## Annexe I

**Les milieux de culture**

1-**Hektoen** (en grammes par litre d'eau distillée)

| Composition | Quantité |
|---|---|
| Peptone | 12g |
| Extrait de levure | 3g |
| NaCl | 5g |
| Sels biliaires | 9g |
| Thiosulfate de sodium | 5g |
| Citrate de fer ammoniacal | 1,5g |
| Lactose | 12g |
| Salicine | 2g |
| Saccharose | 12g |
| BBT | 0,002g |
| Fuchsine acide | 0 ,1g |
| Agar | 14g |
| PH final = 7,5 .Ne pas auto-claver | |

**2-Gélose nutritif (GN)**

| Composition | Quantité |
|---|---|
| Peptone | 5g /l |
| extrait de viande | 1g /l |
| extrait de levure | 5g /l |
| chlorure de sodium | 5g /l |
| Agar | 15g /l |
| Auto-clavé à 121C° pendant 20 min. | |

**3-Sabauraud**

| Composition | Quantité |
|---|---|
| Peptone | 10g |
| Glucose masse | 20g |
| Agar-agar | 15g |
| Eau distillée | 1000 ml |
| vitamines et facteurs de croissance | |
| pH=6 | |
| Auto-clave à 121C° pendant 20 min. | |

**4- Chapman**

| Composition | Quantité |
|---|---|
| Peptone | 10g |
| Extrait de viande de boeuf | 1g |
| Chlorure de sodium | 75g |
| Mannitol | 10g |
| Rouge de phénol | 0,025g |
| Agar-agar | 15g |
| Eau distillée | 1L |
| pH=7,5 | |
| Auto-clave à 121C° pendant 20 min. | |

**5- Mueller-Hinton (MH)**

| Composition | Quantité |
|---|---|
| **infusion de viande de boeuf** | **300ml** |
| **peptone de caseine** | **17,5g** |
| **amidon de mais** | **1,5 g** |
| **Agar** | **17 g** |
| **pH=7,4** | |
| **Auto-clavé à 121C° pendant 20 min.** | |

**6 -Gélose au sang de cheval**

**Préparation**

• Liquéfier la gélose nutritive(GN) et atteindre son refroidissement a 45°C.

• Ajouter stérilement, a l'aide d'une pipette Pasteur (1 goutte = 0,05 ml), la Quantité de sang nécessaire pour obtenir une concentration finale en sang de 5%.

• Homogénéiser en faisant rouler le tube entre les mains, en évitant la formation de bulles.

• Couler en boite de Pétri en évitant la formation de bulles d'air.

## 7-Gélose glucosée viande-foie

| Composition | Quantité |
|---|---|
| **Peptone viande-foie** | **30g** |
| **Glucose** | **2g** |
| **Amidon soluble** | **2g** |
| **Sulfite de sodium** | **2,5g** |
| **- Citrate de fer ammoniacal** | **0,5 g** |
| **Agar agar bactériologique** | **11 g** |
| **pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,6 ± 0,2.** | |

❖ **Préparation de la galerie API 20 E**

**Technique**

- ✓ Réunir fond et couvercle d'une boite d'incubation et répartir environ 5ml d'eau distillé stérile dans les alvéoles pour créé une atmosphère humide;
- ✓ Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boite;
- ✓ Sortir la galerie de son emballage;
- ✓ Placer la galerie dans la boite d'incubation;

❖ **Préparation de l'inoculum**

- ✓ A l'aide d'une pipette pasteur, prélever à partir une culture pur jeun sur milieu gélosé (Hekteon);
- ✓ Réaliser une suspension bactérienne dense dans 10ml d'eau physiologique stérile en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu;

❖ **Inoculation de la galerie**

Introduire la suspension bactérienne dans les tubes de la galerie à l'aide d'une pipette pasteur (pour éviter la formation des bulles au fond de tube, poser les points de la pipette sur la coté de la cupule, en inclinant légèrement la boit d'incubation vers l'avant, et incubé pendant 24h à 37°C.

