

Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique.

République du Mali
Un Peuple – Un But – Une Foi



Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto- Stomatologie (FMPOS)

Année Universitaire 2009 - 2010

Thèse N°/P

TITRE

**FREQUENCE D'ISOLEMENT DES PSEUDOMONAS AU
LABORATOIRE DE BACTERIOLOGIE CVD DU CHU
GABRIEL TOURE DE 2002 A 2008**

THESE

présentée et soutenue publiquement le __/__/ 2009

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

par

Mlle DIARRA Faity

pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie

(Diplôme d'Etat)

JURY

Président : **Professeur Elimane MARIKO**
Juges : **Professeur Sounkalo DAO**
: **Docteur Samba A SANGARE**
Co- directeur de thèse : **Docteur Souleymane DIALLO**
Directeur de thèse : **Professeur Flabou BOUGOUDOGO**

**FREQUENCE D'ISOLEMENT DES PSEUDOMONAS AU
LABORATOIRE DE BACTERIOLOGIE CVD DU CHU
GABRIEL TOURE DE 2002 A 2008**

DEDICACES ET REMERCIEMENTS

Je ne saurais dédié ce travail sans rendre grâce au Créateur, Allah, l'Absolu, le Clément et Miséricordieux, pour nous avoir accordé le temps de le mener « à bon port ». Puisse Allah m'éclairer de sa lumière divine, Amen !

Allah

Donnes à mes yeux la lumière pour voir ceux qui ont besoin de soins.

Donnes à mon cœur la compassion et la compréhension.

Donnes à mes mains l'habileté et la tendresse.

Donnes à mes oreilles la patience d'écouter.

Donnes à mes lèvres les mots qui réconfortent.

Donnes à mon esprit le désir de partager.

Donnes moi, Allah le courage d'atteindre mes vœux les plus ardents et fait que j'apporte un peu de joie dans la vie de ceux qui souffrent.

Amen !

- **Au Prophète MOHAMED** salut et paix sur lui, à toute sa famille, à tous ses compagnons et à tous ceux qui le suivront jusqu'au jour du jugement.

Je dédie ce modeste travail à :

- **Mon père Boubacar Sidiki DIARRA:**

Grâce à toi, j'ai appris le sens du combat dans la vie, la dignité, la tolérance, la probité, le respect de soi et des autres, la rigueur et la persévérance. Ton soutien moral, affectif et matériel ne m'a jamais manqué, je te suis reconnaissante pour toute la confiance que tu as accordée à ma modeste personne depuis le début de mon cycle. A mon tour cher père, par ce travail je ne cesserai de t'honorer. Merci Papa ; qu'Allah le tout puissant te garde encore longtemps près de nous.

- Ma mère Kadiatou BARRY :

Femme dynamique, humble, loyale, généreuse, honnête et attentionnée. Tu représentes pour moi l'exemple de la bonté, du respect de l'autre, de la femme modèle. Ce travail est le fruit de tes longues années de patience, d'efforts et de sacrifices pour parfaire notre éducation et notre instruction. Tes conseils, tes encouragements ne m'ont jamais fait défaut. Tes bénédictions seront toujours pour moi la lampe qui illumine la voie devant m'indiquer le chemin de l'honneur. Merci encore une fois pour tes bénédictions. Que Dieu te donne longue vie pour cueillir le fruit de ta semence et j'aurai toujours besoin de toi pour guider mes pas et ma pensée.

- Ma fille Fanta DEMBELE dite Anna

Les mots me manquent pour exprimer mon amour pour toi, tu es venue illuminer mon cœur, ma vie. Anna, je t'aime plus que tout au monde, Que Dieu te donne longue vie et bonne santé à côté de ta gentille maman et ton papa.

Mes profonds remerciements

- A mon oncle Mamadou KONATE

Vous m'avez toujours traité avec amour, affection et sans distinction. La paix, l'attente, le respect et l'amour qui se trouvent dans la famille est le fruit de votre bon sens. Pour tout le soutien et l'aide que vous m'avez apporté pour la réalisation de ces études. Permettez moi de vous exprimer toute ma gratitude, Je vous suis reconnaissante et je prie que Dieu vous accorde longue vie et santé.

- A mes grands parents qui ne sont pas parmi nous :

Feu Tiecoura DIARRA, Feu Salif BARRY, Feue Assitan MARIKO, Feu Sekou KONATE. Que le message d'Allah vous apporte la bonne nouvelle. Votre amour sera éternellement gravé dans mon cœur. Que le bon Dieu vous accorde la paix éternelle.

- A mes grand-mères

Niéle COULIBALY, Fanta DIALLO, Fanfan COULIBALY, merci pour vos bénédictions de tous les jours malgré le poids de la vieillesse. Que Dieu vous garde encore longtemps parmi nous.

- A la famille MAIGA, KONATE, DEMBELE, LY

Permettez moi de vous exprimer toute ma gratitude, Je vous suis reconnaissante et je prie Dieu de vous accorder longue vie et santé.

- A mes frères et sœurs :

Salimata, Tiecoura, Salif, Cheick Oumar

La fraternité n'a pas de prix le dit-on. J'espère qu'elle restera toujours un lien sacré entre nous. Trouvez tous ici l'expression de mon fraternel amour et merci pour votre soutien moral et matériel. Ce travail est le vôtre.

- A mes cousins et cousines :

Mariam, Fanta, Amadou, Boubacar, kady, Goita, Tissi, Tossi, Awany, Data...

- A mes neveux

Mamadou DIAWARA, Boubacar S DIAWARA, Kadidiatou DIAWARA, Kadiatou PLYABA, Déja HAIDARA, Mohamed HAIDARA...

- Mon adorable fiancé Dr DEMBELE Kolly Aly

Tes sages conseils, tes encouragements et ton soutien ne m'ont jamais fait défaut. Qu'Allah nous assiste tout au long de ce chemin que nous allons emprunter ensemble, qu'il fasse régner dans notre foyer le respect, la pitié, l'amour et l'entente. Prends ce travail comme le tien et la confirmation du profond amour que j'ai pour toi.

- A ma belle famille DEMBELE

Merci de m'avoir acceptée dans votre famille.

- A tous mes ami(e)s :

Sanata COULIBALY, Aïssata DIALLO, Hawa KONATE, Mohamed Ag BARAIKA, Moussa DIAKITE, Chaca DIALLO, Abdoulaye GUINDO, Moussa SAMAKE

Pour l'affection et les conseils donnés. J'aurai toujours besoin de vous et votre amitié est devenue une fraternité. Je pris que cette amitié ne se détruise jamais.

- A Hamadi SISSOKO, Abdoul Karim KONE, Yacouba COULIBALY, tous les membres de la A12, pour vos encouragements trouvez ici l'expression symbolique de ma très haute et fraternelle reconnaissance.

- A tous mes professeurs de la FMPOS pour la qualité de l'encadrement.

- A mes camarades de promotion de la FMPOS

Ensemble on a su regrouper nos forces afin de s'aider mutuellement pour franchir les différents obstacles de vie estudiantine.

Je vous dis encore merci pour votre courage et votre persévérance et surtout pour vos soutiens dans les peines partagées.

- A mes aînés du laboratoire de l'HGT

Docteurs Samba A SANGARE, Aliou TOURE, Mariam SAMAKE, Ténin SAMAKE, Cheick Fanta Mady DIABATE, Mahamadou O MAÏGA, Boubacar CISSE, Dramane MALLE, Maïmouna GORO Vous avez tous contribué à la belle réalisation de ce travail et merci sincèrement pour tout.

