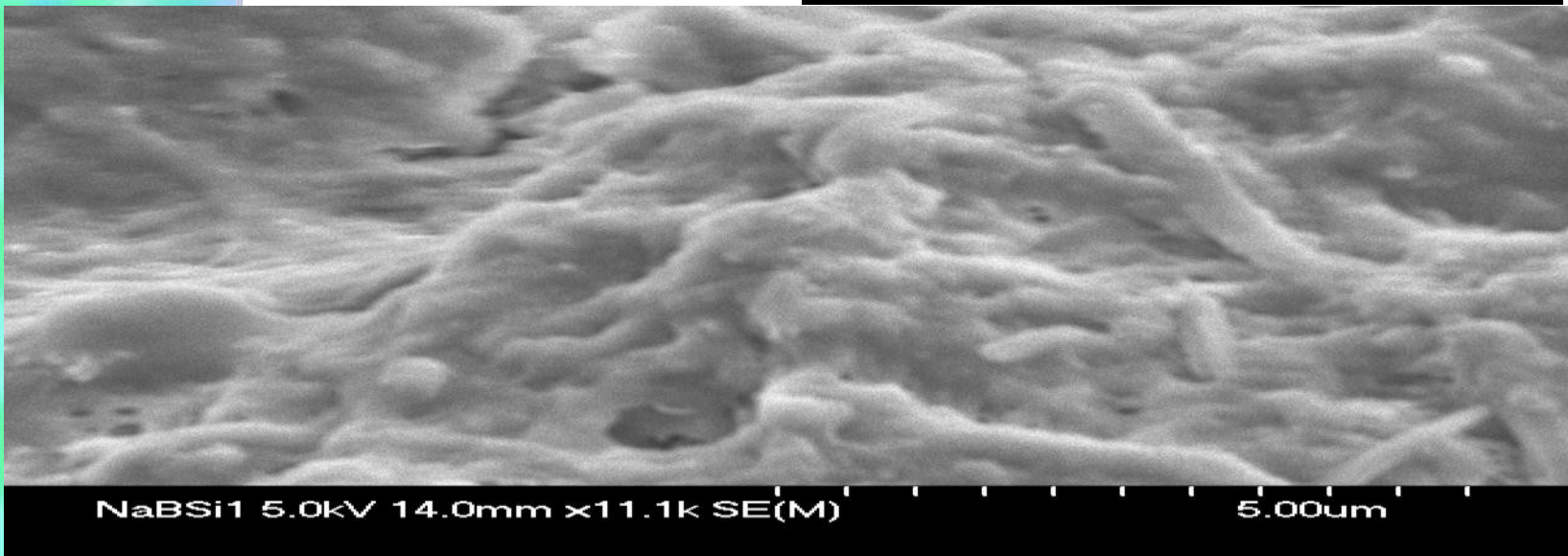
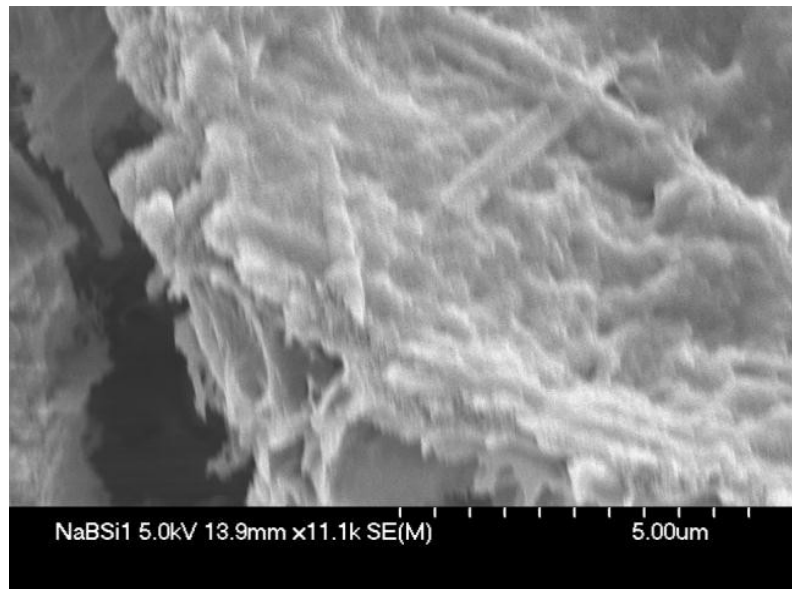
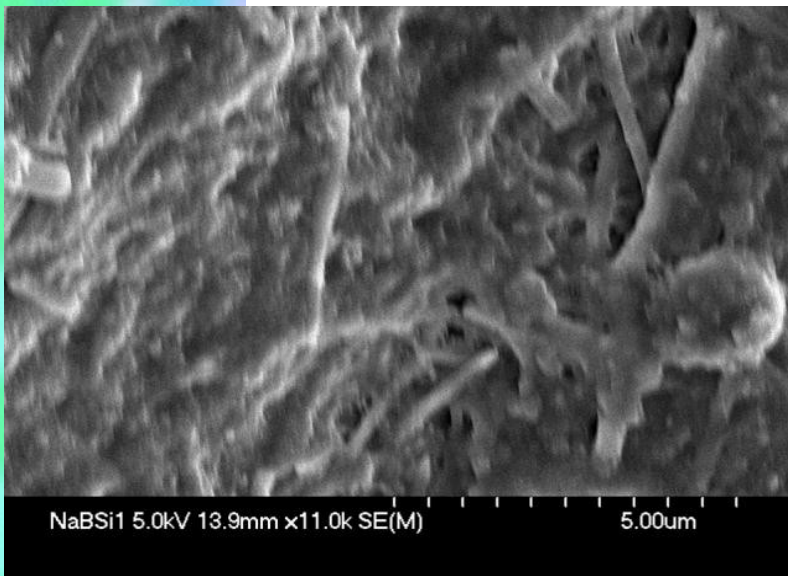
↪ Test au crystal violet

↪ La positivité est de 76,6%
densité optique

76,6%



MEB



Perspectives

- **Poursuite de la collection bactérienne**
- **Evaluation moléculaire**
- **Collaboration avec l'équipe du Dr. Brad Spellberg of UCLA**
- **Evaluation en microscopie électronique des biofilms formés sur disques de biocéramique.**