## *Annexe II*

**Tableau 1.** Les résultats de l'examen direct après coloration au bleu de méthylène et de Gram

| Echantillon | Polynucléaire neutrophile | bacille | cocci | Levure |
|---|---|---|---|---|
| E1 | + | + | + | - |
| E2 | + | - | + | - |
| E3 | + | + | + | + |
| E4 | - | - | + | - |
| E5 | + | + | + | - |
| E6 | - | + | + | - |
| E7 | - | + | - | - |
| E8 | + | + | - | - |
| E9 | - | - | + | - |
| E10 | + | + | - | - |
| E11 | - | + | + | + |
| E12 | + | + | + | + |
| E13 | + | + | + | - |
| E14 | + | + | + | - |
| E15 | + | + | - | - |
| E16 | + | + | + | + |
| E17 | - | + | + | + |
| E18 | - | + | + | - |
| E19 | + | + | + | - |
| E20 | - | + | + | - |
| E21 | - | + | + | - |
| E22 | + | + | + | - |
| E23 | - | + | + | - |
| E24 | + | + | + | - |
| E25 | + | + | + | - |

**E :** échantillon

**Tableau 02.** Résultats de la mise en culture sur les différents milieux (Chapman, Hektoene, GN, sabouraud) a prouve la présence des germes pathogènes, dans plusieurs prélèvements.

| Milieux<br>Echantillons | Chapman | Hektoene | GN | Sabouraud |
|---|---|---|---|---|
| **E 1** | + | + | + | - |
| **E 2** | + | - | + | - |
| **E 3** | + | + | + | + |
| **E 4** | + | - | + | - |
| **E 5** | + | + | + | - |
| **E 6** | + | + | + | - |
| **E 7** | - | + | + | - |
| **E 8** | - | + | + | - |
| **E 9** | + | - | + | - |
| **E 10** | - | + | + | - |
| **E 11** | + | + | + | + |
| **E 12** | + | + | + | + |
| **E 13** | + | + | + | - |
| **E 14** | + | + | + | - |
| **E 15** | - | + | + | - |
| **E 16** | + | + | + | + |
| **E 17** | + | + | + | + |
| **E 18** | + | + | + | - |
| **E 19** | + | + | + | - |
| **E 20** | + | + | + | - |
| **E 21** | + | + | + | - |
| **E 22** | + | + | + | - |
| **E 23** | + | + | + | - |
| **E 24** | + | + | + | - |
| **E 25** | + | + | + | - |

**Tableau03** : Résultats des testes preliminaires et d'identification biochimique détaillé pour les isolats cocci Gram +

| Echantillon | Mannitol | Catalase | Coagulase |
|---|---|---|---|
| **E 1** | + | + | - |
| **E 2** | + | - | - |
| **E 3** | + | - | - |
| **E 4** | + | + | - |
| **E 5** | + | + | - |
| **E 6** | + | - | + |
| **E 9** | + | - | - |
| **E 11** | - | - | - |
| **E 12** | - | + | - |
| **E 13** | + | - | - |
| **E 14** | - | - | - |
| **E 16** | - | - | - |
| **E 17** | - | - | - |
| **E 18** | - | - | - |
| **E 19** | - | - | - |
| **E 20** | + | + | - |
| **E 21** | + | - | - |
| **E 22** | + | - | - |
| **E 23** | + | - | - |
| **E 24** | - | - | - |
| **E 25** | - | - | - |

**Tableau 04**. Résultats de la mesure des diamètres d'inhibition des *staphylococcus spp* et des *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques testes sur milieu gélose.