- A tout le personnel du laboratoire du CHU Gabriel TOURE

A Messieurs : Yaya SANGARE, Youssouf TOURE, Amadou KEÏTA.

A Mmes : LALLET, KONATE, SANGARE, TRAORE, SOUMAORO, SIDIBE, SOW...

Merci pour votre disponibilité. Trouvez ici ma profonde reconnaissance.

- A tous les Internes du Laboratoire du CHU Gabriel TOURE

Toute ma reconnaissance pour l'estime et le respect que vous avez manifesté à mon égard. Merci pour vos conseils et vos encouragements.

- **A tous ceux** dont je n'ai pu citer le nom : sachez que je vous porte tous dans mon cœur et merci.

- A tout le personnel de la bibliothèque de la FMPOS pour leur soutien.

- A tous les enfants malades, bon rétablissement, que Dieu vous donne longue vie pleine de santé.

HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY

A notre Maître et Président du jury

Professeur Elimane MARIKO

Colonel des Forces Armées du Mali.

Professeur titulaire en pharmacologie à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto- Stomatologie (FMPOS)

Chargé de missions et Coordinateur de la Cellule Sectorielle de Lutte Contre le VIH/SIDA au Ministère de la Défense et des Anciens Combattants.

Nous ne saurons trouver les mots les meilleurs pour exprimer notre admiration et notre profonde gratitude ;

Nous apprécions à sa juste valeur, l'intérêt avec lequel vous avez accepté de présider ce travail. Votre enseignement clair et efficace fait de vous un Maître exemplaire. Soyez en vivement remercié.

Nous vous exprimons cher Maître, toute notre reconnaissance.

A notre Maître et Juge

Professeur Sounkalo DAO ;

Maître de Conférences à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie ;

Président de la Société Malienne de Pathologie infectieuse;

Membre de la Société de Pathologie Infectieuse de Langue française;

Investigateur Clinique au Centre de Recherche et de Formation sur la tuberculose /VIH

Votre disponibilité nous a permis d'apprécier en vous vos imminentes qualités humaines et scientifiques.

Nous ne saurions jamais trouver assez de mots pour témoigner notre reconnaissance, non seulement pour l'intérêt que vous portez à notre travail mais aussi la spontanéité avec laquelle vous avez accepté de le diriger. Votre rigueur dans la démarche scientifique et votre amour pour le travail bien fait font de vous un Maître exemplaire.

Veillez accepter cher Maître, le témoignage de notre profond respect et de notre sincère gratitude.

A notre Maître et Juge

Docteur Samba Adama SANGARE

Pharmacien chercheur au laboratoire de bactériologie Centre pour le Développement des Vaccins - Mali du CHU Gabriel Touré;

Assistant en bactériologie et virologie à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto- Stomatologie.

Honorable Maître, c'est un grand plaisir et un honneur pour nous de vous compter parmi les membres de ce jury.

Votre disponibilité et votre grande simplicité ont toujours un grand apport pour la nouvelle génération.

Veillez accepter cher Maître, nos sentiments d'estime et de profond respect.

A notre Maître et Co- directeur de thèse

Docteur Souleymane DIALLO ;

Pharmacien biologiste, Colonel des Forces Armées du Mali.

Chef du laboratoire d'analyses médicales du CHU Gabriel Touré ;

Maître assistant en bactériologie et virologie à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie (FMPOS).

Honorable Maître, votre appui a été d'un grand apport dans l'élaboration de ce document ;

Votre simplicité, votre sérénité, votre disponibilité, et votre esprit communicatif font de vous un Maître admiré de tous.

Soyez rassuré, cher Maître de notre profond attachement aux valeurs qui vous sont chères tel que le travail bien fait et la lutte contre la corruption ;

Veillez trouver ici notre profond respect et nos sincères remerciements.

A notre Maître et Directeur de thèse

Professeur Flabou BOUGOUDOGO ;

Maître de Conférence Agrégé en Bactériologie et Virologie à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto- Stomatologie (FMPOS);

Directeur Général de l'Institut National de Recherche en Santé Publique ; responsable des cours de bactériologie et virologie à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto- Stomatologie (FMPOS).

Chevalier de l'Ordre de Mérite de la Santé

Cher Maître, vous nous avez fait honneur en acceptant la réalisation de cette thèse dans le service de laboratoire d'Analyses Médicales du CHU Gabriel Touré. En plus de statut de chercheur confirmé et aguerri, nous avons vite apprécié vos immenses qualités humaines et scientifiques. Vos remarques et suggestions ont sans doute contribué à l'amélioration de ce travail.

Votre simplicité et votre disponibilité font de vous un maître respecté et admiré de tous.

Soyez assuré, cher maître, de notre sincère admiration et de notre profonde gratitude.

Nous vous réitérons tous nos remerciements.

PLAN

INTRODUCTION

GENERALITES SUR LES PSEUDOMONAS

METHODOLOGIE

RESULTATS DE L'ETUDE

COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

REFERENCES

LISTE DES ABREVIATIONS

API: Analytical Profile Index

BGN: Bacille Gram Négatif

BGP: Bacille Gram Positif

CGPgr : Cocci Gram Positif en grappe

CGPpr : Cocci Gram Positif en paire

CGPch : Cocci Gram Positif en chaîne

CoccoBGN : Cocco Bacille Gram Négatif

CVD : « Center for Vaccine Development » Centre pour les Vaccins en Développement

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

DCGN : Diplocoque Gram Négatif

GDH : "Global Digital Health"

HGT : Hôpital Gabriel TOURE

INRSP : Institut National de Recherche en Santé Publique

LCR : Liquide Céphalo- Rachidien

SNA : Staphylococcus non aureus

SIBI : Suspicion d'Infection Bactérienne Invasive

SNC : Staphylocoque à Coagulase Négative

SOMMAIRES

1. Introduction et objectifs.....	1
2. Généralités.....	2
2.1. Famille des Pseudomonaceae.....	3
2.1.1. Historique.....	3
2.1.2. Classification.....	3
2.1.3. Habitat.....	7
2.1.4. Caractères bactériologiques.....	7
2.1.5. Caractères biochimiques conventionnels.....	8
2.1.6. Caractères d'identification communs aux pseudomonades.....	9
2.1.7. Facteurs de virulence.....	9
2.1.8. Manifestations cliniques	11
2.1.9. Diagnostic microbiologique	12
2.1.10. Traitement.....	12
2.2. Etude de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12
2.2.1. Dénomination.....	12
2.2.2. Habitat.....	12
2.2.3. Morphologie.....	13
2.2.4. Caractères cultureux.....	13
2.2.5. Caractères d'identification.....	14
2.2.6. Structure antigénique et réponse immunitaire.....	16
2.2.7. Physiopathologie.....	18
2.2.8. Résistance aux antibiotiques.....	19
2.2.9. Epidémiologie et Prévention des infections nosocomiales.....	21
2.2.10. Manifestations cliniques.....	22
2.2.11. Diagnostic bactériologique	25

2.2.11. Eléments de thérapeutique.....	26
3. METHODOLOGIE.....	27
3.1. Cadre d'étude.....	27
3.2. Etude.....	28
3.2.1. Type d'étude.....	28
3.2.2. Durée de l'étude.....	29
3.2.3. Critères d'éligibilité	29
3.3. Aspects éthiques de l'étude	30
3.4. Réception des prélèvements au laboratoire.....	32
3.5. Hémostoculture.....	32
3.5.1. Présentation de la méthode d'hémostoculture.....	32
3.5.2. Protocole de techniques des hémostocultures positives.....	36
3.6. LCR.....	40
3.6.1 Techniques préliminaires sur le LCR et les autres liquides biologiques...40	
3.6.2. Protocole de travail de la Culture du LCR.....	43
3.7. Techniques utilisées pour l'identification des bactéries.....	43
3.7.1. Coloration de Gram.....	43
3.8. Tests biochimiques et métaboliques	46
3.8.1. Oxydase.....	46
3.8.2. Galeries classiques pour les bacilles à Gram négatif.....	48
3.9. Galerie API 20E.....	51
3.10. Test de Sensibilité des antibiotiques : Méthode de diffusion des disques d'antibiotiques selon Kirby- Bauer.....	51
4. Résultats.....	57
4.1. Résultats globaux.....	57

