
FACULTE DE MEDECINE
DE PHARMACIE ET
D'ODONTO-STOMATOLOGIE

ANNEE 2001

N° 36

*Collyres préparés
traditionnellement et micro-
organismes contaminants*

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement

Le avril 2001

Devant la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie

Par

M. Adama TRAORE

Pour obtenir le Grade de Docteur en Pharmacie

DIPLOME D'ÉTAT

Jury

Président : Professeur Flabou BOUGOUDOGO

Membres : Docteur Lamine TRAORE
Docteur Drissa DIALLO

Directeur de Thèse : Docteur Jean-François SCHEMANN

FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE
ANNEE UNIVERSITAIRE 2000 - 2001

ADMINISTRATION

DOYEN : MOUSSA TRAORE - PROFESSEUR
1^{ER} ASSESSEUR : AROUNA KEITA - MAITRE DE CONFERENCES AGREGE
2^{EME} ASSESSEUR : ALHOUSSEYNI AG MOHAMED - MAITRE DE CONFERENCES AGREGE
SECRETAIRE PRINCIPAL YENIMEGUE ALBERT DEMBELE - MAITRE DE CONFERENCES AGREGE
AGENT COMPTABLE : YEHIHA HIMINE MAIGA - CONTROLEUR DE TRESOR

LES PROFESSEURS HONORAIRES

Mr Aliou BA	Ophthalmologie
Mr Bocar SALL	Orthopédie Traumatologie - Secourisme
Mr Souleymane SANGARE	Pneumo-phtisiologie
Mr Yaya FOFANA	Hématologie
Mr Mamadou L. TRAORE	Chirurgie Générale
Mr Balla COULIBALY	Pédiatrie
Mr Mamadou DEMBELE	Chirurgie Générale
Mr Mamadou KOUMARE	Pharmacognosie
Mr Mohamed TOURE	Pédiatrie
Mr Ali Nouhoum DIALLO	Médecine interne
Mr Aly GUINDO	Gastro-Entérologie

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT PAR D.E.R. & PAR GRADE

D.E.R. CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdel Karim KOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Sambou SOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Abdou Alassane TOURE	Orthopédie - Traumatologie, Chef de D.E.R.
Mr Kalilou OUATTARA	Urologie

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Amadou DOLO	Gynéco-Obstétrique
Mr Djibril SANGARE	Chirurgie Générale
Mr Abdel Kader TRAORE Dit DIOP	Chirurgie Générale
Mr Alhousseini Ag MOHAMED	O.R.L.
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie - Réanimation
Mr Gangaly DIALLO	Chirurgie Viscérale

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mme SY Aïssata SOW	Gynéco-Obstétrique
Mr Salif DIAKITE	Gynéco-Obstétrique

4. MAITRES ASSISTANTS

Mme DIALLO Fatimata S. DIABATE	Gynéco-Obstétrique
Mr. Mamadou TRAORE	Gynéco-Obstétrique
Mr Sadio YENA	Chirurgie Générale

5. ASSISTANTS

Mr Mounirou BABY	Hématologie
Mr Mahamadou A. THERA	Parasitologie

D.E.R. DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdoulaye Ag RHALY	Médecine Interne
Mr Mamadou K. TOURE	Cardiologie
Mr Mahamane MAIGA	Néphrologie
Mr Baba KOUMARE	Psychiatrie, Chef de DER
Mr Moussa TRAORE	Neurologie
Mr Issa TRAORE	Radiologie
Mr Mamadou M. KEITA	Pédiatrie
Mr Hamar A. TRAORE	Médecine Interne

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Toumani SIDIBE	Pédiatre
Mr Bah KEITA	Pneumo-Phtisiologie
Mr Boubacar DIALLO	Cardiologie
Mr Dapa Aly DIALLO	Hématologie
Mr Somita KEITA	Dermato-Leprologie
Mr Moussa Y. MAIGA	Gastro-entérologie
Mr Abdel Kader TRAORE	Médecine Interne

3. MAITRES ASSISTANTS

Mr Mamadou DEMBELE	Médecine Interne
Mr Mamady KANE	Radiologie
Mme Tatiana KEITA	Pédiatrie
Mr Diankiné KAYENTAO	Pneumo-Phtisiologie
Mme TRAORE Mariam SYLLA	Pédiatrie
Mr Siaka SIDIBE	Radiologie
Mr Adama D. KEITA	Radiologie

4. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Mr Bou DIAKITE	Psychiatrie
Mr Bougouzié SANOGO	Gastro-entérologie
Mr Saharé FONGORO	Néphrologie
Mr Bakoroba COULIBALY	Psychiatrie
Mr Kassoum SANOGO	Cardiologie
Mr Seydou DIAKITE	Cardiologie
Mme Habibatou DIAWARA	Dermatologie
Mr Mamadou B. CISSE	Pédiatrie
Mr Arouna TOGORA	Psychiatrie
Mme SIDIBE Assa TRAORE	Endocrinologie

5. ASSISTANT

Mr Cheick Oumar GUINTO	Neurologie
------------------------	------------

5. ASSISTANTS CHEF DE CLINIQUE

Mr Abdoulaye DIALLO	Ophtalmologie
Mr Mamadou L. DIOMBANA	Stomatologie
Mr Sékou SIDIBE	Orthopédie. Traumatologie
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie - Réanimation
Mr Filifing SISSOKO	Chirurgie Générale
Mr Tiéman COULIBALY	Orthopédie Traumatologie
Mme TRAORE J. THOMAS	Ophtalmologie
Mr Nouhoum ONGOIBA	Anatomie & Chirurgie Générale
Mr Zanafon OUATTARA	Urologie
Mr Zimogo Zié SANOGO	Chirurgie Générale
Mr Adama SANGARE	Orthopédie - Traumatologie
Mr Youssouf COULIBALY	Anesthésie - Réanimation
Mr Samba Karim TIMBO	ORL
Mme Konipo Fanta TOGOLA	ORL
Mr Sanoussi BAMANI	Ophtalmologie
Mr Doulaye SACKO	Ophtalmologie
Mr Issa DIARRA	Gynéco-Obstétrique
Mr Ibrahim ALWATA	Orthopédie - Traumatologie

D.E.R. DE SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS

Mr Daouda DIALLO	Chimie Générale & Minérale
Mr Bréhima KOUMARE	Bactériologie-Virologie
Mr Siné BAYO	Anatomie-Pathologie-Histoembryologie
Mr Gaoussou KANOUTE	Chimie analytique
Mr Yéya T. TOURE	Biologie
Mr Amadou DIALLO	Biologie Chef de D.E.R.
Mr Moussa HARAMA	Chimie Organique
Mr Ogobara DOUMBO	Parasitologie - Mycologie

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Yénimégué Albert DEMBELE	Chimie Organique
Mr Anatole TOUNKARA	Immunologie
Mr Flabou BOUGOUDOGO	Bactériologie - Virologie
Mr Amadou TOURE	Histoembryologie

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Massa SANOGO	Chimie Analytique
Mr Bakary M. CISSE	Biochimie
Mr Abdrahamane S. MAIGA	Parasitologie
Mr Adama DIARRA	Physiologie
Mr Mamadou KONE	Physiologie

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Mahamadou CISSE	Biologie
Mr Sékou F.M. TRAORE	Entomologie médicale
Mr Abdoulaye DABO	Malacologie, Biologie Animaux
Mr N'yenigüe Simon KOITA	Chimie organique
Mr Abdrahamane TOUNKARA	Biochimie
Mr Ibrahim I. MAIGA	Bactériologie - Virologie
Mr Benoît KOUMARE	Chimie Analytique
Mr Moussa Issa DIARRA	Biophysique
Mr Amagana DOLO	Parasitologie
Mr Kaourou DOUCOURE	Biologie

D.E.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEUR

Mr Boubacar Sidiki CISSE Toxicologie

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Arouna KEITA Matière Médicale
Mr Ousmane DOUMBIA Pharmacie Chimique

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Boukassoum HAIDARA Législation
Mr Elimane MARIKO Pharmacologie, Chef de D.E.R.

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Drissa DIALLO Matières Médicales
Mr Alou KEITA Galénique
Mr Ababacar I. MAIGA Toxicologie
Mr Yaya KANE Galénique

D.E.R. DE SANTE PUBLIQUE

1. PROFESSEUR

Mr Sidé Yaya SIMAGA Santé Publique, Chef de D.E.R.

2. MAITRE DE CONFERENCES AGREGE

Mr Moussa A. MAIGA Santé Publique

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Yanick JAFFRE Anthropologie
Mr Sanoussi KONATE Santé Publique

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Bocar G. TOURE Santé Publique
Mr Adama DIAWARA Santé Publique
Mr Hamadoun SANGHO Santé Publique
Mr Massambou SACKO Santé Publique

CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES

Mr N'Golo DIARRA	Botanique
Mr Boubou DIARRA	Bactériologie
Mr Salikou SANOGO	Physique
Mr Bokary Y. SACKO	Biochimie
Mr Sidiki DIABATE	Bibliographie
Mr Boubacar KANTE	Galénique
Mr Souleymane GUINDO	Gestion
Mme DEMBELE Sira DIARRA	Mathématiques
Mr Modibo DIARRA	Nutrition
Mme MAIGA Fatoumata SOKONA	Hygiène du Milieu
Mr Arouna COULIBALY	Mathématiques
Mr Mamadou Bocary DIARRA	Cardiologie
Mr Mahamadou TRAORE	Génétique
Mr Souleymane COULIBALY	Psychologie Médicale

ENSEIGNANTS EN MISSION

Pr. A.E. YAPO	BIOCHIMIE
Pr. M.L. SOW	MED. LEGALE
Pr. Doudou BA	BROMATOLOGIE
Pr. M. BADIANE	PHARMACIE CHIMIQUE
Pr. Babacar FAYE	PHARMACODYNAMIE
Pr. Eric PICHARD	PATHOLOGIE INFECTIEUSE
Pr. Mounirou CISSE	HYDROLOGIE
Dr. G. FARNARIER	PHYSIOLOGIE

DÉDICACES

Je dédie ce travail

A ALLAH Le Tout Puissant

Et à son prophète **Mahomet**, que la bénédiction de Dieu soit sur lui.

A mon père, Boukary Traoré

Les mots me manquent pour exprimer les sentiments qui m'animent envers toi, car tu a été toujours à la hauteur de mes attentes.

C'est les fruits de ta bienveillance et ton amour pour moi.
Que **Dieu** t'accorde bonheurs et longévité auprès de nous.

A mes mères

Bintou Konaté

Brave et courageuse que tu es, je ne pourrais te récompenser de l'affection que tu me porte.
Ce travail est le fruit de ton dévouement et de tes ambitions pour la cohésion et la réussite de notre famille.

Que Dieu t'accorde bonheurs et longévité auprès de nous.

Massitan Haïdara

Femme de principe, tu as toujours été de cœur avec moi ; la bonne éducation que j'ai réussit de toi ma permis de frayer un chemin dans la vie. Je ne pourrais te remercier de ça.

Que **Dieu** t'accorde bonheurs et longévité auprès de nous.

A mes sœurs

Ramatoulaye Traoré, Kadiatou Traoré, Ba Oumou Traoré Salimata Traoré et Souadou Traoré.

A mes frères

Mohamed Traoré, Modibo Traoré, Ousmane Traoré, Boubou Traoré, Cheik Sadibou Traoré, Ali Traoré et Nouhoum Traoré.

Je voudrais que ce travail soit pour vous un exemple de courage et d'incitation à mieux faire.
Qu'Allah le tout puissant nous accordent bonheur et longévité.

A mes tantes

Awa Traoré, Sitan Traoré, Feu Tenin Traoré et Minata Traoré

Mes tontons

Abdou Traoré, Sidiki Traoré

Trouvez à travers ce modeste travail, l'expression de mon amour profonde et ma très grande gratitude.

À L'adjudant Étienne Goïta et Mme Goïta Safoura Konaté

Je n'oublierais jamais vos aides inestimables durant les années que j'ai passé auprès de vous.

Trouvez à travers ce modeste travail, l'expression de mon amour profonde et ma très grande gratitude

A toute mes cousines

Awa Goïta, Fatoumata Goïta et Oumou Coulibaly

A Mes Cousins Modibo Coulibaly, Yacouba Coulibaly, Amadou Goïta,

A **Mr. Mamadou Doumbia** et **Mme Doumbia Tapita Sidibé**, pour votre bienveillance, votre soutien moral à mon égar.

Trouvez à travers ce modeste travail, l'expression de mon amour profonde et ma très grande gratitude

À mon oncle, **Souleymane Goïta** et famille et toute la famille **Goïta** à Korofina, pour votre soutien et encouragement.

A mes amis

Aboulaye Chouaïbou, Abbas Doumbia, Yousof Diakité, Kassim Doumbia, Moussa Sogoba Dirra Traoré, Fousséni Traoré Et Samba Diarra.

Soyez toujours guidé par des actions lucides.

Courage et bonne chance pour la vie.

Qu'Allah le tout puissant nous accordent longévité dans le bonheur et l'unité.

À **Mlle Ramatoulaye Kanté** et toute sa famille à Kalanban-koura

Que ce travail soit le plus fort témoignage de mon amour.

REMERCIEMENTS

A toutes les personnes qui m'ont appuyer et entouré tout au long de ma formation.
Je vous exprime ma reconnaissance.

Au Dr Amadou B Traoré pharmacien à Institut d'Ophtalmologie Tropicale de l'Afrique, pour votre assistance permanente et vos conseils.

Identifiez-vous à travers ce travail qui a été réalisé grâce à votre apport.

Au Dr Badara Aliou Komou pharmacien bactériologiste au CHU Gabriel Touré pour tout vos services rendus durant la réalisation de travail

Au Pr. Anne Marie Leflohic au CHU de Brest pour votre apport dans la réalisation de ce travail.

Au personnel de l'I.O.T.A.

Commandant Mamadou Sory Dembélé, Mamadou Coulibaly, Ibrahim Diallo Mme Diané Tata pour votre sympathie

A mes collègues de promotion : Brahim Kané, Boubakar B Keïta, Mamadou S Koné Guèda Maguiraga, Sabou Diakité, Malik Traoré, Syndy Berthé, Mamadou Dembélé
Pour nos échanges fructueux.

À mes collègues étudiants de I.O.T.A: Fatoumata Kansaye, Dr Adboulaye Traoré, Ana
Pour leur collaboration fructueuses
À Alkaya Touré pour votre sympathie

Au Dr Koné Doua à Officine Oumar Sangaré à Sabalibougou, pour vos sages conseils.

Au Dr Bocoum Fatoumata Sidibé à officine à Baco-Djicoroni, pour votre sympathie et votre confiance.

Au corps professoral de la F.M.P.O.S.
Ce travail est le vôtre.

AUX MEMBRES DU JURY

A notre maître,

*Pr Flabou Bougoudogo
Maître de conférence, agrégé en bactériologie,
virologie à la F.M.P.O.S
Chef du service de bactériologie et de virologie à
I.N.R.S.P.*

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider ce jury malgré votre multiple occupations. Maître éminent qui se distingue par sa modestie à la faculté aussi bien qu'au service.

Nous avons eu la chance de bénéficier de vos compétences au cours de notre cycle. Votre simplicité, votre gentillesse et vos connaissances en bactériologie font de vous un homme respecté.

Veuillez accepter ici, cher maître, l'expression de nos sincères remerciements et de notre profonde gratitude.

A notre maître,

*Dr Drissa Diallo,
Maître assistant de matière médicale.
Chef du service de botanique de la D.M.T, chargé
des cours de pharmacognosie à la F.M.P.O.S*

La clarté de vos enseignements, votre rigueur scientifique et votre amour du travail bien fait, nous ont très impressionnés au cours de notre formation.

Vous nous faites un grand honneur en acceptant d'être membre de ce jury.

Veuillez trouver ici, cher maître l'expression de notre profonde et respectueuse gratitude.

A notre maître,

*Dr Lamine Traoré,
Ophtalmologiste, chercheur à l'I.O.T.A*

Vous nous avez aussi guidé dans l'élaboration de ce travail.

Votre amour pour la recherche, votre sérieux dans le travail et l'attention particulière que vous portez à l'encadrement des étudiants à l'I.O.T.A. font de vous un homme exemplaire.

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de prendre part à ce jury.

Veuillez trouver ici, cher maître l'expression de nos sincères remerciements

A notre maître et directeur de thèse,

*Dr Jean-François SCHEMANN
Ophtalmologiste, Responsable du service de
département recherche et santé publique .*

Avec votre bienveillance et constante amabilité, vous nous avez guidé au cours de l'élaboration de ce travail. Vos immenses qualités humaines et votre dévouement à la recherche à l'I.O.T.A. sont exemplaires pour tous les hommes de science.