| Echantillon / Disque d'ATB | PEF | CIP | E | DA | AK | K | FC | TOB |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| E 1 | 7 | 27 | ≤6 | ≤6 | 27 | 13 | ≤6 | 25 |
| E 2 | 30 | 35 | 30 | 32 | 27 | 28 | 30 | 28 |
| E 3 | 30 | 33 | 30 | 32 | 27 | 30 | 30 | 30 |
| E 4 | 8 | 14 | 32 | 35 | 22 | ≤6 | 35 | 10 |
| E 5 | 27 | 30 | 31 | 22 | 30 | 29 | 27 | 24 |
| E 6 | 24 | 32 | ≤6 | ≤6 | 25 | 11 | ≤6 | 24 |
| E 9 | 30 | 25 | ≤6 | ≤6 | 23 | 10 | ≤6 | 30 |
| E 11 | 31 | 30 | 30 | 30 | 25 | 25 | 35 | 23 |
| E 12 a | 12 | 24 | ≤6 | ≤6 | 21 | ≤6 | ≤6 | 20 |
| E 12 b | 28 | 23 | ≤6 | ≤6 | 22 | 22 | ≤6 | 20 |
| E 13 a | 10 | 22 | ≤6 | ≤6 | 20 | ≤6 | ≤6 | 17 |
| E 13 b | 29 | 30 | 30 | 30 | 30 | 31 | 33 | 27 |
| E 14 a | 25 | 27 | ≤6 | 33 | 28 | 30 | 20 | 24 |
| E 14 b | 30 | 32 | 13 | 35 | 25 | 32 | 15 | 30 |
| E 16 | 27 | 33 | 17 | ≤6 | 36 | 36 | 23 | 28 |
| E 17 | 31 | 38 | ≤6 | ≤6 | 37 | 8 | 20 | 38 |
| E 18 | 30 | 21 | ≤6 | 10 | ≤6 | 7 | ≤6 | ≤6 |
| E 19 | ≤6 | 37 | 10 | ≤6 | ≤6 | ≤6 | 18 | 30 |
| E 20 | 29 | 28 | 27 | 27 | 22 | 29 | 17 | 20 |
| E 21 | 27 | 33 | ≤6 | ≤6 | 20 | ≤6 | ≤6 | 21 |
| E 22 | 24 | 30 | 27 | 25 | 20 | 21 | 23 | 18 |
| E 23 | 25 | 30 | 17 | 15 | 22 | 17 | 32 | 33 |
| E 24 | 21 | 33 | ≤6 | ≤6 | 20 | 11 | ≤6 | 11 |
| E 25 | 24 | 29 | ≤6 | 10 | 11 | 25 | 25 | 24 |

a: petite colonie, b: grande colonie

≤6:résistante

**Tableau 05.** Résultats de la mesure des diamètres des *entérobactéries* aux antibiotiques.

| Echantillon / Disque d'ATB | NA | PEF | FOS | CIP | K | AK | FOX | F | TOB | AMC | CTX | AMX |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| E 1 | ≤6 | ≤6 | 16 | ≤6 | 15 | 23 | 12 | ≤6 | 11 | ≤6 | ≤6 | ≤6 |
| E 3 | ≤6 | 22 | 25 | 40 | 13 | 26 | ≤6 | ≤6 | 26 | ≤6 | 17 | ≤6 |
| E 5 | ≤6 | ≤6 | 27 | 10 | 13 | ≤6 | 25 | ≤6 | 26 | ≤6 | ≤6 | ≤6 |
| E 6 | ≤6 | 22 | 15 | 35 | 15 | 31 | ≤6 | 12 | 31 | ≤6 | 10 | ≤6 |
| E 7 | 13 | 24 | 18 | 26 | 7 | 21 | ≤6 | ≤6 | 18 | ≤6 | 17 | ≤6 |
| E 8 | ≤6 | ≤6 | 27 | ≤6 | 14 | 26 | ≤6 | ≤6 | 25 | ≤6 | 15 | ≤6 |
| E 10 | ≤6 | ≤6 | 18 | ≤6 | 13 | 20 | 27 | ≤6 | 10 | ≤6 | 27 | ≤6 |
| E 11 | ≤6 | 23 | 36 | 25 | 10 | 28 | 27 | ≤6 | 27 | 28 | 38 | ≤6 |
| E 12 | ≤6 | 12 | 30 | 22 | 09 | 26 | 28 | 07 | 24 | 21 | 32 | ≤6 |
| E 13 | 20 | 12 | 18 | 27 | 10 | 27 | 28 | ≤6 | 17 | 20 | 32 | ≤6 |
| E 14 | ≤6 | 10 | 10 | 23 | ≤6 | 20 | 28 | ≤6 | 17 | ≤6 | 13 | ≤6 |
| E 15 | 20 | 26 | 16 | 30 | 20 | 20 | 25 | 13 | 17 | 15 | 30 | ≤6 |
| E 16 | 11 | 22 | 14 | 34 | 11 | 22 | ≤6 | ≤6 | 21 | ≤6 | 13 | ≤6 |
| E 17 | 13 | 30 | 30 | 22 | 10 | ≤6 | 17 | 19 | 22 | ≤6 | ≤6 | ≤6 |
| E 18 | 20 | 30 | ≤6 | 17 | 8 | 13 | ≤6 | ≤6 | 10 | ≤6 | ≤6 | ≤6 |
| E 19 | 11 | 23 | 30 | 36 | 11 | 23 | ≤6 | ≤6 | 18 | ≤6 | 11 | ≤6 |
| E 20 | 26 | 30 | 27 | 36 | 23 | 20 | 28 | ≤6 | 17 | 8 | 33 | ≤6 |
| E 21 | 20 | 25 | 26 | 28 | 20 | 18 | 24 | ≤6 | 13 | ≤6 | 20 | ≤6 |
| E 22 | 23 | 26 | 23 | 30 | 20 | 18 | 24 | ≤6 | 12 | ≤6 | 25 | ≤6 |
| E 23 | 7 | 17 | 24 | 23 | 10 | 22 | ≤6 | 17 | 17 | 25 | 20 | ≤6 |
| E 24 | ≤6 | 11 | 15 | 25 | ≤6 | 20 | ≤6 | ≤6 | 16 | ≤6 | 12 | ≤6 |
| E 25 | ≤6 | 17 | 25 | 23 | ≤6 | ≤6 | ≤6 | 20 | 11 | 28 | 16 | **10** |