4.2. Présentation des résultats sociodémographiques.....	58
4.3. Etude bactériologique des prélèvements.....	62
4.3.1. Fréquence des germes isolés	62
4.3.2. Profil antibiotique des espèces de <i>Pseudomonas</i> isolées.....	74
5. Commentaires et Discussions	80
5.1. Du point de vue de la méthodologie.....	80
5.2. Du point de vue des résultats globaux.....	82
5.3. Du point de vue la sensibilité aux antibiotiques.....	82
5.4. Du point de vue socio- démographique.....	84
5.5. Devenir des patients.....	84
6 conclusion et recommandations.....	85
6.1 Conclusion.....	85
6.2. Recommandations.....	86
7. Références.	87

Tableaux

Tableau I: Changement taxonomiques d'espèces classées dans les <i>Pseudomonas</i>	6
Tableau II: Facteurs de virulence des <i>Pseudomonas</i>	10
Tableau III: Caractères minimum requis pour l'identification de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15
Tableau IV: Répartition des <i>Pseudomonas</i> selon l'âge, le sexe, la résidence et le devenir.....	58
Tableau V: Répartition des patients en fonction du sexe.....	59
Tableau VI: Répartition des enfants en fonction de l'âge.....	60
Tableau VII: Répartition des patients en fonction de leur devenir.....	61
Tableau VIII : Répartition des cas selon la résidence et l'année.....	62
Tableau IX : Résultats des hémocultures.....	63
Tableau X: Résultats des LCR de 2002 à 2008.....	64
Tableau XI : Résultats des autres prélèvement de 2002 à 2008 : liquides pleural, articulaire, sous- cutané, péritonéal et musculaire, pus	65
Tableau XII: Total des prélèvements effectués au CHU Gabriel TOURE chez les enfants de moins de 17 ans de 2002 à 2008.....	66
Tableau XIII : Résultat des Hémocultures effectuées au CHU Gabriel TOURE chez les enfants de moins de 17 ans de 2002 à 2008.....	70
Tableau XIV: Résultats des LCR effectués à l'HGT chez les enfants de moins de 17 ans de 2002 à 2008.....	71
Tableau XV: Résultats des Autres liquides effectués à l'HGT chez les enfants de moins de 17 ans de 2002 à 2008.....	72

Tableau XVI: Récapitulatif des bactéries du genre <i>Pseudomonas</i> isolées au laboratoire de 2002 à 2007.....	73
Tableau XVII: Sensibilité des espèces de <i>Pseudomonas</i> testées à l'Ampicilline.....	74
Tableau XVIII: Sensibilité des espèces de <i>Pseudomonas</i> testées au chloramphénicol.....	75
Tableau XIX: Sensibilité des espèces de <i>Pseudomonas</i> testées au Céftriaxone.....	76
Tableau XX: Sensibilité des espèces de <i>Pseudomonas</i> testées au Cotrimoxazole.....	77
Tableau XXI: Sensibilité des espèces de <i>Pseudomonas</i> testées à la Gentamicine.....	78
Tableau XXII: Sensibilité des espèces de <i>Pseudomonas</i> testées à la Ciprofloxacine.....	79

Figures

Figure 1: BACTEC® 9050.....	33
Figure 2 : Le flacon BD Bactec™ PEDS PLUS /F.....	35
Figure 3: Galerie pour l'identification des entérobactéries et autres BGN.....	51
Figure 4 : Représentation graphique de la répartition des patients en fonction du sexe.....	59
Figure 5 : Représentation graphique des patients en fonction de leur devenir.....	61
Figure 6 : Représentation graphique des prélèvements d'hémocultures par année.....	67
Figure 7 : Représentation graphique des prélèvements de LCR par année.....	68
Figure 8 : Représentation graphique des prélèvements des Autres liquides par année.....	69
Figure 9 : Représentation graphique du résultat de la culture du BACTEC® positif.....	70

1. Introduction et objectifs

Les infections microbiennes occupent actuellement la première place dans les pathologies médicales. Malgré les efforts déployés pour endiguer ce fléau, les maladies infectieuses continuent de poser d'énormes problèmes de santé publique [1].

La fréquence des infections à bacille pyocyanique s'accroît toujours régulièrement en milieu hospitalier, tandis que les recherches bactériologiques et immunologiques se poursuivent. Le germe ubiquitaire peu pathogène pour l'homme sain, devient redoutable chez les malades dont les défenses immunitaires humorales et cellulaires sont diminuées : leucémiques, cancéreux, brûlés [2].

Dans le genre *Pseudomonas*, *Pseudomonas aeruginosa* (ou bacille pyocyanique, pyocyanique) représente 80 % des souches isolées ; les autres espèces sont isolées à faible fréquence. *Pseudomonas* est un germe présent dans l'environnement : on le trouve dans les milieux humides. A l'hôpital, ce germe est répandu dans le même type d'environnement (robinets, éviers, douches, surface de thermomètres buccaux, nébuliseurs, humidificateurs, siphons, etc.). Par ailleurs, cette bactérie peut vivre en commensale de l'homme au niveau du tube digestif [3].

L'importance relative des *Pseudomonas* comme infections nosocomiales est illustrée par les données de surveillance collectées par le CDC d'Atlanta aux Etats-Unis.

Durant la décennie 1980-1990, les bactéries du genre *Pseudomonas* étaient responsables de 11% des infections endémiques et de 16% des épidémies investiguées par le CDC ; de 1987 à 1992, *Pseudomonas aeruginosa* et *Stenotrophomonas maltophilia* étaient respectivement isolés de 10% à 0,5% des infections nosocomiales recensées aux Etats-Unis [4].

Les *Pseudomonades* ubiquistes ont souvent une versatilité nutritionnelle très large, ce qui leur permet de vivre dans des niches écologiques naturelles très diverses.

A cause de la richesse de leurs voies métaboliques, elles sont souvent capables de résister à de nombreux antiseptiques ou antibiotiques, ce qui favorise leur sélection, en milieu hospitalier par exemple. Elles peuvent aussi, grâce au caractère psychotrope de nombreuses souches, détériorer des denrées alimentaires, des médicaments ou des réactifs biologiques conservés au froid [5].

Ce travail est réalisé dans le service du laboratoire d'analyse médicale (section bactériologie) dans le cadre de l'étude du Centre pour les Vaccins en Développement du MALI (CVD- MALI) en cours à l'hôpital Gabriel TOURE depuis février 2002. Il se propose d'évaluer la fréquence d'isolement des *Pseudomonas* dans les infections bactériennes invasives à partir des liquides biologiques.

Pour ce faire nous nous sommes fixés des objectifs suivants :

Objectif général

Evaluer la fréquence d'isolement des *Pseudomonas* dans les infections bactériennes invasives à partir des liquides biologiques prélevés à la pédiatrie.

Objectifs spécifiques

- Déterminer la fréquence des prélèvements des différents liquides biologiques
- Identifier les germes dans les différents liquides biologiques
- Déterminer la fréquence d'isolement des *Pseudomonas* dans les prélèvements des différents liquides biologiques
- Déterminer la répartition des *Pseudomonas* selon l'âge, le sexe, la résidence et l'année, le devenir
- Déterminer le profil de la sensibilité des *Pseudomonas* aux antibiotiques par rapport aux antibiotiques couramment utilisés.