Veuillez trouver ici, cher maître, l'expression de notre profonde et sincère reconnaissance.

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

C.P.T	collyres préparés traditionnellement
C.C.T	collyres collectés auprès des tradithérapeutes
C.E.U	collyres en cours d'usages
C.E.P	collyres préparés avec l'eau de puits
C.E.R	collyres préparés avec l'eau de robinet
C.H.U	centre hospitalo-universitaire
F.M.P.O.S	faculté de medecine de pharmacie et d'odonto-stomatologie
D.M.T	département de médecine traditionnelle
I.N.R.S.P	institut national de recherche en santé publique
I.O.T.A	institut ophtalmologie tropical de l'Afrique de l'Ouest
L.C.R	liquide céphalo-rachidien
M.T.A	médicaments traditionnelle améliorés
M.E.M	minimum essential medium
U.F.C	unité formant des colonies
U.S.A	Unitide State of America

Introduction

I- INTRODUCTION

Dans les pays en voie de développement, la médecine traditionnelle occupe une place importante. De nombreux patients consultent en premier les tradithérapeutes qui sont plus accessibles et souvent moins coûteux que les thérapeutes modernes.

En 1998 à Bamako (Mali), une enquête a été réalisée par l'Institut d'Ophtalmologie Tropicale de l'Afrique (I.O.T.A.) en collaboration avec la Direction Nationale de Médecine Traditionnelle (D.M.T) (13) auprès des tradithérapeutes et herboristes afin de recenser des remèdes utilisés traditionnellement pour traiter les affections oculaires. Cette enquête a permis de répertorier 60 recettes traditionnellement utilisées dans le traitement des affections oculaires. Il est apparu au cours de cette enquête, que ces recettes sont obtenues à partir des plantes médicinales après macération ou décoction. Cette enquête a aussi montré que ces eaux destinées à l'alimentation et l'hygiène corporelle qui sont utilisées pour préparer ces recettes.

À Bamako et à Kati (ville voisine de Bamako) des études ont montré que ces eaux destinées à l'alimentation et l'hygiène corporelle peuvent être contaminées par : des bactéries, des champignons ou par des amibes libres (15, 13).

Par ailleurs au Malawi et en Tanzanie des études ont montré que l'usage de médicaments traditionnels dans les yeux pourrait favoriser ou aggraver des infections ou de surinfection oculaire (9, 18, 31,).

Ces constats nous ont incité à entreprendre une étude de la contamination par les micro-organismes contaminants des recettes traditionnellement utilisées dans le traitement des affections oculaires.

Notre travail vise à mettre en évidence dans ces recettes les micro-organismes contaminants : bactéries, champignons et amibes libres, à faire ressortir l'influence de la qualité de l'eau utilisée et du mode de préparation sur la contamination des C.P.T..

Objectifs

II. OBJECTIFS

II-1 général

Étudier la contamination par les micro-organismes des collyres préparés traditionnellement

II-2 spécifiques

- 1- Cibler les préparateurs et les suivre dans leurs pratiques quotidiennes : conditions et modes. de préparations, de conservations, d'utilisation et qualité de l'eau utilisée.
- 2- Déterminer les micro-organismes contaminants : bactéries aérobies (Entérobactéries, Staphylocoques et Streptocoques), champignons et amibes libres
- 3- Faire un dénombrement bactérien de ces collyres.
- 4- Déterminer l'influence de la qualité de l'eau et du mode de préparation sur la contamination microbienne des collyres préparés traditionnellement.

Généralités

III. GÉNÉRALITÉS

III- 1 : Aperçu sur la médecine traditionnelle au Mali

II-1-1: Définition (14)

La médecine traditionnelle au Mali, se définit comme l'ensemble de toutes les pratiques, de toutes les connaissances basées sur les fondements sociaux, culturels et religieux des collectivités, s'appuyant sur des expériences vécues et les observations transmises de génération en génération oralement ou par écrit et utilisées pour diagnostiquer, prévenir ou éliminer un déséquilibre du bien-être physique, mental ou social(14).

II-1-2: Les acteurs de la médecine traditionnelle au Mali

Les principaux acteurs de la médecine traditionnelle au Mali sont :

- La direction nationale de médecine traditionnelle (D.M.T), institution chargée de la promotion, du développement et de la recherche en médecine traditionnelle.
- Les tradithérapeutes. Au Mali est défini comme tradithérapeute ou tradipraticien, toute personne reconnue par la collectivité où elle vit comme compétente pour dispenser les soins de santé grâce à l'emploi des substances végétales et minérales et d'autres méthodes basées aussi bien sur le fondement social culturels religieux que sur les connaissances, compétences, croyance, liées au bien être physique, mental et social ainsi qu'à l'étiologie des maladies et invalidités prévalant dans la collectivité
- Les accoucheuses traditionnelles : Elles prodiguent à une femme et à son nouveau-né au cours, pendant et après accouchement des soins de santé basés sur les concepts prévalant dans leur collectivité
- Les herboristes : vendeurs de plantes médicinales.
- Les médicaux droguistes : vendeur de substances médicales autres que les plantes

II-1-3 Organisation de la médecine traditionnelle au Mali

Les tradithérapeutes constituent de par leurs nombres et par leur répartition le premier maillon du réseau sanitaire au Mali. Compte tenu de cette place, il a eu un décret présidentiel datant 15 août 1994 N° 94282/ PRM qui porte sur l'exercice privé de la médecine traditionnelle dans trois domaines d'activité (20).

Ils s'agissent de :

- cabinet privé de consultation
- herboristeries
- Unité de production de médicaments traditionnels améliorés.

L'article 4 du même décret fixe les conditions d'exercice privé de la fonction tradithérapeute, herboriste, consultant et de soin traditionnel, production de MTA comme les suivantes :

- Être de nationalité malienne
- Avoir un avis favorable délivré par les services compétents du ministère chargé de la santé.

Il existe à travers le Mali de nombreuse association de tradithérapeutes . Ces associations sont de différents types.

- Nous avons des associations locales ou régionales. Elles regroupent les tradithérapeutes d'une même localité ou d'une même région sans distinction de pratique.

Actuellement il existe 38 à travers le pays et sont repartis de la manière suivante :

- 1 pour la Première région (Kaye)
- 9 pour la deuxième région (Koulikoro)
- 7 pour la troisième région (Sikasso)
- 8 pour cinquième région (Mopti)
- 2 pour la septième région (Gao)
- 11 pour la capitale (Bamako)

- Des associations qui regroupent des tradithérapeutes qui ont en commun la même pratique ou spécialité. Parmi ces associations, nous pouvons noter l'existence de celle des ophtalmologues traditionnels AMPOT (association malienne pour la promotion d'ophtalmologie traditionnelle).

II-1-4: Nosographie traditionnelle

Tableau 1 : des désignations probables des affections oculaires (14).

Dénomination bambara	Symptômes et cause populaires	Maladies oculaires pouvant être évoquées
Nyèdimi	Rougeur des yeux, larmoiement, photophobie et suppuration. Causes : corps étranger dans les yeux, traumatisme, coup de soleil. La vue de certaines choses interdites au regard et jugée maléfiques	Conjonctivites kératite
Térényèdimi	Magico religieuse liées à la personne	Allergies oculaires
Nyamanyèdimi	Manifestations sont : rougeur des yeux, avec ou sans sécrétion : démangeaisons, les cils se cassent sur les yeux et tombent. Cause magico religieuses liées à une notion du destin	Trichiasis
Nyesikari -- nyèsibo Nyèdimi	Chute ou cassure des cils	Trichiasis
Nyè jalent dimi	Symptômes : démangeaison chronique, formation des boutons sur la conjonctive en chapelet visible généralement sur les bords des paupières : on dit que le malade a des poux dans les yeux	Trachome Limbo conjonctivite Endémique des topiques
Kumbabi Nyèdimi	Céphalées frontales qui irradient sur les yeux	Glaucome
Jè	Tâche sur la cornée qui couvrent partiellement, puis totalement la cornée, occasionnant la perte de la transparence de celle ci Causée par céphalées, les traumatismes, conjonctivites compliquées	Taie Cataracte
Falaka	L'œil semble être voilé par une membrane qui diminue l'acuité visuelle	Cataracte
Bugun	Une vision floue comparable au brouillard le jour	Cataracte
Appolo Nyèdimi	Rougeur intense, douleur, sensation de grains de sables dans les yeux	Kérato conjonctivite
Nyèlatiŋ	La vision s'obscurcit	Baisse de l'acuité
Fiyen	Perte de l'acuité visuelle	Cécité
Surò fiyen	Due à l'excès de chaleur du soleil, les personnes travaillant sous le soleil sont les plus exposées, héréditaire selon certains thérapeute	Héméralopie
Mara Nyèdimi	Les yeux deviennent noirs et reste en mydriase, maux de tête violants, larmoiement, narine qui coules, photophobie conduisant à la cécité	Onchocercose

III -2 : les amibes libres

III-2-1: Définition (24)

Les amibes libres sont des protozoaires sans parois, mobiles par pseudopode, se nourrissant de bactéries, cultivées à 30°C. Ce sont des indicateurs biologiques à préserver dans les rivières mais à limiter dans les piscines et réseaux d'adduction d'eau (où leur richesse biologique s'appelle saleté).

III-2-2: Habitats (29)

Les amibes libres vivent dans les eaux douces de surface (mares, fleuves, lacs) propres ou polluées, froides ou chaudes. Ubiquitaires, elles se trouvent sur tous les continents (Europe, en Asie, en Afrique et en Australie).

A partir des eaux de surface, elles peuvent envahir l'environnement humain : réseaux d'adduction des eaux, piscines, affluents des centrales thermiques, bacs de refroidissement des centrales, culture cellulaire et étuves de laboratoire.

A partir de leur milieu naturel, elles peuvent être dispersées dans l'air ambiant et le sol.

Au Mali ces amibes libres ont été trouvées dans les eaux douces de surface (15).

Deux genres : *Naegleriae* et *Acanthamoeba* ont un intérêt médical.

III-2-3: Morphologie et cycle évolutif de *Naegleriae* et *Acanthamoeba*

Les genres *Naegleriae* et *Acanthamoeba* présentent un cycle évolutif à deux stades : le stade kystique et le stade trophozoïte

- *Naegleriae* spp :

Les trophozoïtes de *Naegleriae fowleri* mesurent de 15 à 35 μm . se déplacent en émettant des lisses protubérances polaires (pseudopodes) La partie postérieure massive, porte de nombreux filaments (flagelles).

Lorsque les conditions de vie du milieu deviennent défavorables, les trophozoïtes donnent naissance aux kystes. Ces kystes sont généralement sphériques et mesurent 7 à 15 μm . Les kystes peuvent avoir un ou plusieurs pores.

- *Acanthamoeba* spp.

Les trophozoïtes sont massifs, et montrent au niveau de la partie extérieure du cytoplasme (ectoplasme) hyalin à base large hérissée de petits pseudopodes en pointes : les acanthopodes.

Les mouvements induits par les pseudopodes sont directionnels, mais très lents.

Ces trophozoïtes donnent l'impression de glisser sur le substrat.

Le reste de la cellule, aspect fortement granuleux comporte de nombreux éléments dont certains sont bien visibles au microscope optique (en contraste de phase) comme les vacuoles contractiles et digestives, inclusions variées et noyau.

Le noyau de 5 μm . situé le plus souvent dans la partie médiane du trophozoïte présente un gros caryosome centrale entouré d'un hialoplasme clair limité à l'extérieur par une membrane nucléaire.

Le noyau, plus souvent unique peut être triple ou double.

Les kystes de résistance et de dissémination : (16 à 25 μm) se présentent sous forme polygonale (le plus souvent) avec une paroi complexe comportant une couche externe (exine) et une couche interne (intine) dont la fusion permet la constitution de pores obturés par des opercules internes

triangulaires. Au sein du kyste, l'amibe conserve un noyau unique et les organites retrouvés chez le trophozoite à l'exclusion de la vacuole contractile et des vacuoles digestives. Lors du dekystement, l'arrachement de l'un des opercules permet la sortie du trophozoite en force avec étirement et striction caractéristique au niveau du pore.

Le kyste permet la caractérisation taxinomique des différentes espèces constitutives du genre.

III-2-4: Nutrition.

La nutrition des amibes libres est assurée par la phagocytose dans la nature et dans le milieu de culture monoxénique. Leur préférence est nette pour les germes d'origine fécale, tels que les entérobactéries. Dans les tissus humains, ce processus de phagocytose est conservé et éventuellement associée à une pynocytose.

III-2-5: Résistance

Leur résistance à la chaleur, au froid, à la dessiccation peut être importante, mais elle est faible pour les eaux salées. La résistance aux différents produits de désinfection, chlore et brome dans les piscines, est forte pour les kystes et faible pour les trophozoites.

III-2-6: Pouvoir pathogène des amibes libres (26, 27).

Nagleriae fowlerie, et des espèces qui appartiennent au genre *Acanthamoeba* (*Acanthamoeba culhersonie*, *Acanthamoeba castéllanii*, *Acanthamoeba polyphaga* et *Acanthamoeba astonyxis*) peuvent causer des affections humaines.

Le pouvoir pathogène de ces espèces peut s'exercer chez l'homme à différents niveaux :

III-2-6-1: Les atteintes cérébrales.

(granulomatous amibic encephalitis) «GA» due à des espèces du genre *Acanthamoeba* : *castéllanii*, *polyphaga*.

PAM (primary amibic menengo encephalitis) due à l'espèce *Naglerie fowlerie*.

Les pathologies amibiennes cérébrales surviennent essentiellement chez les dénutries, les immuno-déprimés et chez des malades atteints des maladies graves (cancers, SIDA, hémopathie malignes) et sont relativement rares.

III-2-6-2: Les atteintes oculaires.

Dues essentiellement aux espèces appartenant au genre *Acanthamoebae*, sont les manifestations pathogènes les plus fréquentes.

Elles peuvent survenir :

- Suite à un traumatisme oculaire par projection dans l'œil d'un ou des esquilles de bois, terre, souillées par les amibes présentes dans le milieu extérieur.

- Chez des porteurs de lentilles de contacts après rinçage de leurs lentilles dans de l'eau souillée

- Chez des sujets ni traumatisés, ni porteurs de lentilles, mais habitant des régions à climat sémi désertique comme le Mali en Afrique et la province Madura en Inde.

Les kératites amibiennes sont les atteintes oculaires les plus rencontrées. Non traitée, elles peuvent conduire à l'ulcères cornéennes même la cécité.

Connus depuis 1973 dans les pays industrialisés où elles touchent plus de 80% des porteurs de lentilles de contact et 20% des traumatisés oculaires.

Dans les pays en voie de développement elles ont été rapportées en 1990 en Inde et en 1991 au Mali.

A Bamako plus de ¼ des ulcères cornéens chroniques sont dues aux kératites amibiennes(29). Ces kératites dans la moitié des cas surviennent chez un œil sain non traumatisé. Ainsi les conditions climatiques particulièrement durs au Mali ; inoculation des eaux douces de surfaces retrouvées polluées et utilisées soit lors de la toilette soit lors de la préparation des médicaments traditionnels à viser oculaires seraient des facteurs favorisants.

Incubation

L'incubation qui suit le dépôt sur la cornée de kystes amenés au contact par le doigt sale, la lentille de contact insuffisamment nettoyée ou rincée à l'eau du robinet, les objets contondants (eau, épis de céréales, brin d'herbe, les esquilles de bois), le vent poussiéreux est vraisemblablement très brève et se caractérise tout au plus par une sensation de gêne et un discret larmoiement.

Affection

L'affection se caractérise très tôt dans 60% des cas par une sensation douloureuse de corps étrangers avec larmoiement, et dans 30% des cas par une photophobie. La rougeur oculaire, la baisse de l'acuité visuelle et l'œdème palpébral, sont fréquents. L'examen à la lampe à fente révèle au tout début de l'évolution, l'existence d'élévures cornéennes linaires, élévures qui tradiraient le cheminement des trophozoïtes entre les couches cornéennes superficielles. Mais, le plus souvent l'examen met en évidence un aspect trompeur de kératite herpétique dendritique avec large ulcère superficiel et bourrelet immunitaire périphérique. Un écoulement sérieux jaune clair et épais complète le tableau et englué les cils.