**Tableau 06. Résultats de la mesure des diamètres des *pseudomonas* aux antibiotiques.**

| **Echantillon**<br>**Disque**<br>**d'ATB** | **IMI** | **TC** | **TTC** | **GN** |
|---|---|---|---|---|
| E 3 | 17 | 37 | 39 | 16 |
| E7 | 12 | 25 | 27 | 16 |
| E8 | 20 | 30 | 32 | 14 |
| E12 | 10 | 31 | 33 | 15 |
| E17 | ≤6 | 36 | 38 | 15 |
| E18 | 22 | 32 | 34 | 20 |
| E19 | ≤6 | 38 | 40 | 20 |

≤6 : résistante

**Tableau 7 :** Récapitulatif des disques d'antibiotiques utilisés pour l'étude de la sensibilité des bacilles (Gram-) et des cocci (Gram+) aux antibiotiques.

| **Disque d'antibiotique** | **Code de disque** | **Disque d'antibiotique** | **Code de disque** |
|---|---|---|---|
| **Amoxicilline** | Amx | Fosfomycine | FOS |
| **Acide nalidixique** | NA | Pefloxacine | PEF |
| **Kanamycine** | K | Ciproflaxine | CIP |
| **Céfoxitine** | FOX | Cifotaxime | CTX |
| **Amikacin** | AK | Gentamicine | GN |
| **Tobramycine** | TOB | Erythromycine | E |
| **Clindamycine** | DA | Acide fusidic | FC |
| **Amoxicilline Clavulanic Acid** | AMC | | |
| **Ticarcilline** | TIC | Imipenème | IMI |
| **Ticarcilline Acide Clavulanic** | TTC | **Nitrofurantoin** | F |

**Fiche de renseignements pour Prélèvements Du pied diabétique**

Nom : ☐ Prénom(s) : ☐ Age : ☐

Sexe : Masculin : ☐ Féminin : ☐

Médecine généraliste : ☐ diabétologue : ☐

Diabéte type : ☐ Année de diagnostique ☐

Examens des pieds :

Hygiène : bonne ☐ moyenne : ☐ mauvais : ☐

Pieds : ☐ chauds : ☐ froids : ☐

Peau : ☐ lisse : ☐ sèche : ☐

Œdème oui : ☐ non : ☐

Odeur : ☐ Abondance : ☐

Mobilité de la cheville : normale ☐ réduit : ☐

Déformation : pied plat : ☐ pied creux : ☐ orteils en griffe : ☐

Antibiothérapie : ☐