2. GENERALITES

2.1. Famille des Pseudomonaceae

2.1.1. Historique

Au 18^e siècle, le botaniste allemand Müller désignait les micro-organismes en bâtonnets très mobiles sous le nom de Monas (formes droites) et de vibrio (formes spiralées). Plus tard, en 1894, Migula créa le genre *Pseudomonas* pour y classer les bactéries du genre Monas, ce dernier genre s'étant révélé hétérogène, contenant à la fois des protistes eucaryotes et des bactéries. La grande mobilité des *Pseudomonas* est due à l'implantation polaire de leurs flagelles, et cette propriété a été utilisée, dès 1917, pour définir la famille des Pseudomonadaceae. Pendant cette période morphologique, le nombre de genres et espèces admis dans cette famille est devenu considérable et leur classification très confuse.

Mais, au cours des deux dernières décennies, la classification a été très fortement améliorée et simplifiée grâce à de nombreux travaux taxonomiques, parmi lesquels il convient de citer surtout les études physiologiques de Stanier, Palleroni et Doudoroff publiées en 1966, et des expériences d'hybridation, rARN-ADN de Palleroni et Coll. de De Vos et de De Ley, publiées respectivement en 1973 et 1983.

D'autre part, il faut signaler l'intérêt des travaux de Liu, qui découvrit en 1966 l'exotoxine protéique produite par *Pseudomonas aeruginosa*; Cette toxine explique en grande partie la gravité des infections dues à cette bactérie [5].

2.1.2. Classification

Le genre *Pseudomonas* était un genre pléthorique avec 160 espèces répertoriées en 1957. L'édition 1974 du Bergey's Manuel retenait 29 espèces dont 13 d'intérêt médical; en 1984, il gardait 30 espèces principales.

En 1973, Palleroni distingue 5 groupes d'hybridation ARN/ADN. Les études taxonomiques se sont ensuite succédées en utilisant diverses méthodes : hybridation ADN/ADN, séquençage de ARNr 16S, pour aboutir à de profonds remaniements créant de nouvelles espèces et de nouveaux genres.

La classification actuelle des *Pseudomonas* et de divers bacilles à Gram négatif non fermentants de ce groupe est la suivante.

Groupe I d'ARN

Groupe fluorescent → genre *Pseudomonas stricto sensu*

Pseudomonas aeruginosa

Pseudomonas fluorescens

Pseudomonas putida

Pseudomonas veronii sp. nov.

Pseudomonas alcaligenes

Pseudomonas pseudoalcaligenes

Pseudomonas mendocina

Pseudomonas stutzeri

Pseudomonas balearica sp. nov.

Pseudomonas monteilli sp. nov.

Ce groupe contient plusieurs espèces d'intérêt médical.

Groupe II d'ARN → genre *Burkholderia* (1992)

Burkholderia mallei

Burkholderia pseudomallei

Burkholderia cepacia

Burkholderia vietnamiensis

genre *Ralstonia* (1995)

Ralstonia picketti

Ralstonia solanacearum

Groupe III d'ARN → famille des *comamonadaceae* (1991)

genre *Comamonas*

Comamonas testosteroni

Comamonas acidovorans

Comamonas terrigena

genre *Acidovorax*

Acidovorax delafieldii

Acidovorax temperans

Acidovorax facilis

et les genres *Hydrogenophaga*, *Xylophilus*, *Variovorax*

Groupe IV d'ARN → genre *Brevundimonas* (1994)

Brevundimonas diminuta (CDC groupe Ia)

Brevundimonas vesicularis

Groupe V d'ARN → genre *Stenotrophomonas* (1994)

Stenotrophomonas maltophilia

Stenotrophomonas africana sp. nov.

Autres nouvelles espèces et nouveaux genres d'anciens *Pseudomonas* :

- *Chryseomonas luteola* (1987)

(CDC groupe Ve-1, *Pseudomonas luteola*, *Chryseomonas polytricha*)

- *Flavimonas oryzihabitans* (1987)

(CDC groupe Ve-2, *Pseudomonas oryzihabitans*, *Pseudomonas lacunogenes*)

- Genre *Sphingomonas* (1990)

(CDC groupe 11k-1, 7 espèces dont *Pseudomonas paucimobilis*, *Pseudomonas parapaucimobilis*)

- *Shewanella putrefaciens* (1985)

(CDC groupe 1b-1 et 1b-2, *Pseudomonas putrefaciens*, *Alteromonas putrefaciens*)

Les principaux changements taxonomiques des espèces appelées auparavant *Pseudomonas* sont résumés dans le tableau I [6].

Tableau I : Changement taxonomiques d'espèces classées dans les *Pseudomonas* [6].

Ancienne appellation	Nouvelle appellation
<i>Pseudomonas cepacia</i>	<i>Burkholderia cepacia</i>
<i>Pseudomonas gladioli</i>	<i>Burkholderia gladioli</i>
<i>Pseudomonas pickettii</i>	<i>Ralstonia pickettii</i>
<i>Pseudomonas acidovorans</i>	<i>Comamonas acidovorans</i>
<i>Pseudomonas testosteroni</i>	<i>Comamonas testosteroni</i>
<i>Pseudomonas delafieldii</i>	<i>Acidovorax delafieldii</i>
<i>Pseudomonas facilis</i>	<i>Acidovorax facilis</i>
<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Acidovorax temperans</i>
<i>Alcaligenes</i> sp. et groupe EF16	
<i>Pseudomonas putrefaciens</i>	<i>Shewanella putrefaciens</i>
<i>Pseudomonas paucimobilis</i>	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>
<i>Pseudomonas mesophilica</i>	<i>Methylbacterium mesophilicum</i>
<i>Pseudomonas luteola</i>	<i>Chryseomonas luteola</i>
<i>Pseudomonas oxyzihabitans</i>	<i>Favimonas orizihabitans</i>
<i>Xanthomonas maltophilia</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Pseudomonas diminuta</i>	<i>Brevundimonas diminuta</i>
<i>Pseudomonas vesicularis</i>	<i>Brevundimonas vesicularis</i>

2.1.3. Habitat

Les Pseudomonades, ou bactéries de la famille des *Pseudomonadaceae*, se distinguent des entérobactéries principalement par leur ciliature polaire, l'absence de métabolisme fermentatif des sucres et un habitat habituellement extra-intestinal.

Les Pseudomonades sont peu fréquents au contact de l'homme ou des animaux : on les retrouve très rarement sur la peau ou les muqueuses, mais plus souvent dans la flore intestinale. Une seule espèce, *Pseudomonas mallei*, d'ailleurs rarement rencontrée, est parasite strict de certains animaux (Solipèdes) et parfois de l'homme. Certains Pseudomonades vivent en association avec les plantes, soit comme épiphytes facultatives, soit comme parasites. La plupart des Pseudomonades sont ubiquistes et vivent librement dans l'eau douce ou dans le sol [5].

2.1.4. Caractères bactériologiques.

2.1.4.1. Définition

- Bacilles à Gram négatif, mobiles par une ciliature polaire, rarement immobiles, non sporulés.
- Bactéries chimio-organotrophes à métabolisme strictement respiratoire avec comme accepteur terminal d'électrons l'oxygène en aérobiose, et pour certaines espèces le nitrate en anaérobiose avec synthèse d'une nitrate- réductase (« respiration des nitrates»).
- Oxydatifs ou inactifs dans l'épreuve de Hugh et Leifson.
- Presque toujours oxydase (+) c'est-à-dire possédant pour la plupart une chaîne cytochromique complète comprenant le cytochrome C et un cytochrome C oxydase.
- Caractérisés par la pluralité des substrats hydrocarbonés utilisés comme source de carbone et d'énergie [6].