Évolution

L'évolution de la maladie est plus ou moins rapide avec extension des lésions en surface et en profondeur, et des périodes transitoires d'amélioration ou d'aggravation, souvent corrélées avec l'instauration d'une nouvelle thérapeutique. Lorsque le diagnostic n'est pas instauré à temps et ou s'avère inefficace, la progression en profondeur des amibes se poursuit avec atteinte de la chambre antérieure, puis de la chambre postérieure, de la rétine et enfin métastase cérébrale soit par voie hémato-gène, soit par voie nerveuse, le long du nerf optique.

Le diagnostic.

Le diagnostic, fortement évoqué sur les aspects cliniques de début d'évolution, repose dans un premier temps sur la mise en évidence des kystes sur le frottis cornéen par une coloration de Gram. Le frottis cornéen typique présente des cellules cornéennes large, et plus ou moins altérées, un important infiltrat inflammatoire à polynucléaires neutrophiles, et des kystes plus ou moins polygonaux, colorés en violet, et marqués par une taille inégale, un centre plus clair et une double paroi. Un écouvillonnage sur coton permettra ultérieurement de vérifier la sensibilité médicamenteuse *in vitro* de la souche et son identification précise. La mise en évidence de l'agent pathogène peut également être obtenue par biopsie cornéenne, et bien sûr, avec examen anatomopathologie de la pièce de kératoplastie. Le diagnostic sérologique s'avère le plus souvent décevant puisque seuls quelques malades (maliens notamment) présentent un taux élevé d'anticorps spécifiques, les autres présentant un taux similaire, voire même inférieur, à celui de la population témoin. En outre, aucune technique de sérodiagnostic fiable n'est encore au point, l'immunofluorescence proposée le plus souvent s'avérant gênante dans la mesure où les kystes sont spontanément fluorescents.

III-2-7: Méthodes d'études des amibes libres (3, 7, 24).

III-2-7-1: les milieux de cultures.

Les milieux liquides

- Saline solution : C'est un milieu non nutritif. Il peut être enrichi pour obtenir de milieux nutritifs liquides ou solides.

- Milieu liquide de Agar : C'est un milieu de transport des amibes en croissance

Modifie Neff's amiba saline (AS) : C'est un milieu liquide de croissance composée de :

Bufferd saline -----850 ml

Sérum de cheval-----50ml

1% marmite solution-----100 ml

Les différentes composantes sont préparées séparément par dissolution dans 100ml d'eau distillée, puis mélanger. La solution est ensuite répartie dans les tubes avec une pince d'amidon de riz chauffé à 150° pendant deux heures

- Protéose-peptone—levure : milieu de croissance composé :

Peptone protéose -----20g

Extrait de levure -----2.5g (*Tetrahymenes pyriformis*)

Eau distillée -----1000 ml

Les milieux solides d'Agar

Ce sont des milieux solides à base d'OXOIDE Agar ou Difco-Bacto agar. L'agar est dissout dans l'eau par ébullition. La solution (géluse) obtenue est répartie dans des boîtes de pétri.

Les milieux sont conservés au frais avant leur usage.

Parmi les milieux solides nous avons :

- Milieux agar non nutritif : AS 1 litre – 15g de produits Difco-Oxoide

- Céréal/ glucose agar (C MA) composé de,

Difco-corneal-Agar -----17g

Extrait de levure -----1g

Eau distillée -----1000ml

- Milieux d'Agar nutritif : Constitué de bactéries en croissance (*Escherchia coli* ou d'autre entérobactérie) sur la géluse d'Agar. C'est un milieu de croissance pour les amibes.

III-2-7-2: méthodes de cultures et isolement des amibes libres

Culture des prélèvements biologiques :

- L. C. R : il est centrifugé à 1000tr/s pendant 5 à 8 mn. Le surnagent est enlevé avec une pipette sérologique. Le sédiment est remué avec une pipette pasteur stérile. 2 à 3 gouttes de ce sédiment sont étalées sur la géluse solide coulée en boîte de pétri recouvert d'entérobactéries. La culture est ensuite incubée à 37° C.

- Les prélèvements de tissus : une pièce de tissu prélevé est triturée avec une petite quantité d'amibe saline solution (A.S). 2 à 3 gouttes de cette solution sont étalées sur la gélose couverte d'entérobactéries et incubé à 37° C.
- Pour l'eau et la terre: On procède de la même manière respectivement comme pour le L.C.R et les tissus.

Obtention des cultures pures :

Les cultures pures d'amibes peuvent être faites sur des milieux comme : peptone protéose extrait de levures ; sur milieu tripcase soja (bouillon) ou sur des milieux minéraux spéciaux. La surface d'une gélose portant une culture d'amibe en pleine croissance (de 24 à 36 heures d'incubation) est raclée avec quelque ml de SA. La suspension obtenue par raclage (contenant des amibes) est centrifugée. Après avoir jeté le surnageant, le culot est inoculé dans le pepton-protéose-extrait de levures ou sur MEM (minimum essential medium with earle's salts) et incubé à 37°C. Ce pendant, la pénicilline et la streptomycine à des concentrations respectives de 400 UI et de 4700mg/ml sont ajoutées au milieu avant inoculation du culot. Trois subcultures sur ces milieux contenant l'antibiotique à une semaine d'intervalles sont suffisantes pour obtenir une culture pure.

Culture cellulaire: Les méthodes utilisées sont celle de la virologie. Des cellules de mammifères comme les reins de singe ou des tissus fibroblastiques de poules peuvent servir à la culture des amibes. Comme pour les virus, certaines amibes libres pathogènes peuvent provoquer un effet cytopathique.

III-2-7-3: les méthodes d'observations

examen directe

Il permet d'observer les amibes sous leur forme normale (trophozoites ou kystes) soit à partir de prélèvements biologiques (LCR, cornéen) soit à partir de cultures

Il est important pour le diagnostic des différentes infections dues aux amibes libres.

Les prélèvements biologiques: (L.C. R. liquide de rinçage de lentilles, prélèvement cornéen) sont centrifugés. Le surnageant est enlevé et le culot est mis en suspension soit dans le AS soit dans le M.E.M.. une goutte de cette suspension est mise entre lame et lamelle. Deux bords de la lamelle sont scellés contre la lame. Puis on laisse la lame au repos pendant quelques heures: 24 à 37 heures à 37°C. À travers les deux ouvertures non scellées, on met de temps à temps une goutte A.S ou de M. E. M

pour éviter la dessiccation du champ. L'observation des lames se fait à objectif x 10 et x 40 le contraste de phase est préférable.

Les amibes peuvent être directement observées à la surface de boîte de cultures renversées. A la température optimale de 37° C, les trophozoites sont facilement observés par leur mouvement directionnel et leurs pseudopodes. Tandis qu'au repos, ils apparaissent sous forme arrondis avec de gros noyaux.

Les kystes se présentent sous forme étoilée (polygonale) avec un ou plusieurs pores.

Examen après coloration:

Des frottis sont réalisés à partir des prélèvements biologiques sur lame. Une petite quantité du culot de centrifugation est portée à la température de 37°C pendant 5 à 10 minutes.

Puis une goutte de ce culot est étendue à la surface d'une lame et séchée

La préparation est ensuite colorée selon objectif recherché

(Avec. hématoxyline: le Gram; le Gymsa) et fixé par le méthanol:

Le frottis coloré est ensuite observé à objectif x100 après immersion dans l'huile.

III-2-7-4: Identification:

Elle est basée sur les caractères suivants:

- mode de déplacement (formes des pseudopodes)
- formes des kystes
- teste de flagellation

III -3: Les champignons contaminants, opportunistes

III -3-1: Définition (2):

Les champignons ou mycètes constituent un règne très important. Heureusement pour l'homme, seul un nombre restreint de champignons sont pathogènes. Ce sont des Eucaryotes possédant un noyau et une paroi cellulaire composée de chitine.

Les champignons peuvent se présenter sous forme unicellulaire (levures) ou pluricellulaire, lorsque les cellules s'allongent pour former des filaments ou hyphes qui constituent le mycélium.

Les champignons vrais ou Eumycètes sont divisés en quatre principaux embranchements; les Zygomycètes; les Basidiomycètes les Ascomycètes et les Deutéromycètes (ou fungi imperfecti).

Les différents embranchements se distinguent par leur mode reproduction:

- Les Zygomycetes, peuvent avoir une reproduction sexuée, les zygotes se formant par fusion des extrémités des filaments (gamétantes). On y trouve des genres pathogènes: Mucor et Absidia.

Les Basidiomycètes: Possèdent des spores sexuées externes produites par des cellules en forme de massues appelées basides (*Cryptococcus neoformans*).

- Les Ascomycetes: forment des spores sexuées à l'intérieur d'un asque

- Les Deuteromycetes: Appelés champignons imparfaits (fungi imperfecti), car on n'a pas pu mettre en évidence chez eux de reproduction sexuée. Ils forment des spores ou conidies.

Les principaux pathogènes genres pathogènes pour l'homme appartiennent au fungi imperfecti.

III -3-2: Pathologie (5)

Très répandus dans la nature (plus de 100000 espèces). les champignons peuvent se trouver au niveau de la flore conjonctival comme de simples contaminants saprophytes. Ainsi ils peuvent devenir pathogènes pour l'œil par suite de traumatisme. antibiothérapie associée à une corticothérapie, surinfection due à l'usage des collyres contaminés.

Le traumatisme peut être; soit d'origine végétale (écorchure par épine, bout de branche ...), soit une introduction de corps étranger dans l'œil (morceau de métal, sable, pierre.)

Toutes les parties de l'œil peuvent être atteintes: voie lacrymal, conjonctive, paupières, orbites, cornée.

L'atteinte de la corné est la plus fréquente (15).

L'atteinte cornéenne peut être :

soit une kératite primitive avec forme superficielle, nodulaire, peu inflammatoire et une forme profonde, ulcéreuse, qui aboutit à une perforation.

soit une kératite secondaire à une lésion préexistante (herpès) avec un aspect clinique beaucoup moins évocateur. Elle est devenue plus fréquente à la suite de traitement antibiotique et corticoïde

III -3-3: Diagnostic des mycoses oculaires au laboratoire

III -3-3-1: Le prélèvement

Il varie selon la localisation.

- Lorsqu'il s'agit d'une blépharite, quelques squames sont arrachées avec une pince fine. Ils sont étalés ensuite à l'aide d'un vaccino-stylo, entre lame et lamelle. Avec une pince à épiler, un ou plusieurs cils sont arrachés et placés entre deux lames.
 - Pour une affection des voies lacrymales, les sécrétions (ou concrèments) sont étalées sur une lame.
 - Lorsqu'il s'agit d'une conjonctivite, l'épithélium est raclé à l'aide d'un vaccino-stylo ou une anse de platine.
 - Les kératites ou ulcères : le bord de la lésion est gratté à l'aide d'un fin couteau ou d'une anse de platine. Il ne faut pas hésiter à racler l'ulcère, de façon à obtenir le maximum de produit biologique.
- Infection intra oculaire: une ponction au niveau de la chambre antérieure, de la cavité vitrée ou de l'espace sous-rétinien à l'aide d'une aiguille relativement grosse, si l'on veut pouvoir aspirer des champignons filamenteux.

III -3-3-2: Analyse des prélèvements

examen direct

- préparation non colorée

L'examen de préparations non colorées, placées entre lame et lamelle s'applique surtout aux squames et aux cils

Les squames, provenant d'une blépharite, sont examinées dans une solution de KOH à 30%. Deux ou trois gouttes de cette solution sont déposées sur une lame avec quelques squames. Puis l'ensemble est couvert par une lamelle. Cette préparation est prudemment chauffée au-dessus de la flamme d'un bec Bunsen jusqu'au moment où les squames soient éclaircies (ne pas faire bouillir la préparation). Après une demi-heure, elle est examinée au microscope.

Des squames très fines ou de cils, ils peuvent être examinés directement après les avoir placés dans une goutte de lactophénol ou chlorophénol sur une lame, après un chauffage.

Ces deux réactifs permettent de voir facilement les hyphes et les levures sans altération ou modification de leur forme. Le prélèvement placé dans le lactophénol peut être encore ensemencé sur les milieux de culture.

- préparation colorée.

Des préparations fixées ou non entre lame et lamelle, peuvent être colorées.

Coloration de préparations non fixée: les colorants suivants peuvent être utilisés :

Le bleu de coton G4B de Poirrier, (qui est un bleu d'aniline acide). Il colore en bleu sur fond incolore. Il est utilisé en solution à 0,5% dans le lactophénol ou à 0,1% dans l'acide lactique. L'encre de chine est aussi utilisée. Dans ce cas, les éléments à examiner sont émulsionnés dans l'encre de chine. Après les avoir étalés et dessécher sur lame, la préparation couverte par une goutte d'huile de cèdre et d'une lamelle est observée au microscope (aux objectifs x10 et x40)

Coloration des préparations fixées: Les principales méthodes de coloration sont la technique de Gram (les levures et champignons filamenteux sont Gram positif), Giemsa, Ziehl-Neelsen.

examen microscopique après culture(2)

- techniques de la culture sur lame gélosée (Rivalier et Sydel)

Tremper une lame préalablement flambée dans la gélose maintenue à 60°C.

Poser cette lame sur le chevalet qui a été introduit dans une boîte de pétri.

Mettre au fond de la boîte quelques millilitres d'eau stérile pour éviter la dessiccation.

Ensemencer le centre de la lame avec un fragment de mycélium jeune en plein développement

Après un développement jugé suffisant, enlever de la lame la gélose en excès, faire sécher la lame à l'étuve à 37°C, et fixer par une grosse goutte d'alcool absolu, colorer (bleue de méthylène

Déshydrater (alcool absolu, toluène ou par le baume.)

Observer la lame colorée aux objectif x10 et x 40

- Méthode du carré de gélose

La culture se fait sur les quatre côtes d'un petit parallélépipède de gélose Sabouraud (15mn X 15mn) de 2 mn d'épaisseur disposée sur la lame et recouvert d'une lamelle.

Après culture la lamelle est enlevée et le carré de gélose est rejeté.

Des filaments et organes du champignon adhèrent au verre. La lame est montée d'une part avec une lamelle neuve et d'autres part la lamelle avec une lame neuve dans du bleu de méthylène qui sont ensuite examinées aux objectif x10 et x 40

III -3-4: les milieux de culture

Les milieux de cultures: les plus appropriées sont: Le milieu de Sabouraud glucosé ou le moût de bière gélosé. Certains champignons nécessitent cependant des milieux spéciaux.

Il est important de faire une culture à 25°C et une autre à 37°C. Cela permet généralement d'étudier les deux phases d'un champignon, la phase mycélienne et la phase levure. Elle permet aussi une différenciation des champignons saprophytes dont la plus part ne se développent pas à 37°C

Principaux milieux de cultures et compositions

- Milieux de Sabouraud glucosé :

Glucose pur -----2g

Néopeptone (difco)-----1g

Agar- agar -----2g

Eau de ville -----QSP 100ml

Répartir à raison de 10ml par tubes. Autoclaver pendant 20 mn à 120°C. Incliner de façon à obtenir un culot de 1 cm

- Moût de bière :

Moût de bière blonde non houblonné -----200g

Eau distillée -----1000g

Chauffer à 45°C puis à 70°C en montant de 1°C par minute pendant au moins une minute.

En tout cas jusqu'à la coloration à l'iode qui montre que l'amidon a disparu.

Filtrer puis coller au blanc d'œuf (1 blanc d'œuf pour 2 litres).

Autoclaver pendant 45 mn à 125° C

Ramener à 1 litre et stériliser à 110°C.

- Milieu de Sabouraud-P. A. S.

C'est le milieu de Sabouraud glucosé additionner de

Pénicilline -----20 UI/ml

Actidione-----0.5 mg/ml

Streptomycine-----40 UI/ml

Ce milieu inhibe le développement des bactéries, mais aussi des champignons saprophytes(à cause de actidone). Par contre, la plus part champignons pathogènes se développent sélectivement.

III –3-5: Critères d'identification des champignons(2, 5)

L'étude d'un champignon porte sur la morphologie macroscopique et microscopique de la souche considérée.

III –3-5-1: Aspect macroscopique

Dans un premier temps, on étudie:

- ◆ Vitesse de développement des colonies sur milieu de Sabouraud additionné d'antibiotiques. Les levures poussent et sporulent en 24 à 48 h; les filamenteux en 4 à 6 jours.
- ◆ Température optimale de croissance: les champignons contaminants banals poussent à la T° de 20 à 27 °C. et supportent difficilement des températures supérieures à 30 à 32 °C.

Une croissance à 37 °C témoigne une adaptation à la température de l'organisme humain et est donc fortement en faveur du caractère pathogène du mycète en cause.