2.1.4.2. Morphologie et structure

Bâtonnets droits et fins 0,5 à 1,3 μ m.

Structure des bacilles à Gram négatif, pas de différence significative dans la structure du peptidoglycane de la paroi.

Mobilité très vive en aérobiose. Ciliature polaire : monotriche-multitriche. Pour les espèces multitriches, le type de ciliature ne peut être établi que statistiquement en déterminant l'index flagellaire. Il peut varier selon les conditions de culture. Quelques souches de *Burkholderia mallei* sont immobiles [6].

2.1.5. Caractères biochimiques conventionnels

Un certain nombre de caractères conventionnels est applicable à l'identification des *Pseudomonas*.

Concernant l'étude du métabolisme des sucres, en dehors des réactions d'oxydation citées, peu de réactions sont utiles. Les réactions de Voges Proskauer et du rouge de méthyle sont toujours négatives en raison de l'absence du métabolisme fermentatif et de la faible quantité d'acide éventuellement produite : quelques espèces ont la capacité d'hydrolyser deux glycosides, l'esculine et l'orthonitrophenyl- β - galactoside (ONPG). L'hydrolyse de l'ONPG est due à une enzyme différente de la β - galactosidase.

Le catabolisme des protéines provoque une alcalinisation nette des milieux peptones, due en particulier à la production d'ammoniac. Dans les conditions standard, il n'y a pas de production d'hydrogène sulfuré ni d'indole. La production d'une uréase, inductible ou constrictrice, s'observe irrégulièrement dans quelques espèces ; elle n'a pas d'intérêt pour une identification. Une ornithine-décarboxylase n'est habituellement pas produite, sauf par quelque souche de *Pseudomonas pickettii*. La recherche d'une lysine- décarboxylase et d'une phénylalanine désaminase est par contre utile pour le diagnostic de quelques

espèces. De nombreuses molécules peuvent être hydrolysées par des enzymes périplasmiques produites par diverses espèces de *Pseudomonas*. Les substrats les plus utiles pour une identification sont : l'amidon, la gélatinase, la lécithine (milieu au jaune d'œuf) et l'ADN. L'amylase de *Pseudomonas stutzeri* peut se perdre assez rapidement au cours des subcultures [5].

2.1.6. Caractères d'identification communs aux pseudomonades

La purification des souches de pseudomonades s'obtient facilement par stries sur gélose peptonée, incubée à 30°C en aérobiose car les colonies des diverses espèces se mettent facilement en suspension.

Le diagnostic du genre *Pseudomonas* sera basé essentiellement sur les caractères communs suivants :

- bacilles à gram négatif, mobiles grâce à des flagelles polaires (sauf *Pseudomonas mallei* qui est toujours immobile)
- métabolisme respiratoire obligé : en «gélose profonde» sans nitrate ni arginine, ensemencée dans la masse, la croissance se manifeste seulement dans la partie supérieure du cylindre de la gélose, exposée à l'air.
- les réactions d'oxydase et catalase sont positives, les sucres ne sont jamais fermentés, mais quelques souches peuvent oxyder certains sucres en aérobiose, la réaction de Voges-Proskauer est négative
- l'indole n'est pas produit
- la teneur G + C de l'ADN est comprise en 58 à 70% [5].

2.1.7. Facteurs de virulence

Leurs très nombreux facteurs de virulence (tableau II) débordent alors l'immunité d'un hôte aux défenses affaiblies, en raison notamment d'une neutropénie ou d'un déficit immunitaire [7].

Tableau II : Facteurs de virulence des *Pseudomonas* [7].

Facteur de virulence	Actions
<i>Communs à de nombreuses bactéries à Gram négatif</i>	
Capsule, polysaccharide	Fixation, antiphagocytaire
Fimbriae	Fixation (voies respiratoires)
Endotoxine	Fièvre, choc CIVD
Protéases	Dégâts tissulaires, inhibition des anticorps et neutrophiles
<i>Spécifiques aux pyocyaniques</i>	
Elastase	Dégâts vasculaires endothéliaux, inhibition des neutrophiles
Exotoxine A, exo-enzyme S (stable)	Inhibition de la synthèse protéique, dégâts cellulaires, Dermonécrose
Leucocidine	Inhibition des phagocytes
Phospholipase C	Hémolyse, dégâts tissulaires

2.1.8. Manifestations cliniques

- *Pseudomonas aeruginosa* est responsable d'infections pulmonaires (en particulier dans la mucoviscidose.), de septicémies, d'infections des plaies, des brûlures, des oreilles et d'autres organes.
- *Pseudomonas pseudomallei* est responsable de la mélioïdose, une infection systémique grave.
- *Pseudomonas mallei* est une zoonose responsable de la morve chez les chevaux et les ânes ; il touche rarement l'homme et provoque des lésions suppuratives aiguës ou chroniques, une pneumopathie aiguë ou une septicémie aiguë létale.
- Les autres pyocyaniques sont principalement responsables d'infections opportunistes, touchant les plaies puis se disséminant via le sang à divers organes comme les poumons [7].

- *Pseudomonas* et cystites

La vessie est habituellement infectée à partir du périnée et de l'urètre, en particulier lorsque l'activité sexuelle ou la mauvaise hygiène périnéale provoque une contamination fécale.

Les germes en cause :

- *Escherichia coli* ;
- Les bacilles à Gram négatif fécaux, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Proteus* sp et *Pseudomonas aeruginosa* (surtout dans les infections urinaires nosocomiales) ;
- *Staphylococcus saprophyticus* coagulase négative (en particulier chez les jeunes femmes en période d'activité sexuelle) ;
- Les cocci à Gram positif dont les entérocoques ;
- D'autres germes dont *Mycobacterium tuberculosis* et *Candida* sp [7].

2.1.10. Diagnostic microbiologique

La coloration de Gram met en évidence des bacilles à Gram négatif effilés. La culture est facile sur gélose au sang ou milieu de Mac- Conkey. *Pseudomonas aeruginosa* a des colonies plates, qui prennent un aspect mat ou mucoïde, avec une pigmentation verte, et une odeur typique douceâtre de raisin.

Les tests biochimiques comprennent la gélatine, l'arginine, le poly- β -hydroxybutyrate et l'usage de diverses sources de carbone détermine l'espèce. La lysotypie, le typage et le serotypage des pyocyaniques sont des outils de recherche [7].

2.1.11. Traitement

On utilise en général deux antibiotiques, car les pyocyaniques sont intrinsèquement assez résistants, et les défenses de l'hôte sont souvent altérées. La Gentamicine (ou la Tobramycine) avec soit une pénicilline anti-pyocyanique comme la Ticarcilline, soit une céphalosporine de troisième génération, en particulier le Ceftazidime, sont classiques [7].

2.2. Etude de *Pseudomonas aeruginosa*

2.2.1. Dénomination

En France, *Pseudomonas aeruginosa* est aussi connu sous le nom de bacille pyocyanique (du grec *puon* ; du latin *cyaneus* : bleu foncé), nom lié à la pathogénicité initiale [3].

2.2.2. Habitat

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie répandue dans la nature. Il vit dans l'eau et sur le sol.

On le trouve aussi dans l'environnement hospitalier, surtout dans les endroits humides : siphons de lavabo, savons liquides, humidificateurs, solutions d'antiseptiques (chlorhexidine, chlorure de benzalkonium, cétrimide notamment).

Pseudomonas aeruginosa fait partie de la flore de transit de l'homme. On le trouve dans le tube digestif et plus rarement dans la salive [7].

2.2.3. Morphologie

Le bacille pyocyanique ou *Pseudomonas aeruginosa* se présente comme un bâtonnet de 1 à 3 μ de long, et de 0.5 à 1 μ de large, parfois filamenteux. Il prend sur certains milieux des formes d'involution caractéristique en virgules.

Sa mobilité est assurée par un seul cil polaire. Il est parfois entouré d'un pseudo capsule appelé « slime » qui joue un rôle important dans la pathogénicité de la bactérie [2].

2.2.4. Caractères cultureux

Le bacille pyocyanique cultive facilement sur les milieux aérobies ordinaires entre 30 et 37°C en dégageant une odeur aromatique particulière.

En présence d'un prélèvement contenant ou pouvant contenir plusieurs espèces bactériennes. Il vaut mieuxensemencer des milieux sélectifs : le milieu de Drigalski permet l'isolement des entérobactéries et du bacille pyocyanique. L'emploi de gélose du cétrimide conduit à l'isolement sélectif de ce dernier ; on peut y ajouter un antibactérien tel l'acide nalidixique ou la nitrofurantoïne.

Sur gélose, plusieurs aspects différents de colonies peuvent être observés, qu'il est possible de classer schématiquement en quatre types :

- colonies lisses plus ou moins arrondies, convexes à surface mate ou brillante pouvant ressembler aux colonies d'*Escherichia coli* ;
- colonies rugueuses ;
- colonies muqueuses ou mucoïdes, arrondies, convexes à surface brillante, de consistance visqueuse, à tendance confluyente, ces colonies ressemblent à celles des *klebsiella* ;
- enfin micro colonies dont le développement demande habituellement 48 heures.

Les colonies de bacilles pyocyaniques récemment isolées varient de la forme rugueuse à la forme lisse avec des intermédiaires. La forme lisse est prédominante. Les formes mucoïdes s'observent particulièrement dans expectoration des sujets atteints de mucoviscidose et dans les urines [2].

Production de pigments

Le bacille pyocyanique produit de nombreux pigments qui servent à son identification.

La pyocyanine est un pigment bleu, non fluorescent, soluble dans l'eau et le chloroforme, caractéristique de *Pseudomonas aeruginosa*, seule espèce bactérienne à le produire. Mais de nombreuses souches de bacille pyocyanique n'élaborent pas de pyocyanine sur les milieux ordinaires mais seulement sur des milieux spéciaux. Enfin, la capacité à produire de la pyocyanine peut se perdre définitivement après des subcultures répétées.

La pyoverdine est un pigment jaune-vert, fluorescent, soluble dans l'eau, insoluble dans le chloroforme commun à *Pseudomonas aeruginosa* et à d'autres espèces de *Pseudomonas* fluorescents. Sa présence confère aux cultures une couleur jaune pale difficile à repérer à l'œil nu, mais donnant sous lumière ultra-violette une fluorescence verte intense.

Outre la pyocyanine et la pyoverdine, certaines souches de bacille pyocyanique produisent deux autres pigments solubles dans l'eau : la pyorubine, rouge et la pyomélanine qui donne aux cultures une coloration allant du brun au noir.

Enfin, il existe de rares souches apigmentées de bacille pyocyanique [2].

2.2.5. Caractères d'identification

La majorité des souches de bacille pyocyanique sont immédiatement repérées par la présence de leurs pigments. Mais l'identification des souches non pigmentées

requiert la recherche d'un certain nombre de caractères morphologiques et biochimiques détaillés dans le tableau III.

Tableau III : caractères minima requis pour l'identification de *Pseudomonas aeruginosa* [2].

Caractères	Résultats
-bacille Gram négatif, asporulé, se présentant sous la forme de bâtonnet droit ou légèrement incurvé	+
- mobile par un seul cil polaire	+
- oxydation du glucose	+
- oxydation du maltose	-
- production de gaz en milieu glucosé	-
- oxydase	+
- catalase	+
- arginine- dihydrolase	+
- lysine, ornithine décarboxylase	-
- croissance à 42°C	+
- productions de pigments photosynthétiques	+
- indole, rouge de méthyle, acétylmethylcarbinol	-

Production de toxines

Outres ses pigments le bacille pyocyanique élabore des protéines extra-cellulaires toxiques pour l'homme, les animaux de laboratoire, les plantes.

Les enzymes protéolytiques sont bien connues puisqu'elles sont utilisées pour l'identification des souches ; ce sont des protéines, élastases, collagénases, lécithinase, fibrinolysine, lipase, qui se révèlent pathogènes expérimentalement, les effets variant selon l'animal choisi et la voie d'administration.

Le bacille pyocyanique produit aussi des toxines hémolytiques, une entérotoxine et une toxine létale.

Enfin, à coté de ces exotoxines, le germe élabore une endotoxine dont le rôle pathogène n'est pas certain [2].

2.2.6. Structure antigénique et réponse immunitaire

La structure antigénique du bacille pyocyanique est très complexe : à coté de l'antigène somatique O, il y a les antigènes flagellaires, les enzymes protéiques et le « slime » polysaccharidique. L'enveloppe cellulaire du bacille pyocyanique est constituée d'une membrane externe relativement labile et d'un mucus hypervisqueux ou « slime ». Ce dernier est présent en grande quantité dans les colonies mucoïdes et les microcolonies. Il est constitué de polysaccharides polyanioniques parmi lesquels l'acide D- mannuronique et l'acide L- glucuronique sont prédominants. Les propriétés du « slime » ont principalement été étudiées chez les souches mucoïdes de bacille pyocyanique isolées dans l'expectoration de sujets atteints de mucoviscidose. Le « slime » possède des propriétés antiphagocytaires, il inhibe l'effet opsonisant des précipitines produites chez les malades ayant une forte réponse immunitaire humorale ; il empêche la lyse des cellules bactériennes dépendante du complément. De plus, l'hyperviscosité du « slime » s'ajoutant à la mucoviscidose pourrait entraver l'action des cils vibratiles pour éliminer les

bactéries de l'arbre respiratoire. Enfin le « slime » empêcherait la pénétration des antibiotiques jusqu'à leurs sites d'action.

De nombreuses méthodes ont été mises au point pour mesurer les anticorps humains développés contre le bacille pyocyanique.

L'hémagglutination indirecte, l'agglutination bactérienne, l'immuno- précipitation en gel sont les plus utilisées en clinique. L'immuno- électrophorèse croisée peut identifier et quantifier beaucoup d'anticorps spécifiques simultanément.

La connaissance de la réponse immunitaire humorale vis-à-vis du bacille pyocyanique peut être utile en clinique pour le diagnostic et le pronostic de l'infection, le contrôle de la vaccination et de la chimiothérapie. Des taux bas d'anticorps ont été trouvés chez les sujets normaux. Une colonisation superficielle par le bacille pyocyanique n'induit pas une production d'anticorps significative. Au contraire, les infections, surtout si elles sont chroniques, entraînent une élévation marquée des anticorps sériques. Dans les infections aiguës ce phénomène est de bon pronostic, alors qu'il serait de mauvais pronostic dans la mucoviscidose où la formation des immuns complexes contribuerait à la destruction tissulaire.

L'effet protecteur des anticorps serait dû à une augmentation de la phagocytose des bactéries. Sur ce point, les Ig G semblent les immunoglobulines les plus actives.