- ◆ La morphologie du recto Caractérisée par:

Sa couleur, en sachant que celle-ci évolue avec l'âge des colonies

Aspect de la colonie: culture plate, surélevée, plane, plissée, cratériforme, glabre, plâtreuse, granuleuse, duveteuse, floconneuse

- ◆ Morphologie du verso: couleur, existence de crête ou arborisations en profondeur de la gélose: pigment diffusant dans le milieu.

III –3-5-2: Aspect microscopique

Sont successivement étudiés:

thalle

- ◆ lévuriformes: en forme des levures; Type de bourgeonnement axial ou latéral, unique ou multiple ou à base étroite ou large: existence ou non de pseudomycélium, présence éventuelle de capsule.

- ◆ filamenteux

filamenteux: diamètre des filaments, régulier (champignon supérieur) plus large et irrégulière (Siphon de champignons inférieure), fréquence des cloisons (rare, chez les champignons inférieure) pigment de la paroi (foncée ou claire) ramification et leur mode (banal ou dichotomique) formation particulière (sclérotés.)

L'appareil sporifère végétatif:

- ◆ Le mode de formation des spores: les spores internes formés dans des sporanges (zygomycètes) ou spores externes (blastopores ou thallospores) des champignons supérieurs

Différenciation ou non de conidiophores, ramifiés ou non, renflés ou non, ornementés ou non avec ou sans phialides.

spores isolées, en amas ou en chaînettes, à l'extrémité ou le long des filaments

Caractères des spores: couleur, tailles, forme (ovales, plus ou moins allongée ou ronde, à base large ou étroite) cloisons, épaisseur et ornementation des parois

♦ L'appareil sexué (très rarement observé)

périthèces (cleithèques), asques et ascospores d'*Aspergillus nidulans*, formations particulières (cellules en noisette).

Parfois le repiquage sur des milieux autres que le milieu de Sabouraud est nécessaire pour l'isolement. Certains milieux optimisent la croissance et la sporulation (milieu au malt, utilisé dans les laboratoires de cryptogamie)

D'autres permettent la formation des éléments sexués: milieu à l'acétate de sodium; après incubation de 3 à 4 semaines à 37°C, les asques et les ascospores seront recherchées par coloration spéciale (WIRT...)

III -3-5-3: Caractères biochimiques:

Ils sont surtout importants pour l'identification des levures saprophytes. Les caractères les plus recherchés sont les suivants:

♦ formation de pseudomycélium sur milieux spéciaux (pomme de terre-carotte-bile, Rice-Agar-Tween 80)

♦ utilisation de sucres et matières azotées en milieu aérobie (auxnogramme) et anaérobie (zymogramme)

♦ Réduction du tétrazolium avec production de formazan: ensemencement du gélose sabouraud-tétrazolium; incubation à 30°C à 37°C ; lecture: virage ou non du milieu en rose à violet selon l'espèce.

♦ Test à uréase: (hydrolyse de l'urée libère de l'ammoniaque d'où la réaction alcaline entraînant le virage du milieu); ensemencement d'un milieu liquide Urée-indole; incubation 3h à 37°C, lecture: virage ou non du milieu du jaune au rouge.

III- 4 Rappel sur les bactéries contaminants (1) : **(streptocoques, staphylocoques et entérobactéries)**

II-4-1: les streptocoques

III- 4-1-1: Caractères généraux

Le genre Streptococcus rassemble des espèces bactériennes qui ont en commun un certain nombre de caractères: ce sont des cocci à Gram positif, sphériques ou ovoïdes, disposés en paire pour former des diplocoques et pouvant se présenter sous forme de chaînettes parfois longues. ils ne sporulent pas.

III-4-1-2: Habitats

Les streptocoques sont ubiquitaires. Certains d'entre eux sont rencontrés dans le milieu extérieur: eaux, produits alimentaires et peuvent survivre longtemps dans celui-ci.

D'autres, plus fragiles, vivent à l'état commensal au niveau des téguments ou des muqueuses de l'homme ou des animaux.

III-4-1-3: Caractères culturels

♦ Conditions de culture: une atmosphère enrichie en CO₂ favorise les primocultures, la température optimale est de 37°C. Le pH optimal est de 7,3. Un pH acide est néfaste à la croissance de la plupart des streptocoques, car il se produit une acidification secondaire, d'où intérêt du milieu tamponné (comme TOLD-HEWIT)

♦ Aspect des cultures: Après 48 heures de culture, les colonies de Streptocoques du groupe A et C ont un diamètre de 0,5 mm. elles sont transparentes, blanches en dômes. Celles du groupe B sont les plus larges parfois pigmentées en jaune-orangé en anaérobie. celles du groupe D, souvent larges de 0,5 à 1 mm, plus opaques, et souvent blanchâtres et peuvent ressembler à des colonies de staphylocoques. Les espèces non groupées, leur taille varie de 0,1 à 0,5 mm. Elles donnent des colonies (minutées) tout comme les streptocoques du groupe F.

♦ hémolyse: L'étude de l'hémolyse au tour de colonies sur gélose de sang permet une orientation diagnostique. On distingue

- l'hémolyse α : incomplète avec verdissement milieu

- l'hémolyse β total avec éclaircissement de la gélose autour des colonies observées en milieu aérobie (due à l'action de la streptolysine.)

Hémolyse gamma: absence.

III- 4- 2: Les staphylocoque

III- 4- 2-1: Caractères généraux

La morphologie: les staphylocoques sont des cocci à Gram positif. Anaérobie facultative, (non mobiles) ils forment généralement des amas irréguliers.

Propriétés métaboliques: comme les microcoques, ils sont catalase plus, mais différent de ceux ci par plusieurs points. Ils sont oxydases négatives, fermentent le glucose en anaérobiose, possèdent des acides teichoïques dans leur paroi cellulaire et leur ADN a un contenu G-C beaucoup plus faibles. *Staphylococcus aureus* le plus important du groupe (pathogène) contrairement aux autres, produit une coagulase enzyme responsable de la coagulation du sang

III- 4- 2-2: habitat

Les staphylocoques sont normalement associés à la peau, aux glandes cutanées et aux muqueuses des animaux à sang chaud. Eliminer dans le milieu extérieur, Ils peuvent survivre longuement dans l'environnement; les eaux, les produits alimentaires et biologiques.

III- 4- 2-3: Caractères culturaux

: Les staphylocoques poussent sur les milieux tel que, la gélose ordinaire. La plupart des colonies élaborent un pigment (*Staphylococcus aureus* pigment jaune). Elles s'accommodent à des grandes variations de p H (4,8---9,4) et de températures (10°C—45°C).

III-4-3: Entérobactéries.

III-4-3-1:Caractères généraux:

La famille des entérobactériacea est constituée de genres bactériens ayant en commun les caractères bactériologiques suivants:

- Ce sont des bactéries à Gram négatives dont les dimensions varient de 1 à 6 µm de long et 0,3 à 1µm de large.

Elles sont mobiles par une ciliature péritriche ou immobiles.

Elles se développent en aéro-anaérobiose sur gélose nutritive ordinaire.

Elles acidifient le glucose par voie fermentative (à la différence des pseudomonas) avec souvent production de gaz.

Elles ne possèdent pas d'oxydase (différence de vibrio et pasturella)

Elles réduisent le nitrate en nitrite.

III-4-3-2: Habitat

Parmi les nombreuses espèces entérobactéries, certaines sont trouvées dans l'environnement, d'autres chez les végétaux et les animaux.

III-4-3-3: Caractères culturaux

Les entérobactéries se développent bien en bouillon et sur gélose ordinaire incubée à 37°C.

Les formes S (smooth) sont les aspects habituels au sortie de l'organisme.

Ces colonies sont lisses, bombées, brillantes, et humides. Elles ont 2 à 4 mm de diamètre et troublent le bouillon de façon homogène.

Les formes R (rough) s'observent surtout avec des souches ayant subi plusieurs repiquages. Elles sont rugueuses, sèches, à contour irrégulier et teint mate. En bouillon, les formes R donnent un aspect granuleux.

Les colonies muqueuses sont habituelles avec les klebsielles, leur diamètre peut dépasser 10mm. Elles ont une tendance à la confluence.

Les colonies naines: s'observent avec des souches déficientes dans certaines de leurs chaînes métaboliques. Elles ne sont pas exceptionnelles chez *Echérichia colie*.

III-4-3-4: Pathogénicité

Certaines espèces possèdent un pouvoir pathogène chez l'homme, chez les animaux ou chez les végétaux.

D'autres espèces sont opportunistes et sont responsables d'infection chez les malades fragilisés

Méthodologie

IV MÉTHODOLOGIE

Nous avons appelé collyres préparé traditionnellement (C.P.T), les préparations à base de plantes médicinales obtenus par macération ou par décoction utilisées traditionnellement pour traiter les affections oculaires

IV-1: Cadre d'étude

Le travail a été réalisé dans le district de Bamako pendant une période de 9 mois auprès des tradithérapeutes préparateurs et des patients utilisateurs de C.P.T.

Il s'agissait de tradithérapeute indépendants et une association de tradithérapeute.

Ces thérapeutes n'étaient pas généralement des spécialistes de soin oculaire.

Les échantillons prélevés ont été analysés dans les laboratoires de bactériologie et de parasitologie à l'I.O.T.A. et au C.H.U de Brest en France

IV-2: Recueil des données sur les conditions de préparations, de conservations et d'utilisation des C.P.T.

Nous avons élaboré un questionnaire permettant de recueillir des renseignements sur : le mode de préparation, la qualité de l'eau utilisée pour la préparation et les conditions de conservations, et utilisation de ces C.P.T. (Voir annexe).

VI-3: Échantillonnage

Notre étude a été menée sur deux groupes d'échantillons.

Le premier groupe était constitué de préparations obtenues auprès des tradithérapeutes.

Le deuxième groupes était constitué de préparation obtenue auprès des patients utilisateurs.

IV-3: Conditions de prélèvements

Chez les tradithérapeutes, les prélèvements ont été effectués sur des préparations qui avaient durée plus d'un jour.

Chez les utilisateurs, les prélèvements ont été effectués sur des préparations récentes ne dépassant pas 2 jours.

Les prélèvements ont été effectués à l'aide de pipettes stériles.

La quantité prélevée (1 ml à 2 ml) était mise dans un flacon stérile de 5ml.

Les flacons étaient ensuite enfermés dans une boîte stérile et transporté.

L'ensemble des opérations étaient effectuées le plus rapidement possible

IV-4: Les analyses micro-biologiques

Il a consisté à:

- Réaliser la numération bactérienne avec isolement et identification des Entérobactéries, Staphylocoque et les streptocoques rencontrés.
- Rechercher, isoler et identifier les champignons et les amibes libres contaminant.

IV- 4-1: les techniques utilisées

IV- 4-1-1: les analyses bactériologiques

- **Numération**

Nous avons appliqué la méthode de dénombrement après ensemencement sur milieux solide. Ainsi nous avons utilisé les milieux de Muellers Hilton et la gélose ordinaire de Couloumbia. Le principe de cette méthode est le suivant (22):

Une quantité du produit à étudier ou sa dilution est ensemencée sur un milieu solide favorable au développement de la majorité des germes bactériens. Après incubation, les colonies apparues (UFC) sont comptées. Une estimation de la population bactérienne du produit pur est faite à partir des différentes dilutions.

Ainsi, nous avons effectué des dilutions successives de 1/10, 1/100, 1/1000 ... de chaque échantillon en utilisant de l'eau physiologique stérile.

Un volume de 0,1ml de chacune des dilutions a été ensemencé par étalement sur gélose de Couloumbia et MH coulés en boîte de pétries. Les colonies apparues au bout de 24 heures d'incubation à la température de 37 °C ont été ensuite comptées.

Nous avons éliminé les cultures de plus car trop nombreuse pour être compter.

Pour obtenir le nombre total de germe par ml de l'échantillon pur. nous avons:

Compté le nombre total de colonies apparues sur chacune des boîtes de cultures et multiplier ce nombre par le taux de la dilution effectuée

Fait la somme des germes totaux de toutes les dilutions.

Divisé le résultat obtenu par le nombre de dilution effectué puis convertir celui-ci en germe par ml

- **Recherche des entérobactéries**

Pour la recherche des entérobactéries, nous avons ensemencé 0.1ml de chaque échantillon sur gélose de Mac Conkey et sur gélose de Drigalski. Après ensemencement, nous avons incubé

les cultures ont à 37°C pendant 24 à 48 heures. Puis nous avons identifié les différentes colonies apparues sur galeries API 20 E.

- **Recherches des streptocoques**

Nous avons recherché les streptocoques par ensemencement de 0,1ml de chaque échantillon sur la gélose de Columbia. La gélose ensemencée était incubée sous une atmosphère de CO₂ (5 à 10 %) à la température de 37°C pendant 24 à 48 heures.

L'identification des streptocoques était effectuée par observation microscopique des (après la coloration de Gram), et par les tests de catalase et oxydase des colonies apparues

- **Recherche des staphylocoque**

Pour la recherche des staphylocoques nous avons procédé de la manière suivante:

- Ensemencement de 0,1ml de chaque échantillon sur milieu MH coulé en boîte de pétries
- Incubations de ces boîtes de cultures à la température de 45°C pendant 24 heures.
- Effectué le test de catalase sur les colonies apparues
- Recherche de *staphylococcus aureus* par la culture des colonies isolées sur milieu de Chapman hypersalé

IV-4-1-2: Recherche des champignons contaminants.

Nous avons recherché les champignons par ensemencement de 0,1ml de chaque échantillon sur gélose de Sabouraud + chloramphénicol.

La gélose ainsi ensemencée était placée à 37 °C pendant 5 jours. Les colonies apparues durant cette période d'incubation étaient systématiquement isolées et identifiées.

L'identification des champignons était effectuée par examen microscopique et macroscopique des colonies.

- **Examen macroscopique**

Il était basé sur observation de:

La morphologie du recto (culture) couleur et aspect.

Les morphologies du verso: Couleur, existence des crêtes (ou arborisation en profondeur de la gélose) pigment diffusant dans le milieu de culture.

- **Examen microscopique:**

Il a été effectué par la technique de drapeau

Technique de drapeau(2)

: un morceau de cellophane adhésive collé à une de son extrémité sur une oese de culture ou une baguette de verres ... est appliqué sur la surface de la culture et mis entre lame et lamelle en sandwich entre deux gouttes de colorant .

A examen microscopique était observé, la taille et la forme des thalles.

- Pour les thalles levuriformes il s'agissait d'observer:
- La tailles et la forme des levures
- Types de bourgeonnement des levures (axial, latéral unique ou multiple)
- Existence ou non des pseudomycéliums
- Présence de capsule

Pour les thalles filamenteux il s'agissait

- Du diamètre des filaments, réguliers ou irréguliers
- Les ramifications et leur mode (banal ou dichotomique)

IV-4-1- 3: Recherche des contaminants amibiens (des amibes libres)

Il a été effectué par ensemencement sur gélose de DIFCO à 2% recouvert par une solution d'entérobactérie. préparé comme suit :

• Préparation de la gélose

- peser 20g d'agarose (produit de **DIFCO**) et la mettre dans 1l d'eau distillée stérile.
- faire bouillir jusqu'à dissolution
- stériliser à autoclave à 120° C pendant 20 mn
- repartir stérilement en boîte de pétrie
- conserver au réfrigérateur à 4 °C

• Préparation de la suspension *d'entérobacter cloacae*

- faire pousser l'enterobacter sur gélose au sang ou milieux de drigalski ou MH simple
- à partir de la culture, ensemencer une dizaine de tubes contenant du MH liquide (tryptocase soja)
- laisser une nuit à 37°c
- transvaser les bouillons dans des tubes à centrifuger et centrifugé à 3000tr /s
- enlever le surnageant et lavé le culot 2 fois par l'eau distillée stérile
- mettre le culot en suspension pour obtenir une solution d'entérobacter
- stériliser la solution à 120°C pendant 20 mn et conservé à 4° C

- **Ensemencement des milieux**

Nous avons étalé 3 à 4 gouttes de la suspension d'entérobactéries à la surface de la gélose DIFCO à l'aide d'une pipette pasteur en râteau.

Nous avons ensuite étalé le produit de prélèvement sur la couche d'entérobactéries.

Pour éviter la dessiccation du milieu (gélose), nous avons mis du para film au tour de la boîte de cultures.

Après ensemencement, nous avons incubé les cultures à la température de 30°C

- **Examen des cultures**

La lecture des boîtes a été effectuée au microscope optique après 72 heures d'incubation à l'objectif x10.

Elle a lieu tous les jours, sauf les week-ends pendant la première semaine.

Pendant les trois semaines suivantes, deux fois par semaine

Le résultat final n'a été rendu qu'au bout d'un mois d'incubation

- **Examen direct:** Il a été effectué par l'observation de la surface de la boîte de cultures à objectif x 10 et x 40

A l'examen direct, les trophozoïtes apparaissent sous forme de masses réfringentes à vacuole pulsative, caractérisé par leur mouvement directionnel en émettant des pseudopodes. Les kystes apparaissent sous forme de polygones ou étoile

- **Examen après coloration:** Complémentaire à l'examen direct, il a été effectué à partir de frottis colorés.

Nous avons utilisé la coloration de Gram pour examen des kystes et le Giemsa pour celui des trophozoïtes

Préparation des frottis. Nous avons raclé à l'aide d'une pipette stérile en râteau avec quelque ml d'eau distillée stérile la surface de la gélose (culture positive à l'examen direct). Puis nous avons étalé quelques gouttes de la solution obtenus avec l'opération de raclage sur des lames.

Et nous avons séché et fixé ces lames par flambage directe ou à l'éthanol

Les frottis réalisés étaient ensuite coloré au Gram pour examen des kystes et au Giemsa dilué à 20% pour l'examen des trophozoïtes.

La lecture des frottis Nous avons observé les frottis colorés à l'objectif x100(après immersion du frottis coloré à l'huile de Parafine)

A la coloration de Gram: les kystes apparaissent sous forme hexagonale ou étoilé.

Au Giemsa les trophozoïtes sont colorés en violet et Les cytoplasmes sont plus foncés que les noyaux.

IV -5: LES MATÉRIELS

microscopes

petits matériels

tubes à essais

pipettes Pasteurs

flacons stériles

boîtes de pétri stériles

lames et lamelles

anse d'inoculation et support

bec Bunsen

écouvillons

milieux de cultures

gélose DIFCO

gélose de Chapman

gélose de Drigalski

gélose de Couloumbia

gélose Chocola

gélose de Sabouraud - chloremphénicol

milieux de Muellerè-Hilton

gélose de Mac-Conkey

les réactifs

galérie API 20 E

Réactif API20E: VP1, VP2

Gram: violet de gentiane, lugol, alcool, fuschine

Suspension d'*Entérobacter cloacea*

Résultats

V RÉSULTATS

V- 1:les conditions de préparation et d'utilisation.

Les données recueillies auprès des tradithérapeutes indiquent généralement que les CPT sont à base de plante.

Les diverses parties de la plante sont utilisées: les tiges, les feuilles, les écorces et les fleurs.

Les différentes parties sont utilisées soit à l'état frais ou sec selon les types de collyres.

Généralement avant d'être utilisée, la partie concernée peut subir des opérations préliminaires.

Ainsi les feuilles, les fruits et les écorces peuvent subir des opérations de pulvérisation.

Pour les tiges et racines les opérations qui peuvent être effectuées sont : épluchage, concassage et la pulvérisation.

Ces C.P.T sont habituellement faits par macération ou décoction des diverses parties précédemment citées de la plante concernée.

Les macérations sont effectuées en faisant séjourner le produit de la plante concernée dans de l'eau. Ce temps de macération varie entre 3 à 7 jours.

Les macérations sont généralement préparées dans desalebasses ou dans les canaris traditionnels (en porcelaine). D'autres types de récipients comme les bidons ou les bouteilles sont aussi souvent utilisés.

C'est le surnageant ou le filtrat du macéré qui est utilisé. La filtration est faite à l'aide d'un tamis de ménage ou avec un morceau de tissu en Nylon.

Le macéré obtenu est appliqué par lavage du visage ou par instillation dans les yeux du malade.

L'instillation est effectuée à l'aide d'un chiffon (morceau d'étoffe), du coton ou avec une louche traditionnelle.

Le morceau de coton ou le chiffon est imbibé dans le macéré puis pressé afin d'obtenir des gouttes qui tombent dans l'œil malade.

Pour la louche, c'est la manche qui sert à obtenir des gouttes.

Les décoctions, elles sont effectuées en faisant bouillir le produit de la plante concernée dans de l'eau.

Les décoctions sont habituellement préparées dans des marmites ou dans des canaris traditionnels. D'autres types de récipients comme les théières ou les boîtes métalliques sont souvent utilisés.

Comme pour les macérés, c'est le filtrat ou le surnageant obtenu après décantation du décocté qui est utilisé.

Les décoctés sont aussi appliqués de la même manière que les macérations.

Selon le mode d'application, tout le décocté est ou pas utilisé le même jour.

Dans le cas où l'application se fait par lavage oculaire, tout le décocté est utilisé dans la même journée. Ce pendant, c'est le résidu de la première opération qui sert à faire d'autres décoctions les jours suivants durant le temps traitement.

Dans le cas où l'application se fait par instillation, le décocté est généralement conservé pendant plusieurs jours. Le temps de conservation varie entre 3 à plusieurs mois selon la nature du produit.

Divers types de récipients sont utilisés pour la conservation de ces décoctés. Les types de récipient que nous avons rencontré sont: les bidons, les bouteilles, les flacons en verres ou en polyéthylènes. Généralement ces récipients sont vendus auprès des marchands. Ces marchands seraient fournis par des personnes qui ramassent des objets dans les poubelles ou les achètent dans les domiciles des gens en faisant le porte en porte.

C'est une eau de puits ou de robinet qui est utilisé pour la préparation de ces C.P.T.

Dans certain cas, l'eau de puits est directement utilisée. Dans d'autres cas c'est l'eau puits conservée dans le jarre familiale qui est utilisée. Il en est de même pour l'eau de robinet.

Ce jarre familiale est généralement placé dans un coin de la maison : cuisine, chambre dortoir, véranda ou même dans la cour sous un arbre.

V-2 : Résultats des analyses micro-biologiques

Nous avons analysé 50 échantillons de CPT collecté au près des tradithérapeutes 20 échantillons de C.P.T. pendant leur utilisation par des patients.

Tableau 2 : résultats d'analyse micro-biologique des collyres collectés auprès des tradithérapeutes préparateurs (C.C.T) avec le mode de préparation et la qualité l'eau

N ° E	Germes totaux En U.F.C./ml	Mode de préparation	Qualité de l'eau	Bactéries	Champignon	Présence d'amibe
E1	$>3.10^6$	Décoction	Robinet	Bacille à Gram positif		-
E2	$1.32.10^6$	Décoction	Robinet	Bacille à Gram positif <i>Staphylococcus spp</i>	<i>Aspergillus niger</i>	-
E3	$3.08.10^4$	Décoction	Robinet	<i>K pneumoniae</i> Bacille à Gram positif	<i>Aspergillus sp</i>	-
E4	$1.16.10^6$	Décoction	Robinet	Bacille à Gram positif		-
E5	$3.82.10^6$	Décoction	Robinet	Bacille à Gram positif		-
E6	$3.45.10^6$	Décoction	Robinet	Bacille à Gram positif		-
E7	$1.34.10^6$	Macération	Robinet	Bacille à Gram positif		-
E8	$2.66.10^6$	Macération	Puits	Bacille à Gram positif		<i>Acanthamoeba spp</i> <i>Hartmannella spp</i> <i>Cochlipodium spp</i>
E9	$5.2.10^4$	Décoction	Puits	Bacille à Gram positif		-
E10	$>3.10^6$	Macération	puits	Bacille à Gram positif <i>Streptococcus spp</i>	<i>Poecilomyces sp</i>	<i>Valkampfya spp</i> <i>Acanthamoebidae</i>
E11	$>3.10^7$	Macération	puits	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i> <i>Candida spp</i>	-
E12	$3.9.10^4$	Décoction	puits	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Candida spp</i>	-
E13	$11.92.10^4$	Décoction	puits	<i>K. pneumoniae</i> Bacille à Gram positif	<i>Paecilomyces sp</i> <i>Mucor spp</i>	-
E14	$>3.10^6$	Décoction	puits	Bacille à Gram positif		-
E15		Décoction	puits			-
E16	$>3.10^6$	Décoction	puits	<i>Staphylococcus sp</i> Bacille à Gram positif	<i>Cryptococcus sp</i> <i>Aspergillus spp</i>	-
E17	$>3.10^6$	Décoction	puits	<i>Staphylococcus aureus</i> Bacille à Gram positif	<i>Candida spp</i> <i>Aspergillus spp</i>	<i>Valkampfya spp</i> <i>Hartmannella spp</i>
E18	$2.33.10^6$	Décoction	puits	<i>K. pneumoniae</i> Bacille à Gram positif	-----	-
E19	$1.88.10^6$	Macération	Robinet	Cocci à Gram positif Bacille à Gram négatif	<i>Aspergillus spp</i>	
E20	$2.4.10^7$	Décoction	Robinet	<i>Staphylococcus spp</i> Bacille à Gram positif	<i>Candida krusei</i>	
E21		Décoction	Robinet		<i>Candida spp</i>	
E22	$>30.10^6$	Décoction	puits	Bacille à Gram positif		
E23		Décoction	Robinet			
E24	$>30.10^6$	Décoction	Robinet	Bacille à Gram positif	<i>Candida spp</i> <i>Aspergillus fumigatus</i>	
E25		Décoction	Robinet			
E26	8.10^7	Décoction	puits	<i>Streptococcus sp</i>	<i>Candida krusei</i>	
E27	3.10^6	Macération	puits	Bacille à Gram positif	<i>Candida spp</i>	
E28	21.10^4	Macération	Robinet	<i>Staphylococcus sp</i>	<i>Rhizopus spp</i>	
E29	95.10^7	Macération	puits	Bacille à Gram positif. <i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	+
E30	26.10^4	Macération	puits	Bacille à Gram positif	<i>Candida spp</i>	
E31	3.10^7	Décoction	puits	Bacille à Gram positif	<i>Candida spp</i>	
E32	$1.9.10^7$	Décoction	puits	<i>K. pneumoniae</i> <i>Streptococcus sp</i> Bacille à Gram positif		
E33	$1.25.10^6$	Macération	puits	Bacille à Gram positif	<i>Cryptococcus sp</i>	+
E34	$>3.10^6$	Décoction	Puits	Bacille à Gram positif <i>Streptococcus sp</i>	<i>Candida krusei</i>	
E35	2.10^6	Macération	Puits	Bacille à Gram positif	<i>Aspergillus fumigatus</i>	
E36	2.10^4	Décoction	Puits	Bacille à Gram positif		
E37	$1.8.10^6$	Décoction	Puits	Bacille à Gram positif	<i>Candida krusei</i>	
E38	$1.766.10^6$	Macération	Puits	Bacille à Gram positif	<i>Candida sp</i>	

E39	$1.5 \cdot 10^6$	Macération	Puits	Bacille à Gram négatif <i>Streptococcus sp</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	+
E40	$2.01 \cdot 10^6$	Décoction	Robinet	<i>K pneumoniae</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	
E41	$15.5 \cdot 10^4$	Décoction	Robinet	<i>Enterobacter cloacea</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	
E42	$42 \cdot 10^4$	Décoction	Robinet	<i>K pneumoniae</i> Bacille à Gram positif	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Candida krusei</i>	
E43		Décoction	Robinet			
E44	$>3 \cdot 10^6$	Macération	Robinet	Bacilles à Gram négatif	<i>Aspergillus niger</i>	
E45	$23 \cdot 10^4$	Macération	Robinet	Cocci à Gram positif		
E46	$20.3 \cdot 10^4$	Macération	Robinet	Bacilles à Gram négatif		
E47	$>3 \cdot 10^6$	Macération	Robinet	Bacilles à Gram négatif		
E48	$1.98 \cdot 10^6$	Macération	Robinet	Bacilles à Gram négatif		
E49	$2.76 \cdot 10^6$	Macération	Robinet	Bacille à Gram positif	<i>Candida sp</i>	
E50	$>3 \cdot 10^6$	Décoction	Robinet	Bacille à Gram positif		

+ = présence amibes

Tableau 3: Résultats d'analyse micro- biologique des collyres en cour d'usage(CEU) avec le mode de préparation et la qualité de l'eau

N ° E	Germe totaux En U.F.C/ML	Bactéries	Champignons	Qualité de l'eau	Mode de p.
P1	$37 \cdot 10^4$	<i>Kleibsiella pneumoniae</i> <i>Staphylococcus sp</i>	-----	Puits	Décoction
P2	$1.25 \cdot 10^6$	Bacille à Gram positif	-----	Puits	Décoction
P3	$12 \cdot 10^4$	<i>Staphylococcus sp</i>	-----	Robinet	Macération
P4	----	-----	-----	Robinet	Décoction
P5	$1.9 \cdot 10^6$	<i>Kleibsiela pneumoniae</i>	<i>Candida sp</i>	Puits	Décoction
P6	$24 \cdot 10^4$	<i>Staphylococcus sp</i>		Robinet	Macération
P7	$>3 \cdot 10^6$	Bacilles à Gram positif	<i>Trichosporium sp</i>	Puits	Décoction
P8	$45 \cdot 10^4$	Bacilles à Gram positif	<i>Candida sp</i>	Robinet	Macération
P9	$33 \cdot 10^4$	Bacilles à Gram positif <i>Streptococcus sp</i>		Puits	Décoction
P10	----	-----	<i>Candida sp</i>	Robinet	Macération
P11	$9 \cdot 10^4$	<i>Staphylococcus</i> <i>Microoccus sp</i>	<i>Cryptococcus sp</i>	Robinet	Décoction
P10	$39.5 \cdot 10^4$	<i>Streptococcus sp</i>		Robinet	Macération
P13	$35.5 \cdot 10^4$	<i>Kliebsilla oxytoca</i>		Robinet	Décoction
P14	----	-----		Robinet	Décoction
P15	$86.5 \cdot 10^4$	Bacilles à Gram positif <i>Staphylococcus sp</i>	<i>Candida sp</i>	Puits	Macération
P16	$1.25 \cdot 10^6$	<i>Staphylococcus sp</i> <i>Streptococcus sp</i>	<i>Candida sp</i>	Puits	Macération
P17	----	-----	<i>Aspergillus spp</i>	Robinet	Décoction
P18	$2 \cdot 10^4$	<i>Staphylococcus sp</i>		Robinet	Macération
P19	----	-----	<i>Candida sp</i>	Robinet	Décoction
P20	$40 \cdot 10^4$	<i>Staphylococcus sp</i>	<i>Candida sp</i>	Robinet	Décoction

La grande majorité de nos échantillons (C.C.T. ET CEU) ont été des décoctions, respectivement 31/50 pour les CCT et 12/20 pour les CEU.

D'autres par nous retrouvons une contamination microbienne de ces collyres quel que soit le mode de préparation et la qualité de l'eau utilisée.

V-2-1: contamination bactérienne

Tableau 4: Pourcentages de la contamination bactérienne dans les C.C.T et les C.E.U.

	C..CT		C.E.U.	
	effectif	%	effectif	%
Contaminé	45	90	15	75
Non contaminé	5	10	5	25
Total	50	100	20	100

Il n'y pas de différence statistiquement significative entre les C.C.T et C.E.U par la contamination bactérienne. ($p= 0,16$)

Tableau 5 :Fréquence germes bactériens identifiés dans les C.C.T.

Germes	Effectifs n =50	Fréquence (%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6	12
<i>Streptocoque sp</i>	5	10
<i>Staphylocoque sp</i>	4	8
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	4
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	4
<i>Entérobacter cloacae</i>	1	2

La fréquence des espèces identifier varie entre 2 et 12%

Tableau 6: Fréquence germes bactériens identifiés dans leC.E.U

Germes	Effectifs n =20	Fréquences
<i>Staphylococcus sp</i>	8	8/20
<i>Streptococcus sp</i>	3	3/20
<i>Klebsiella pneumonia</i>	2	2/20
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	1/20
<i>Micrococcus sp</i>	1	1/20

L'espèce la plus fréquente à été *Staphylococcus sp* avec un tau 8/20

V -2-1-1: Contamination bactérienne et qualité de l'eau.

Tableau 7: Pourcentages de la contamination bactérienne en fonction de la qualité de l'eau utilisée dans les C.C.T.

	Puits		Robinet	
	Effectif	%	Effectif	%
Contaminés	25	100	20	80
Non contaminés	0	0	5	20
Total	25	100	25	100

$p= 0,02$ (Fisher) $< 0,05$: il y a une contamination bactérienne plus importante dans les C.E.P que dans les C.E.R.

Tableau 8: Fréquences des germes bactériens identifiés en fonction de la qualité de l'eau utilisée dans les C.C.T.