L'immunité cellulaire joue également un rôle important dans la défense contre les infections à bacille pyocyanique. Le rôle principal est ici dévolu aux polynucléaires neutrophiles dont le nombre absolu est un élément déterminant du développement de l'infection et de son pronostic. Quant au rôle de l'immunité à médiation cellulaire (immunité des lymphocytes et immunité non spécifique à l'endotoxine) il n'est pas encore très clair [2].

2.2.7. Physiopathologie

2.2.7.1. Pouvoir pathogène

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie pathogène opportuniste. Les infections concernent surtout les malades recevant un traitement immunosuppresseur ou ayant une maladie grave sous-jacente, hémopathie ou cancer. Les brûlés sont particulièrement sensibles à ces infections. Chez ces sujets, la bactériémie à *Pseudomonas aeruginosa* a un taux de mortalité très élevé.

Les plaies opératoires, les voies urinaires et les voies respiratoires sont des portes d'entrée fréquentes. Les causes favorisantes sont : les trachéotomies, l'utilisation de respirateurs, les perfusions intraveineuses et les cathéters urétraux.

Au cours de la mucoviscidose, les voies aériennes sont très souvent colonisées par des souches muqueuses, contribuant à dégrader la fonction respiratoire.

Pseudomonas aeruginosa peut aussi être responsable d'infections chez des sujets immunocompétents : folliculites ou otites acquises dans des piscines, infections oculaires après traumatisme (lentilles), ostéomyélite chez l'enfant, endocardites chez les drogués [8].

2.2.7.2. Facteurs de virulence

Le pouvoir pathogène de *Pseudomonas aeruginosa* est dû à de nombreux facteurs de virulence :

- L'antigène lipopolysaccharidique de surface (endotoxine).
- Des composants de la surface, le slime (alginate), responsable de l'aspect muqueux des colonies, qui lui permet de résister à la phagocytose.
- Des produits extracellulaires (hémolysine, lécithinase, collagénase, lipase).
- Une exotoxine protéique A, diffusible, a un mécanisme d'action voisin de celui de la toxine diphtérique. Elle empêche l'élongation des chaînes peptidiques en formation dans les cellules cibles [8].

2.2.8. Résistance aux antibiotiques

Le bacille pyocyanique est naturellement résistant à de nombreux antibiotiques et a une grande capacité à devenir rapidement résistant aux antibiotiques actifs initialement. Quelques règles générales concernant l'étude de sa sensibilité aux antibiotiques sont à retenir :

- Les souches mucoïdes sont toujours très sensibles *in vitro*, alors qu'elles se révèlent *in vivo* très difficiles à éradiquer en particulier celles isolées de l'expectoration des mucoviscidoses ;
- La sensibilité des souches de bacille pyocyanique est vraisemblablement surestimée *in vitro*, de nombreux facteurs concernent le pH, les concentrations en cations, l'oxygénation des tissus diminuant *in vivo* l'activité des antibiotiques
- Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des antibiotiques se révèlent souvent très variables d'un laboratoire à l'autre ; si le recrutement différent des souches de bacille pyocyanique peut jouer un rôle dans ces divergences, les conditions de la réalisation de l'antibiogramme sont encore plus importantes. La présence ou l'absence de cations divalents Ca^{++} , Mg^{++} , Zn^{++} , Fe^{++} , dans le milieu de culture, le pH de celui-ci, la présence ou non de sérum, plus simplement la taille de l'inoculum influencent les résultats et surtout pour les aminoglycosides.

Les antibiotiques actifs sur le bacille pyocyanique appartiennent à trois familles : les beta-lactamines, les aminosides, les polypeptides.

Les bêta-lactamines

La carbénicilline a été pendant longtemps le seul antibiotique de la famille actif sur le bacille pyocyanique. Ces dernières années de nouveaux produits ont fait leur apparition dans le groupe des pénicillines et dans celui des céphalosporines.

- Groupe des pénicillines : une carboxypenicilline, la Ticarcilline, trois uréidopénicillines : la Piperacilline, l'Azlocilline et la Mezlocilline sont apparues.

Leur activité a été étudiée comparativement à celle de la Carbénicilline. La Piperacilline s'est révélée le produit le plus actif.

- Groupe des céphalosporines : aucune des céphalosporines de première et de deuxième génération n'est active sur le bacille pyocyanique. Les céphalosporines de troisième génération, Céfotaxime, Moxalactam, Céfopérazone, Ceftazidime, Ceftriaxone actives sur les entérobactéries résistantes aux premières céphalosporines le sont aussi à des degrés divers sur le bacille pyocyanique. Enfin la Cefsulodine est à mettre à part car elle présente une grande activité sur le bacille pyocyanique alors qu'elle est inactive sur les entérobactéries.

L'activité des différentes nouvelles bêta-lactamines varie selon que les souches de bacille pyocyanique sont sensibles ou résistantes à la Carbénicilline. Pour tous les antibiotiques, à l'exception de la Ceftazidime, l'activité est plus faible dans le second cas. La résistance du bacille pyocyanique aux bêta-lactamines est liée à la production de bêta-lactamases sous la dépendance du chromosome et surtout de plusieurs plasmides.

Les aminoglycosides

Ils sont depuis longtemps les antibiotiques les plus régulièrement actifs sur le bacille pyocyanique. La résistance aux aminoglycosides du bacille pyocyanique relève de la production d'enzymes modifiant l'acétylation et la phosphorylation.

Les polymixines

Ces antibiotiques agissent sur la membrane des bacilles Gram négatif, y compris *Pseudomonas aeruginosa* qui demeure sensible *in vitro*.

Il faut remarquer que les antibiotiques actifs sur le bacille pyocyanique, bêta-lactamines et aminoglycosides ont dans l'ensemble une activité bactéricide et que leurs associations sont généralement synergiques [2].

2.2.9. Epidémiologie et préventions des infections nosocomiales

Les infections à bacilles pyocyaniques surviennent surtout en milieu hospitalier : infections nosocomiales

Les causes essentielles en sont les suivantes :

- Prescription d'antibiotiques ou d'antiseptiques entraînant la sélection des germes résistants dont *Pseudomonas aeruginosa* ;
- Les traitements par les corticoïdes, les anti- métabolites et les immuno-dépresseurs qui diminuent la résistance de l'organisme aux infections ;
- L'introduction dans l'organisme de sonde, cathéters (urologie, réanimation) ainsi que diverses explorations instrumentales, constituant autant de portes d'entrées des bactéries dans l'organisme. Que l'infection ait une origine endogène ou exogène, elle peut être transmise d'un individu à un autre et revêtir alors un aspect d'épidémie. En milieu hospitalier, une enquête épidémiologique sera faite : le bacille pyocyanique sera alors recherché sur tous les vecteurs possibles de l'épidémie (bocaux d'urines, sondes, solutions prétendues « désinfectantes » ; mains, gorge, selles du personnel soignant).

La détermination du serotype et du lysotype des bacilles pyocyaniques retrouvés chez les malades et dans leur environnement permettra éventuellement d'établir l'identité de ces souches ; Si tel est le cas, il s'agit d'une infection croisée (le même bacille pyocyanique étant responsable de tous les cas d'infection). De même, l'origine de la contamination devra être précisée [9].

La détermination du groupe antigénique O à l'aide de sérums agglutinants est à la portée de tout laboratoire. D'après la classification actuelle, il existe 16 groupes Antigéniques O, numérotés de 1 à 16, qui permettent de classer environ 95 % des Souches rencontrées. Les techniques d'épidémiologie moléculaire sont les plus discriminantes mais plus lourde à mettre en œuvre [8].