Genres ou espèces	Puits		Robinet	
	Effectif n=25	Fréquence (%)	Fréquence n=25	Fréquence (%)
<i>Streptocoque sp</i>	5	20	0	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3	12	3	12
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	8	0	0
<i>Staphylococcus auréus</i>	2	8	0	0
<i>Staphylocoque sp</i>	2	8	2	8
<i>Entéobacter cloacae</i>	0	0	1	4

Staphylococcus auréus a été isolé que dans les préparations faites avec l'eau de puits.

Tableau 9: Pourcentages de la contamination bactérienne en fonction de la qualité de l'eau utilisée dans les C.E.U.

	Puits		Robinet	
	Fréquence	%	Fréquence	%
Contaminés	7	100	8	61,15
Non contaminés	0	0	5	38,46
Total	7	100	13	100

$p = 0,08$ (fisher) $> 0,05$

Il n'y pas de différences statistiquement significatives entre les C.E.P et C.E.R ($p = 0,08 > 0,05$).

Tableau 10 : Fréquences des germes bactériens identifiés en fonction de la qualité l'eau utilisée dans les C.E.U.

Genres ou espèce	Puits		Robinet	
	Effectif n= 7	Fréquence	Effectif n= 13	Fréquence
<i>Staphylococcus sp</i>	3	3/7	5	5/13
<i>Streptococcus sp</i>	2	2/7	1	1/13
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	2/7	0	0
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0	0	1	1/13

V-2-1-2: Contamination bactérienne et mode de préparation des C.P.T

Tableau 11: Pourcentages de la contamination bactérienne en fonction du mode de préparation des C.C.T.

	Macération		Décoction	
	Effectif	%	Effectif	%
Contaminés	17	90	27	87
Non contaminés	2	10	4	13
Total	19	100	31	100

$p = 0,58$ (Fisher) $> 0,05$: non significatif

Il n'y a pas une contamination significative des macérations par rapport aux décoctions.

Tableau 12: Fréquences des germes bactériens identifiés en fonction du mode de préparation des C.C.T.

Genres ou espèces	Macération		Décoction	
	Effectif n=19	Fréquences (%)	Effectif n=31	Fréquences (%)
<i>Streptocoque sp</i>	2	10,5	3	9,6
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	5,2	1	3,2
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	5,2	1	3,2
<i>Staphylocoque sp</i>	1	5,2	3	9,6
<i>Entéobacter cloacae</i>	0	0	1	3,2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	0	6	19,3

Les germes les plus fréquents ont été *Klebsiella pneumoniae* pour les décoctions et *Streptocoque sp* pour les macérations.

Tableau 13: Pourcentages de la contamination bactérienne en fonction du mode de préparation des les C.E.U.

	Macération		Décoction	
	Effectif	%	Effectif	%
Contaminés	8	100	7	58
Non contaminés	0	0	5	42
Total	8	100	12	100

Il y a une contamination significative des macérations par rapport aux décoctions ($p= 0,05$)

Tableau 14: Fréquences des germes bactériens identifiés en fonction du mode préparation dans les CEU

Genres ou espèce	Macération		Décoction	
	Effectif n=8	Fréquences	Effectif n=12	Fréquences
<i>Staphylococcus sp</i>	5	5/8	3	3/12
<i>Streptococcus sp</i>	2	2/8	1	1/12
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	0	2	2/12
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0	0	1	1/12

Staphylococcus sp a été l'espèce la plus fréquente dans les macérations aussi bien que dans les décoctions.

V-2-1-3: Contamination bactérienne, mode de préparation et la qualité de l'eau utilisée.

Tableau 15: Pourcentages de la contamination bactérienne en fonction du mode de préparation et de la qualité de l'eau utilisée dans les C.C.T.

	Macération et puits		Macération et robinet		Décoction et puits		Décoction et robinet	
	Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%
Contaminés	10	100	9	100	14	93,33	12	75
Non contaminés	0	0	0	0	1	6	4	25
Total	10	0	9	100	15	100	16	100

Tous les macérations sont à 100% contaminées quel que soit la qualité d'eau utilisée.

Tableau 16: Fréquences des germes bactériens identifiés en fonction du mode de préparation et la qualité de l'eau utilisée dans C.C.T.

Genre/ espèces	Macération et puits		Macération et robinet		Décoction et puits		Décoction et robinet	
	Effectif	Fréquence	Effectif	Fréquence	Effectif	fréquence	Effectif	Fréquences
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	0	0	0	3	3/15	3	3/16
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	1/10	0	0	1	1/15	0	0
<i>Entérobacter cloacae</i>	0	0	0	0	0	0	1	1/16
<i>Staphylococcus auréus</i>	1	1/10	0	0	1	1/15	0	0
<i>Staphylocoque sp</i>	0	0	1	1/9	2	2/15	2	2/16
<i>Streptocoque sp</i>	2	2/10	0	0	3	3/15	0	0
Autres	9	9/10	6	6/9	12	12/15	10	10/16

Tableau 17: Pourcentages de la contamination bactérienne selon le mode de préparation et de la qualité de l'eau utilisée dans les C.E.U.

Genre/ espèces	Macération et puits		Macération et robinet		Décoction et puits		Décoction et robinet	
	Effectif	Fréquence	Effectif	Fréquence	Effectif	fréquence	Effectif	Fréquences
Contaminés	2	100	5	83	6	100	2	33
Non contaminés	0	0	1	17	0	0	4	67
Total	2	100	6	100	6	100	6	100

Tableau 18: Fréquences des germes bactériens identifiés selon le mode de préparation et la qualité de l'eau utilisée dans C.E.U.

Genre/ espèces	Macération et puits		Macération et robinet		Décoction et puits		Décoction et robinet	
	Effectif	Fréquence	Effectif	Fréquence	Effectif	fréquence	Effectif	Fréquences
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	0	0	0	2	2/6	0	0
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0	0	0	0	0	0	1	1/6
<i>Staphylococcus sp</i>	2	2/2	3	3/6	1	1/6	2	2/6
<i>Streptococcus sp</i>	1	1/2	1	1/6	1	1/6	0	0
Autres	1	1/2	1	1/6	3	3/6	0	0

V-2-2: C.P.T. et contamination fongique

Tableau 19: Pourcentages de la contamination fongique dans les C.C.T. et C.E.U

	C.C.T		C.E.U.	
	Effectif	%	Effectif	%
Contaminé	29	58	10	50
Non contaminé	21	42	10	50
Total	50	100	20	100

$p = 0,54$ (khi2 test) $> 0,05$ la différence n'est pas significative statistiquement.

Tableau 20: Pourcentages des deux groupes fongiques dans les C.C.T. et C.E.U.

	C.C.T		C.E.U.	
	Effectif	%	Effectif	%
Levures	12	41,3	9	90
Filamenteux	11	37,9	1	10
Levures et filamenteux	6	20,6	0	0
Total	29	100	10	100

Tous les double contamination filamenteuses et levures ont été retrouvés dans le groupe des C.C.T.

Tableau 21: Fréquence germes fongiques identifiés dans les C.C.T.

Germes	Effectifs n=50	Fréquence (%)
<i>Aspergillus niger</i>	2	4
<i>Aspergillus fumigatus</i>	3	6
<i>Aspergillus flavus</i>	5	10
<i>Aspergillus sp</i>	4	8
<i>Candida sp</i>	9	18
<i>Candida krusei</i>	5	10
<i>Cryptococcus sp</i>	2	4
<i>Mucor sp</i>	1	2
<i>Paecilomyces sp</i>	2	4
<i>Rhodotorula sp</i>	1	2
<i>Rhizopus sp</i>	1	2

Tableau 22: Fréquence germes fongiques identifiés dans les les C.E.U.

	Effectifs n=20	Fréquences (%)
<i>Aspergillus sp</i>	1	1/20
<i>Candida sp</i>	7	7/20
<i>Cryptococcus sp</i>	1	1/20
<i>Trichosporium sp</i>	1	1/20

Candida sp est la plus représenté avec une fréquence de 7/20.

V- 2-2-1: Contamination fongique et qualité de l'eau utilisée

Tableau 23: Pourcentages de la contamination fongique selon la qualité de l'eau utilisée dans les CCT

	Puits		Robinet	
	Effectif	%	Effectif	%
Contaminés	17	68	12	48
Non contaminés	8	32	13	52
Total	25	100	25	100

Il n'y pas eu de différence statistiquement significative entre les C.E.P et les C.E.R ($p= 0,15 < 0,05$)

Tableau 24: Fréquences des germes fongiques identifiés selon la qualité de l'eau utilisée dans les C.C.T.

Genres ou espèce	Puits		Robinet	
	Effectif n=25	Fréquences (%)	Effectif n=25	Fréquences (%)
<i>Aspergillus niger</i>	0	0	2	8
<i>Aspergillus fumigatus</i>	2	8	1	4
<i>Aspergillus flavus</i>	2	8	3	12
<i>Aspergillus sp</i>	2	8	2	8
<i>Candida sp</i>	6	24	3	12
<i>Candida krusei</i>	3	12	2	8
<i>Cryptococcus sp</i>	2	8	0	0
<i>Mucor sp</i>	1	4	0	0
<i>Paecilomyces sp</i>	2	8	0	0
<i>Rhodotorula sp</i>	1	4	0	0
<i>Rhizopus sp</i>	0	0	1	4

Tableau 25: Pourcentages des deux groupes fongiques et qualité de l'eau des C.C.T.

	Puits		Robinet	
	Effectif	%	Effectif	%
Levures	9	52	3	25
Filamenteux	4	23,5	7	58,3
Levures et filamenteux	4	23,5	2	16,7
Total	17	100	12	100

Filamenteux = champignons filamenteux

La fréquence des doubles contamination levure-filamenteux est plus élevée dans les CEP que celle des C.E.R.

Tableau 26: Pourcentages de la contamination fongique selon la qualité de l'eau utilisée dans les C.E.U.

	Puits		Robinet	
	Effectif	%	Effectif	%
Contaminés	4	57	6	46
Non contaminés	3	43	7	54
Total	7	100	13	100

Il n'y a pas de différence statistiquement significative entre les C.E.P et C.E.R par la contamination fongique ($p= 0,5 > 0,05$)

Tableau 27: Fréquences des germes fongiques identifiés selon la qualité de l'eau utilisée dans les C.E.U

Germes	Puits		Robinet	
	Effectif n=7	Fréquences	Effectif n=7	Fréquences
<i>Candidas sp</i>	3	2/7	4	4/13
<i>Trichosporium sp</i>	1	1/7	0	0
<i>Aspergillus sp</i>	0	0	1	1/13
<i>Cryptococcus sp</i>	0	0	1	1/13

Tableau 28: Pourcentages des deux groupes fongiques et qualité de l'eau des C.E.U

	Puits		Robinet	
	Effectif	Fréquence (%)	Effectif	Fréquence (%)
Levures	4	100	5	83,3
Filamenteux	0	0	1	16,7
Filamenteux et levures	0	0	0	0
Total	4	100	6	100

Nous n'avons pas trouvé de cas de double contamination filamenteux-levures dans le groupe des C.E.U

V-2-2-2: Contamination fongique et mode de préparation des C.P.T.
 $p = 0,24$ ($\chi^2 = 1,37$) $< 3,96$

Tableau 29: Pourcentages de la contamination fongique selon le mode de préparation des C.C.T

	Macération		Décoction	
	Effectif	%	Effectif	%
Contaminés	13	68,4	16	51
Non contaminés	6	31,6	15	49
Total	19	100	31	100

Il n'y a pas une contamination significative des macérations par rapport aux décoctions ($p=0,2 < 3,96$)

Tableau 30 : Fréquences des germes fongiques identifiés selon le mode de préparation des C.C.T.

Genres ou espèce	Macération		Décoction	
	Effectif n=19	Fréquences (%)	Effectif n=31	Fréquences (%)
<i>Aspergillus fumigatus</i>	2	10,5	1	3,2
<i>Aspergillus flavus</i>	2	10,5	3	9,6
<i>Aspergillus niger</i>	1	5,2	1	3,2
<i>Aspergillus sp</i>	1	5,2	3	9,6
<i>Candida sp</i>	4	21	5	16,2
<i>Candida krusei</i>	0	0	5	16,2
<i>Cryptococcus sp</i>	1	5,2	1	3,2
<i>Mucor sp</i>	0	0	1	3,2
<i>Paecilomyces sp</i>	1	5,2	1	3,2
<i>Rhodotorula sp</i>	1	5,2	0	0
<i>Rhizopus sp</i>	1	5,2	0	0

Candida sp est la plus fréquemment retrouvée dans les deux modes de préparation.

Tableau 31: Pourcentages des deux groupes fongiques et mode de préparation des CCT

	Macération		Décoction	
	Effectif	%	Effectif	%
Levures	5	38,4	7	43,8
Filamenteux	7	53,4	4	25
Filamenteux et levures	1	7,6	5	31,2
Total	13	100	16	100

C'est dans les décoctions que nous avons trouvé le plus grand nombre de double contamination filamenteux-levures(31.2%).

Tableau 32 : Pourcentages de la contamination fongique selon le mode de préparation des C.E.U

	Macération		Décoction	
	Effectif	%	Effectif	%
Contaminés	4	50	6	50
Non contaminés	4	50	6	50
Total	8	100	12	100

$p = 0,6$ (Fisher) $> 0,05$: non significatif

Les macérations et les décoctions présentent le même taux de contamination fongique (50%).

Tableau 33: Fréquences des germes fongiques identifiés selon le mode de préparation des C.E.U

Genres ou espèces	Macération		Décoction	
	Effectif	Fréquence	Effectif	Fréquences
<i>Aspergillus sp</i>	0	0	1	1/12
<i>Candidas sp</i>	4	4/8	3	3/12
<i>Cryptococcus sp</i>	0	0	1	1/12
<i>Trichosporium sp</i>	0	0	1	1/12

Candida sp est la plus fréquemment retrouver dans les deux modes de préparation.

Tableau 34: Pourcentages des deux groupes fongiques dans les différents mode de préparation des C.E.U

	Macération		Décoction	
	Effectif	%	Effectif	%
Levures	4	100	5	90
Filamenteux	0	0	1	10
Filamenteux et levures	0	0	0	0
Total	4	100	6	100

Aucun des modes de préparation ne présente une double contamination filamenteux-levures dans les groupes des CEU.

V-2-2-3: Contamination fongique, mode de préparation et la qualité de l'eau utilisée

Tableau 35: Pourcentages de la contamination fongique selon le mode de préparation et de la qualité de l'eau des C.C.T.

	Macération et puits		Macération e et robinet		Décoction et puits		Décoction et robinet	
		%		%		%		%
Contaminés	9	90	4	44	8	53	8	50
Non contaminés	1	10	5	56	7	47	8	50
Total	10	100	9	100	15	100	16	100

C'est dans les macérations fait avec l'eau de puits que la contamination fongique est la plus importante (90%).

Tableau 36 : Fréquences des germes fongiques identifiés selon le mode de préparation et de la qualité de l'eau utilisée dan les C.C.T.

	Macération et puits		Macération e et robinet		Décoction et puits		Décoction et robinet	
<i>Aspergillus niger</i>	0	0	1	1/9	0	0	1	1/16
<i>Aspergillus fumigatus</i>	2	2/10	0	0	0	0	1	1/16
<i>Aspergillus flavus</i>	2	2/10	0	0	0	0	3	3/16
<i>Aspergillus sp</i>	0	0	1	1/19	2	2/15	1	1/16
<i>Candida sp</i>	3	3/10	1	1/19	3	3/15	2	2/16
<i>Candida krusei</i>	0	0	0	0	3	3/15	1	1/16
<i>Cryptococcus sp</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Mucor sp</i>	0	0	0	0	1	1/15	0	0
<i>Paecilomyces spp</i>	1	1/10	0	0	1	1/15	0	0
<i>Rhodotorula sp</i>	1	1/10	0	0	0	0	0	0
<i>Rhizopus sp</i>	0	0	1	1/9	0	0	0	0

Tableau 37: Pourcentages de la contamination fongique selon le mode de préparation de la qualité de l'eau utilisé des C.E.U

	Macération et puits		Macération et robinet		Décoction et puits		Décoction et robinet	
		%		%		%		%
Contaminés	2	100	2	33	2	33	4	67
Non contaminés	0	0	4	67	4	67	2	33
Total	2	100	6	100	6	100	6	100

Tableau 38 : Fréquences des germes fongiques identifiés selon le mode de préparation et de la qualité de l'eau utilisée dans les C.E.U

Genres ou espèces	Macération et puits		Macération et robinet		Décoction et puits		Décoction et robinet	
	Effectif	fréquences	Effectif	fréquence	Effectif	fréquence	Effectif	Fréquences
<i>Aspergillus sp</i>	0	0	0	0	0	0	1	1/6
<i>Candidas sp</i>	2	2/2	2	2/6	1	1/6	2	2/6
<i>Cryptococcus sp</i>	0	0	0	0	0	0	1	1/6
<i>Trichosporium sp</i>	0	0	0	0	1	0	0	0

V-2 -3 : contamination ambiante des C.P.T.

Tableau 40: Pourcentages de la contamination ambiante dans les C.C.T et les C.E.U.

	C.C.T		C.E.U	
	Effectif	%	Effectif	%CEU
Contaminé	6	12	0	0
Non contaminé	44	88	20	100
Total	50	100	20	100

Nous avons retrouvé les amibes libres que dans le groupe des CCT.

Tableau 41 : Fréquences des germes ambiants dans les C.C.T.

	effectif	Fréquence (%)
<i>Acanthamoebae sp</i>	2	4
<i>Hartmanella sp</i>	2	4
<i>Valhkampfia sp</i>	2	4
<i>Cochlipodium sp</i>	1	2
Autres non identifier	3	6

Tous les espèces isolés ont presque la même fréquence

V-2-3-1:Contamination ambiante et qualité de l'eau

Tableau 42: Pourcentages de la contamination ambiante et la qualité de l'eau utilisée dans les CCT

	Contaminés	%	Non contaminés	%
Puits	6	100	19	43
Robinet	0	0	25	57
Total	6	100	44	100

Il a une contamination ambiante significatif des C.E.P. par rapport au C.E.R
($p= 0,01 < 0,05$: significatif)

Tableau 43 Fréquences des germes ambiants en fonction de la qualité de l'eau dans les C.C.T.

germes	Puits		Robinet	
	Effectif n= 25	Fréquence	Effectif n= 25	Fréquence
<i>Acanthamoebae sp</i>	2	2/25	0	0
<i>Hartmanella sp</i>	2	2/25	0	0
<i>Cochlipodium sp</i>	2	2/25	0	0
<i>Valhkampfia sp</i>	1	1/25	0	0
Autres non identifier	3	3/25	0	0

Nous n'avons pas trouvé d'amibe libre dans les C.E.U

V-2-3-2: Contamination ambiante et mode de préparation des C.C.T.

Tableau 44 : Pourcentages de la contamination amibienne selon le mode de préparation des C.C.T.

	Macération		Décoction	
	effectif	%	Effectif	%
Contaminés	5	26	1	4
Non contaminés	14	74	30	96
Total	19	100	31	100

Il y a une différence statistiquement significative entre les macérations et les décoctions par contamination amibienne. ($p = 0,02 < 0,05$).

Tableau 45: Fréquences des germes amibiens en fonction du mode de préparation des C.C.T.

Genres	Macération		Décoction	
	Effectif	Fréquences	Effectif	%
<i>Acanthamoebae spp</i>	2	2 /19	0	0
<i>Hartmanella spp</i>	1	1/19	1	1/19
<i>Valkampfia spp</i>	1	1/19	1	1/19
<i>Cochlipodium spp</i>	1	1/19	0	0

Acanthamoebae spp n'a été retrouver que dans les macérations.

Tableau 46 : Fréquences des germes amibiens selon le mode de préparation et de la qualité de l'eau utilisée.

Genre/ espèce	Macération et puits		Macération et robinet		Décoction et puits		Décoction et robinet	
	Effectif	Fréquences	Effectif	Fréquences	Effectif	Fréquences	Effectif	Fréquences
<i>Acanthamoebae spp</i>	2	2 /10	0	0	0	0	0	0
<i>Hartmanella spp</i>	1	1/10	0	0	1	1/15	0	0
<i>Valkampfia spp</i>	1	1/10	0	0	1	1/15	0	0
<i>Cochlipodim sp</i>	1	1/10	0	0	0	0	0	0

V -2-: les différents type de contamination et autres germes contaminants associés

Tableau 47: contamination bactérienne et autres germes associer (amibe et champignons)

	C.C.T		C.E.U	
	Effectif	%	Effectif	%
Bactéri-champignon	23	51,2%	7	70
Bactérie-amibe	1	2,2%	0	0
Bactérie-amibe-champignon	5	11,1%	0	0
Bactérie	16	35,5%	8	30
Total	45	100	15	100

Tableau 48: contamination fongique et autre germe associé (amibes et bactéries)

	C.C.T		C.E.U	
	Effectif	%	Effectif	%
Champignon-bactérie	23	79,3	7	46,7
Champignon-amibe	0	0	0	0
Champignon-amibe-bactéries	5	17,3	0	0
Champignon	1	3,4	3	53,3
Total	29	100	15	100

Tableau:49: contamination amibienne et autre germe associé (bactéries et champignons)

	C.C.T	
	Effectif	Fréquence
Amibe -bactérie	1	1/6
Amibe-champignon	0	0
Amibe-bactérie champignon	5	5/6
Amibe	0	0
Total	6	1

Commentaires et discussion

VI : Commentaires et discussions

VI-1: les conditions de préparation et d'utilisation

Ce travail nous a permis de suivre les manœuvres de préparation des collyres préparés traditionnellement.

Au-delà du mode de préparation et la qualité de l'eau, ce travail a fait ressortir les conditions de préparation, conservation et d'utilisation des collyres préparés traditionnellement.

VI-2 les analyses micro-biologique

Nous avons analysé 50 échantillons prélevés auprès des tradithérapeute et 20 auprès des utilisateurs.

Les résultats de ces analyses nous ont permis de déterminer les 3 types de contaminations : bactérienne, fongique, et amibienne.

Nous avons analysé ces résultats par rapport aux modes de préparation et à la qualité de l'eau utilisée pour la préparation

Nous avons comparé les résultats analysés à ceux des autres études réalisées sur les liquides de rinçage des lentilles de contacts et des collyres préparés dans les laboratoires.

En fin nous avons comparé les résultats des 2 groupes d'échantillons.

Dans les comparaisons des résultats, nous n'avons pas tenus compte des bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif rencontré et dont le genre ou espèce n'ont pas été identifié.

VI -2-1: contamination bactérienne

Il n'y a pas eu de différence statistiquement significative entre les CCT et CEU.

Nous avons eu une contamination bactérienne quasi-constante avec des taux de 90% et 75% respectivement pour les CCT et CEU.

Ces taux sont supérieurs de ceux des autres études similaires réalisées en France et au USA sur des collyres multidose après usage clinique (4, 20)

Il a eu un taux 23.5% CHU de Grenoble (France), et 16,3% au USA.

Nos résultats sont proches de celui de l'étude similaire réalisée en nouvelle Zélande sur des liquides de rinçage des lentilles de contacte soit 77% (31).

Sur le plan quantitatif, la contamination bactérienne à été aussi importante dans les C.C.T et les C.E.U. Dans les 2 groupes nous avons trouvé des nombres qui varient entre $2 \cdot 10^4$ à plus de $3 \cdot 10^6$ UFC/ml

Ces chiffres dépasse de loin les normes de la pharmacopée française recommandée pour solution à usage oculaire (26)qui est 0UFC/ml.

Par rapport aux germes isolés, nous avons rencontré presque les mêmes espèces dans les C.C.T et dans les C.E.U.

Il s'agissait de *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus sp* et *Staphylococcus sp*.

Dans le groupe des C.C.T *Klebsiella pneumoniae*, a été l'espèce la plus fréquente avec un taux de contamination de 12% suivi de *Streptococcus spp* avec taux de 10%.

Dans le groupe des C.E.U, *Staphylococcus spp*. a été le plus fréquent (avec un taux de 8/20) suivi de *Streptococcus spp* (avec un taux 3/20).

Dans les liquides de rinçages des lentilles contacte, *Pseudomonas sp* a été la plus fréquente suivi de *Alcaligenes sp*. soient respectivement 47/78 et 20/78

Parmis les germe que nous avons isolé, certains sont susceptible de devenir pathogène pour l'homme

En pathologie oculaire, des infection dues à *Staphylococcus auréus*, *Streptocoque spp* ou *Entérobacter cloacea* ont été diagnostiquer.

Sussan L et Paul C au Malawi ont diagnostiqué des ulcération cornéennes dues à *Staphylococcus auréus* chez des patients utilisateur de collyres préparés traditionnellement(19).

Au Ghana, *Staphylococcus auréus*, *Streptocoque spp* et *Entérobacter cloacae* ont été isolés dans des prélèvement cornéennes chez des patients souffrants de kératite suppuré (22).

À Madurai (Inde), Srinivasan et collaborateur ont également rapporté des cas ulcérations cornéennes due à *Staphylococcus auréus*.

V-2-1-1 Contamination bactérienne et qualité de l'eau utilisée

Elle a été caractérisée par une différence entre C.E.P et C.E.R, significative statistiquement dans les C.C.T et non significative dans les C.E.U

C'est à dire que pour les C.C.T, le nombre de C.E.P contaminée a été plus élevé que ce des C.E.R. ($p= 0,02$,Tableau 7). Par contre pour les C.E.U il à eu autant de C.E.P et de C.E.R contaminés($p= 0,08$, Tableau)

Dans les C.C.T : les espèces communément trouvées dans les C.E.P et C.E.R ont été ; *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus spp.*

Klebsiella pneumoniae a été le germe plus fréquent dans les C.E.R (avec un taux de 12%). Et *Streptococcus spp* le plus fréquent dans les C.E.P (avec un taux de 20%).

Dans les C.E.U : *Staphylococcus spp* et *Streptococcus spp* ont été communément retrouvés dans les C.E.P et dans les C.E.R.(Tableau).

Staphylococcus spp à été le germe le plus fréquent dans les C.E.P et dans que les C.E.R (avec respectivement des taux de 3/7 et 5/13).

Nous n'avons pas rencontré de germes qui traduit une contamination d'origine fécale comme *Echérichia colie*. Ce pendant certains que nous avons isolé dans ces collyres (C.P.T) peuvent être rencontré dans les eaux douces (fleuve, marigot, ou puits), les sols sur les végétaux et sur les animaux.

Klebsiella pneumoniae, *Klebsiella oxytoca* et *Entérobacter cloacae* ont été isolé dans des eaux de puits de certains quartier de Bamako(Mali)(14) par Koné D à Banconie, Bagadadji, Bozola et Niaréla.

Ces mêmes germes avaient été également trouvés dans les eaux de surfaces : à Kaye(fleuve Sénégal) et a Nioro (Marigot de Kadrahaouna)(16).

VI-2-1-2: contamination bactérienne et mode de préparation

Elle a été caractérisée par une différence entre macération et décoction. significative statistiquement pour les C.E.U et non significative pour le C.C.T.

C'est à dire que dans les C.E.U, la contamination bactérienne a été plus importante dans les macération que dans les décoctions ($p = 0,05$, Tableau.). Par contre pour les C.C.T, il à eu autant de contamination bactérienne dans les macérations et de décoction ($p= 0,58$ Tableau)

Dans les C.C.T : les germes communément trouvés dans les deux modes de préparation ont été ; *Streptococcus sp*, *Staphylococcus sp*, *Klebsiella pneumoniae* et *Klebsiella oxytoca*.

Nous avons isolé *Klebsiella pneumoniae* et *Entérobacter cloacae* que dans les décoctions.

Dans les C.E.U : les germes que nous avons communément retrouvés dans les deux modes de préparation ont été *Streptococcus sp*, et *Staphylococcus sp*.

Nous avons isolé *Klebsiella oxytoca* et *Klebsiella pneumoniae* que dans les décoctions.

Les germes communément isolés dans les deux modes de préparation : *Streptococcus spp*, et *Staphylococcus spp* avaient leurs fréquences plus élevés dans les macérations avec respectivement des taux de 2/8 et 5/8(tableau).

VI-2-1-3: Contamination bactérienne, mode de préparation et la qualité de l'eau utilisée

Dans les C.C.T, tous les macérations faites avec de l'eau de robinet ou l'eau de puits étaient à 100% contaminés.

Par contres c'est dans les décoctions fait avec l'eau de robinet que nous avons trouvé des cas d'absence de contamination bactérienne.

dans les CEU, les macérations et les décoctions fait avec l'eau de puits étaient les plus contaminés. Les décoctions faites avec l'eau de robinet étaient les moins contaminé avec un taux de contamination bactérienne inférieure à 50% (33%).

VI -2-2: C.P.T et contamination fongique

La contamination fongique a été remarquable, car la majorité des C.C.T (soit 58%) et la moitié de C.E.U (soit 50%) étaient contaminés par des champignons.

Nos résultats sont différents de ce de l'étude réalisée sur les liquides de rinçage des lentilles de contacts qui a été de 24%(30).

La majorité des germes fongiques rencontrés étaient des levures, notamment les genre *Candida* (Tableau).

La contamination due uniquement aux levures a été plus importante dans les C.E.U que dans les C.C.T, 90% contre 41,3%.

Les contaminations fongique associant levures et champignons filamenteux n'ont été observé que dans les C.C.T avec un taux de 20,6%.

Candida spp a été le plus fréquemment rencontré dans les C.C.T (avec un taux de 18%) et dans les C.E.U(avec un taux de 7/20).

Dans les liquides de rinçages des lentilles de contacts, *Clodosporium* spp a été le plus fréquent avec un taux de 1/24.

La contamination fongique apparaît constamment associée à la contamination bactérienne dans les C.C.T aussi bien que dans les C.E.U. Car les 79,3% des prélèvements contaminés par les champignons étaient associé à une contamination bactérienne dans les C.C.T. Et dans les C.E.U, les 70% des prélèvements contaminés par les champignons étaient associés a une contamination bactérienne(Tableau 48).

La contamination fongique à été caractérisé par la par présence des germes connus en pathologie oculaire, notamment les genres *Aspergillus* et *Paecilomyces*.

Plusieurs types d'infection oculaire due au genre *Aspergillus* ont été rapporté par François en 1968(5).

- L'atteinte de l'orbite par *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus flavus*.
- L'atteinte des vois lacrymal et de la conjonctive par *Aspergillus niger*.
- Au niveau de la paupière, des blépharites à *Aspergillus niger* et des granulomes à *Aspergillus fumigatus*.
- Infection de la corné par *Aspergillus fumigatus*

Il apparaît ici que c'est *Aspergillus fumigatus* qui semble avoir le plus grand aptitude pathogène.

Parmi les pathologies due aux genres *Paecilomyces*, les atteintes oculaires sont cité comme les plus fréquents(5).

Ainsi, des cas d'endophtalmie à *Paecilomyces lilacinus* ont été rapporté par: O'Day et coll en (1978); Masson et coll (1977); Théodore et coll (1978) et Websten et coll(1975) chez des porteur de lentilles plastiques.

Des ulcérations cornéennes à *Paecilomyces lilacinus* ont été aussi diagnostiqué par Rochigüe et coll (1975) et par Rernokoff S à I.O.TA (Bamako, Mali, 1989).

VI-2-2-1: Contamination fongique et qualité de l'eau.

Nous n'avons pas trouvé de différence statistiquement significative entre les C.E.P et les C.E.R dans les deux groupes d'échantillons ($p = 0,15$ pour les C.C.T et $p = 0,56$ pour les C.E.U.).

D'où il n'y avait autant de contamination fongique dans C.E.P et de C.E.R.

Dans les C.C.T :

Il avait plus d'espèce contaminant dans les C.E.P que dans les C.E.R.

Les champignons filamenteux communément retrouver dans les C.E.P et C.E.R ont été ; *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus flavus*

Pour la contamination due aux levures, C'est le genre *Candida* qui a été le plus communément retrouvé dans les C.E.P et dans C.E.R.

À l'exception de *Aspergillus flavus*, Les fréquences des germes communément retrouvés se sont caractérisés par des taux plus élevés dans les C.E.P. et dans les C.E.R. (Tableaux: 24 et 27)

Les contaminations fongique associant levures et champignons filamenteux ont été plus fréquentes dans les C.E.P que dans les C.E.R, 23,5% contre 16,7% (Tableau 25).

dans les C.E.U :

Contrairement au C.C.T, il a eu moins d'espèces contaminants dans les C.E.P que dans les C.E.R.

Les champignons filamenteux n'ont été rencontrés que dans les C.E.R.: *Aspergillus spp.*

Pour la contamination due aux levures, le genre *Candida* a été communément retrouver dans les C.E.P et dans les C.E.R avec des fréquences respectives de 3/7 et 4/13 (tableau:27).

Certains des germe fongique que nous avons isolés ici, avaient été précédemment retrouvés dans des prélèvements d'eau de surface effectués à l'Ouest Bamako. Il s'agissent de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Cryptococcus spp* et *Candida spp*. (16).

VI-2-2-2:Contamination fongique et mode de préparation.

Elle se caractérise aussi par une différence non significative statistiquement entre les décoctions et les macérations dans les C.C.T et les C.E.U. ($p= 0,24$ pour les C C T et $P= 0,6$ pour les CEU).

D'où il n'y avait également autant des macérations et de décoctions contaminées par les champignons dans des C.C.T comme dans les C.E.U.

Dans les C.C.T :

Nous avons trouvé le même nombre d'espèce fongique contaminant dans les deux différents modes de préparation.

Les champignons filamenteux communément retrouvés dans les deux modes de préparations ont été : *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, et *Paecilomyces*. Ces différentes espèces avaient leurs fréquences plus élevés dans les macérations que dans les décoctions (Tableau 30).

La contamination due aux levures a été caractérisée par la présence massive de *Candida krusei* dans les macérations.

Les contaminations fongique associant levures et champignons filamenteux ont été plus fréquentes dans les décoctions que dans les macérations, 31,2% contre 7,6% (31).

Dans les C.E.U :

La contamination fongique des CEU a été caractérisée par l'absence des champignons filamenteux dans les macérations.

Il y a eu plus d'espèce contaminant dans les décoctions que dans les macérations.

VI-2-2-3:Contamination fongique par rapport aux modes de préparions et la qualité de l'eau

Dans les C.C.T :

Les collyres préparés par macération avec l'eau de puits étaient les plus contaminés avec un taux de contamination fongique de 90% (Tableau:35).

Les collyres préparés par macération avec l'eau de robinet ont été les moins contaminés avec un taux contamination fongique 44%.

Dans les CEU, les macérations faites avec l'eau de puits étaient à 100% contaminées (Tableau: 37).

VI-2-3: Contamination amibienne

Il a une rare contamination amibienne de nos échantillons.

Les amibes libres ont été retrouvées seulement dans les C.C.T avec un taux de contamination de 12% de nos échantillons (Tableau:40).

En Europe et au Nouvelle-Zélande, des études similaires avaient aussi révélés des contaminations amibiennes dans des liquide de rinçage de lentilles de contacts (13, 31). Par rapport à ces études précédentes, nous avons eu un taux de contamination amibienne inférieur a ce obtenus au Nouvelle-Zélande dans les liquide de rinçage de lentilles de contacts.

Conformément à l'étude faite par Traoré L. au Mali sur les amibe libres, nous avons également trouvé une contamination amibienne largement associée à des bactéries et des Champignons.(29). Car les 5/6 des prélèvement positifs aux amibes contenaient également des bactéries et des champignons (tableau: 49).

Sur les plans qualitatif: Comme pour les liquide de rinçages des lentilles de contacts, nous avons également retrouvés *Acanthamoeba spp*, *Hartmanella spp* et *Valkampfia spp*.

A M LE FLOHIC avait aussi isolé ces mêmes germes amibiens dans des prélèvements d'eau de surface à usage domestique à Nioro et à Sikasso au Mali (communication personnel,1992). Différemment au liquides de rinçages des lentilles de contacte, nous n'avons pas trouvé de *Naglariae spp*.

Parmi les genres amibiens que nous avons isolé, seul *Acanthamoeba spp* est connus en pathologie oculaire.

Les infections oculaires causé par les *Acanthamoeba spp* sont les kératites.

Après la découverte du premier cas de kératite amibiennes par Jones et coll en 1973 au U.S.A de nombreux autres cas de cette pathologie ont été rapporté en Europe, en Asie et en Afrique. En Europe, les kératites amibiennes ont été essentiellement retrouvés chez des porteurs de lentilles de contacts. Et il s'agissaient des personnes qui utilisaient des solutions de rinçage de lentilles de contacts à base d'eau non stérile.

Pour le Mali, le premier cas de kératite amibienne à été diagnostiqué par Resnikoff R. et coll en 1991 à I.O.T.A (27).

Selon Traoré et coll les kératites amibiens Représentaient 25% des ulcères cornéens diagnostiquer à Bamako. Et étaient survenus dans 50% des cas sur des yeux non traumatisés ni antécédent de port de lentilles de contacts. Les atteintes primaires amibiennes n'étant pas fréquentes. Les kératites bactériennes et fongiques ont cité comme les facteurs favorisants. Et utilisation des eaux de toilettes pollués ou des collyres préparés traditionnellement contaminés favoriseraient le contacte entre les amibes et épithélium lésé(6).

Par rapport la qualité de l'eau, il y a une différence statistiquement significative entre les C.E.P et les C.E.R ($p= 0,01$, Tableau 42).

D'où la contamination amibienne a été significatif dans les préparation faites avec l'eau de puits.

Les différantes espèces ont été isolées avec les mêmes fréquences à l'exception de *Cochlipodium sp*

Par rapport au mode préparation, la contamination amibienne à été plus importante dans les macérations que dans les décoctions ($p = 0,02$:Tableau: 44).

Conclusion

VII. Conclusion

Notre travail avait pour objectif de :

- Déterminer des micro-organismes contaminant dans les C.P.T
- Faire une évaluation quantitative de la contamination bactérienne.
- Déterminer l'influence de la qualité de l'eau et du mode de préparation sur la contamination des C.P.T.
- Suivre les pratiques de préparation et d'utilisation des C.P.T.

Malgré la taille de notre échantillon, nous avons eu des résultats qui indiquent une contamination de ces C.P.T par des bactéries, champignons et amibes libres.

Nos résultats montrent une contamination bactérienne de ces C.P.T quel que soit le mode de préparation et la qualité de l'eau par les préparateurs.

Cette contamination bactérienne est aussi quantitativement importante quel que soit le mode de préparation et la qualité de l'eau.

Sur le plan qualitatif, les germes bactériens recherchés : les Streptocoques, les Staphylocoques et les entérobactéries ont été trouvés dans bon nombre de nos échantillons.

En plus des germes recherchés nos échantillons renfermaient également d'autres germes d'origines environnementales comme les bacilles à Gram positives et les microcoques.

Concernant le rôle de la qualité de l'eau et sur la contamination bactérienne il s'est caractérisé par un nombre de C.E.P contaminé plus élevé que de C.E.R contaminés avec une différence significative dans les groupes des C.C.T.

Pour le rôle du mode de préparation, il a eu également un grand nombre de macérations contaminées que de décoction avec une différence significative dans le groupe des C.E.U.

En plus des bactéries, nous avons retrouvé des contaminants fongiques dans ces C.P.T.

Presque toutes les contaminations fongiques ont été trouvées associées à une contamination bactérienne.

Sur le plan qualitatif cette contamination fongique se caractérise par une diversité de germes de champignons filamenteux et levures.

Concernant le rôle du mode de préparation et la qualité de l'eau sur la contamination fongique, nous n'avons pas trouvé de différence significative entre décoctions et macération ni les C.E.P et C.E.R. Cependant nous avons vu que le nombre de préparations faites par macération avec l'eau de puits contaminée est plus élevé que celui des décoctions faites avec l'eau de robinet contaminé.

Pour la contamination amibienne les quelques rares cas nous indiquent qu'il existe des risques de contamination des C.P.T par les amibes libres.

Avec une différence significative d'une part entre les macérations et les décoctions, d'autre part entre les C.E.P et C.E.R.

Il apparaît que les préparations faites avec l'eau de puits et quel que soit le mode de préparation sont les plus exposées à une contamination amibienne.

Au vu de ces résultats, nous constatons que ni le mode de préparation ni la qualité de l'eau utilisée ne sont suffisants pour expliquer la présence des germes contaminant dans ces C.P.T.

D'autres facteurs tels que les conditions de préparation, de conditionnements et de conservations interviendraient dans la contamination de ces C.P.T.

La présence des germes comme *Staphylococcus aureus*, *Streptocoques sp.*, *Paecilomyces sp.*, *Aspergillus sp.*, et *Acanthamoeba sp.* indique que les utilisateurs de ces C.P.T sont exposés à des infections oculaires telles que les conjonctivites bactériennes et les infections cornéennes d'origine fongiques, amibiennes ou bactériennes (18;22, 26, 27, 31).

Références bibliographiques

BIBLIOGRAPHIE

- 1- Avril JL., Dabernat H., Denis E., Monteil. H.
Bactériologie clinique 2ième édition
- 2 - Boubes C., Caleazi M.
Diagnostic mycologique des champignons contaminants
Technique et biologie, 1992, (XVIV).
- 3- Bacon A., John K., Dart G., Cinda A.
Acanthamoeba keratitis the value of early diagnostic.
Ophthalmology, 1993(100), 8: 1328-1342.
- 4- Brudieu E., DucDL., Massele. J.J, Craise.J, valence B, Meydan .I. Mouillon .M.
Françon. A, Calop. J
Contamination bactérienne des collyres multidose, étude prospective au CHU de Grenoble
(France)
Pathologie biologie 1999, 47(10): 1066-70.
- 5- Badillet G., De Brièvre C., Gueho E.
Champignons contaminants des cultures, Champignons opportunistes
Atlas de clinique et biologique :1987.
- 6- Bobo C.
Les kératites amibiennes, Médecine tropicale 1995, 4 : 439 – 442.
- 7- Blood and tissues Protozoat
Page: 744- 748.
- 8- Clarck .P.J, Ong. B, Stanley. CB
Contamination of diagnostic ophthalmic solution in primary eye care setting mylitari medicine
british journal of ophthalmology, 1997jul, 162(7): 501- 6.
- 9- Courtright P, Lewallen S, Kanjalotis S Divala D J
Traditional eye medicine use among patients with corneal disease in rural Malawi
British Journal Of Ophthalmology, 1994, 78: 810 – 812.
- 10- Elizabeth.J, Stephen.E, Ehigin.S, Juan. J, Arestsen.R, Euole.J.R
Acanthamoeba keratitis extended Abstracts: S426 - S429.
- 11 François J, Elewaut-Rysselaere M; Devas E.
Les mycose oculaires. Masson et Cie, 1968: 18-37).
- 12-Fernando. S.E, Lauer. C. S.
Aspergillus fumigatus infection of the optic nerve with myotic arteritis of cerebral vessels
Histopathology : 1982, 6. 227- 234.
- 13- Illing C.D., Cook S. D, Karabastsas, C H. .. Easty D L
Acanthamoeba keratitis : risk factor and outcome
British Journal Of Ophthalmology , 1995, 79: 1078-1082.
- 14- Koné D.
contribution à l'étude de la qualité bactériologique se l'eau de puits dans des quartiers de
Bamako
Thèse de pharmacie Bamako 1990.
- 15- Keïta A.
Étude ethno botanique des plantes médicinales à usage oculaire
Thèse de pharmacie Bamako, 1999, 99-P-31.

- 16- Leflohic A.M., Huguet P., Souria Belaïd A., Traore L., Le Jure B., Resnikoff.S.
 Flore fongique des eaux villageoises du Mali importance et conséquences prévisibles pour la santé.
 Mycologie médicale, 1993: 159- 164.
- 17- Leflohic A. M.
 cultures pour recherche d'amibe libre dans les prélèvement oculaires et lentilles.
 Microbiologie vision 01, 1999 avril, CHU de Brest.
- 18- Laveranh R., Banial R.
 Étude de la contamination bactérienne des collyres à usage clinique.
 Journal français d'ophtalmologie,1997, 20: 17- 24.
- 19- Lewallen, S. Courtright P.
 Peripheral corneal ulcers associated with use of traditinal eye madecines
 British Journal Of Ophtalmology, 1995 Aprl, (79), 4: 343 –346.
- 20- Livingtone. D. J, Hanlan.G.W, Dykes S
 Evalution of extended période of use for preserved eye drop in hospital pratice
 British journal of ophtalmology, 1998(5) 82:. 473 – 5.
- 21- Législation des professions sanitaires et para – sanitaires
 Journal officiel du secrétariat de général du gouvernement de la république du Mali
 Juin 1995.
- 22– Maria H., Elizabeth W., Mercy N., Paul D., Gordo J.
 Cause of suppurative keratitis in ghana
 British Journal Of Ophtalmology,1995,79:1024 1028.
- 23- Marchal N., Bourdon, J.L Bourdon, Binet F.
 laboratoire de bactériologie médical équipements, techniques de bases, sécurité: 380 – 384
- 24– Parkin B., Turner A., Mone E., Cook S
 Bacterial keratitis in the cristically ill.
 British journal of ophtalmology,1997(8),12: 1060- 1063.
- 25- Page F.C.
 A new key to freswater and soil gymnamoebae with instuction for culture
 Freshwater biological: 9- 14.
- 26 -Pharmacopée français IX éditions
- 27- Resnikoff R. , Crespo P., Simitzis N, Leflohic.A. M.
 Premier cas de kéraite à amibes libres du genre *Acanthamoeba* diagnostiqué au Mali1991,84, :1016 – 1020.
- 28- Srinivasan M, Gonzales C.A., George C., Cevalas, V. Mascarenhas J. M., Wilkins, J. Smolin G., Whicher J. P.
 Epidemiology and ethiological dignostisis of corneal ulcer in M aduraï South India.
 British Journal Of Ophtalmology,1997,81: 965- 971.
- 29- Traore L.
 Approche épidémiologie des éventuels facteurs favorisant la présence des acantaoeba dans les eaux douces du Mali
 Mémoire de DEA Brest 1995- 1996 : 8- 12.

30- Traore L. ., Huguet P. Paniagua E. Lejeune B, Resnikoff S. Leflohic A.M
Amibes libres et amibiase oculaire état actuel et perspectif pour le sahel.
Médecine et armé : 1993:139- 143.

31- Trevor. B.G. Ray. T M., Cursans J., Sherwan B., Lewallen,P., Rose R.
Acanthamoeba. bactétial and fungal contamination of contact len storage cases
British Journal Of Ophtalmology, 1995, (79), 6:601 – 605.

32- Yorston D, Foster A
traditionnal eye madecine and corneal ulcration in tazania
Journal of tropical medecine hygiene, 1994,97:211- 214.

Annexes

Nom prénoms : TRAORE Adama
Titre de la thèse : ***Collyres préparés traditionnellement et micro-organismes contaminants***
Année de soutenance : 2001
Ville de soutenance : Bamako
Lieu de dépôt : Bibliothèque de la F.M.P.O.S.
Secteur d'intérêt : Ophtalmologie – Médecine traditionnelle

Résumé

Partant des travaux réalisés par Dr Keïta A (14) sur le traitement traditionnel des affections oculaires à Bamako, nous avons jugés intéressant de réaliser une étude de la contamination des médicaments utilisés traditionnellement pour traiter les affections oculaires.

Notre travail consistait à :

- Recueillir des informations sur les conditions et les modes de préparation des collyres préparés traditionnellement.
- De déterminer les contaminants ; bactériens, fongiques et amibiens.
- En fin déterminer le rôle du mode de préparation et de la qualité l'eau utilisée sur la contamination de ces collyres préparés traditionnellement.

Cette étude a été effectuée sur 50 collyres collecter auprès des tradithérapeutes et 20 collyres en cour d'usage chez des patients utilisateurs.

Ces collyres étaient des décoctions ou des macérations faites avec l'eau de puits ou de robinet; préparer et conditionner dans des récipients comme les calebasses, les bouteilles les bidons simplement lavé à l'eau.

Nous avons trouvé une contamination bactérienne dans 90% des collyres collecter auprès des préparateurs et 75% des collyres en cour d'usage chez des patients. Le nombre de germes par ml dans les échantillons contaminés était compris entre 2.10^4 à plus 3.10^6 UFC/ml.

La contamination fongique a été de 58% pour les collyres collectés auprès des tradithérapeutes et 50% pour les collyres en cour d'usage chez des patients utilisateurs. Cette contamination fongique a été surtout marquée par les présences des *Aspergillus* et les *Candidas*

La contamination amibienne n'a été observée que dans les collyres collecter auprès des tradithérapeutes avec un taux de 12%. Parmi les espèces amibiennes isolées, il avait *Acanthamoebae sp.*

Au vus des résultats, nous avons trouvé que le mode préparation et la qualité de l'eau ne sont pas les seuls facteurs contaminants de ces collyres préparés traditionnellement.

Mots clés : Médecine traditionnelle, collyres, contamination.

Serment de GALLIEN

Je jure en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma connaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer dans l'intérêt de la santé publique ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, en aucun cas, je ne consentirai à utiliser ma connaissance et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Je le jure.