Il est utile de dépister des épidémies hospitalières dues à *Pseudomonas aeruginosa*. A coté du typage moléculaire peu utilisé en routine, le typage sérologique et la détermination du phénotype de résistance aux antibiotiques sont d'un abord plus aisé. Cependant, l'existence de souches non agglutinantes ou polyagglutinables ainsi que le transfert plasmidique des antigènes de paroi et des résistances aux antibiotiques rendent souvent illusoire toute enquête épidémiologique [3].

La prévention consiste à éviter la colonisation des plaies à évolution traînante, la contamination d'un patient à risque et la sélection de souches multi résistantes aux antibiotiques et antiseptiques. Chez les brûlés, la colonisation des brûlures est rapide et la transmission du germe se fait de malade à malade par l'intermédiaire du personnel. La lutte contre ces infections passe par l'application de mesures simples d'hygiène générale par le personnel, par l'éradication du germe dans les locaux et le matériel et par la réduction de l'emploi trop systématique des antibiotiques. Le bacille pyocyanique peut se multiplier dans les antiseptiques en solution [3].

2.2.10. Manifestations cliniques

Infections pulmonaires

Elles peuvent être primitives ou secondaires à une septicémie.

- Les pneumopathies primitives à bacille pyocyanique sont exceptionnelles chez le sujet sain et s'observent surtout chez les sujets trachéotomisés, les insuffisants respiratoires recevant une antibiothérapie depuis un certain temps, les malades atteints d'hémopathie ou de cancer et ayant une chimiothérapie.
- La mucoviscidose comporte toujours au cours de son évolution une surinfection bronchique bactérienne. Deux germes sont à l'origine de l'infection : le Staphylocoque doré et le bacille pyocyanique, qui occupe actuellement la première place. 70 à 90% des mucoviscidoses sont porteurs chroniques de bacille

pyocyanique, qui persiste dans plus de la moitié des cas sous la forme de variants mucoïdes.

- Une atteinte pulmonaire peut s'observer au cours des septicémies à bacille pyocyanique. Elle est alors cliniquement inapparente ou au contraire bruyante se traduisant par une pneumonie ou même un abcès du poumon. Histologiquement, il existe une vascularite nécrosante aiguë avec souvent des thromboses artérielles associées à des foyers nécrotiques et hémorragiques [2].

Infections urogénitales

Ce sont les infections à bacille pyocyanique les plus souvent observées. Elles ne sont jamais primitives, mais toujours secondaires à une exploration des voies urinaires : simple cystoscopie ou sondage vésical, sonde urétrale à demeure ou intervention rénale, vésicale, prostatique. En effet, le matériel utilisé pour les sondages et les endoscopies est difficile à stériliser et le bacille pyocyanique colonise volontiers les antiseptiques employés à cet effet.

Le risque de développement d'une infection urinaire à bacille pyocyanique augmente avec l'âge, l'existence d'une affection chronique tel un diabète et surtout la stase urinaire entretenue par la persistance de calculs ou la présence d'une vessie neurologique. C'est ainsi que les sujets atteints de paraplégie traumatique et de méningocèle souvent porteurs de sonde vésicale durant quelques mois ou années ont très fréquemment un bacille pyocyanique dans les urines [2].

Infections ostéo-articulaires

Le bacille pyocyanique est à l'origine de 10% environ des ostéites, mais il est exceptionnellement en cause dans les ostéites hématogènes.

Les ostéites secondaires les plus fréquentes succèdent à une fracture ouverte et surtout à une intervention avec mise en place d'un matériel étranger ; elles touchent principalement les os longs des membres. Il faut y ajouter les ostéites

sternoclaviculaires observées après sternotomie au cours des interventions cardiaques et les ostéites des os du pied après piqûres relevées surtout chez l'enfant ou liées à la surinfection d'ulcérations cutanées chez le diabétique.

Les ostéites primitives d'origine hématogène se voient essentiellement chez les héroïnomanes et touchent électivement les vertèbres. L'ostéite pubienne est volontiers secondaire à une infection urinaire [2].

Infections oculaires

Le bacille pyocyanique peut être présent à l'état de saprophyte dans les culs-de-sac conjonctivaux. Dans certaines conditions, il peut entraîner des infections superficielles de l'œil ; ainsi des blépharoconjunctivites ont été observées au cours de chimiothérapie anticancéreuse, chez des sujets porteurs de lentilles de contact, avec l'utilisation de mascara infecté [2].

Infections ORL

Le bacille pyocyanique n'est pas un saprophyte normal du conduit auditif externe : dans une enquête réalisée en 1952 par Singer et Coll. sur 1377 individus sains, 1% seulement était porteur de bacille pyocyanique à ce niveau. Par contre, le germe est retrouvé chez 45 à 65% des sujets ayant une otite externe banale. Ainsi le bacille pyocyanique paraît se développer dans le conduit auditif externe dans certaines conditions [2].

Infections méningées

Elles sont rares, le bacille pyocyanique étant en cause dans 2% environ de l'ensemble des méningites ; toutefois, le germe est responsable de 10% des méningites après intervention neurochirurgicale [2].

Infections cutanées

Elles sont très différentes selon qu'elles sont isolées ou accompagnent une septicémie ; il faut y ajouter les infections des brûlés.

- Chez Les Sujets Sains, l'onyxis avec perionyxis réalise le syndrome de l'ongle vert. Les infections interdigitales au niveau des pieds s'observent également : ce sont des lésions épaisses blanchâtres ou verdâtres favorisées par la macération et les interactions avec d'autres germes cutanés, notamment le staphylocoque.
- Chez les brûlés, la colonisation des lésions par le bacille pyocyanique est rapide : à la 30^e heure suivant la brûlure plus de 20% des lésions sont infectées par le germe, 48% le sont à la 48^e heure et plus de 60% au cinquième jour [2].

Endocardites

Le bacille pyocyanique est à l'origine de 1% environ de l'ensemble des endocardites. Ces infections s'observent principalement chez les drogués ou au décours des interventions chirurgicales cardiovasculaires ; dans ces deux populations le bacille pyocyanique est en cause dans 8% des cas. Les cathétérismes cardiaques, les artériographies, l'hémodialyse viennent ensuite. Enfin une infection urinaire ou gastro-intestinale a été retrouvée à l'origine de quelque cas d'endocardite [2].

Septicémies

Elles sont en augmentation régulière comme les autres septicémies à bacilles Gram négatif.

Les septicémies à bacille pyocyanique sont en effet fréquentes chez certains malades débilisés et en particulier chez les sujets atteints de granulopénie ou d'aplasie médullaire : 25% environ des septicémies observées chez des cancéreux sont dus au bacille pyocyanique [2].

2.2.11. Diagnostic bactériologique

Le bacille pyocyanique sera trouvé dans le sang (hémoculture) ou dans les liquides ou sérosités purulentes (LCR, crachats, urines, pus...). L'isolement et l'identification de la souche sont habituellement faciles [10].

2.2.12. Eléments de thérapeutique

Pseudomonas aeruginosa est redouté pour sa multirésistance. Les pourcentages de résistance varient fortement d'un hôpital et d'un service à l'autre et la réalisation d'un antibiogramme est donc indispensable. *Pseudomonas aeruginosa* est naturellement résistant aux aminopénicillines, à l'association amoxicilline-acide clavulanique et aux céphalosporines de première et deuxième génération. La résistance acquise aux β -lactames est liée à des gènes plasmidiques ou transposables de type pénicillinase, à l'émergence de mutants dérégulés ou à une modification de la cible de l'antibiotique. L'Imipénème reste très actif bien que des taux de résistance de 20 % soient signalés dans certains services. Pour les aminosides, la résistance est liée à des phénomènes d'imperméabilité, de mutation de la cible ribosomale ou d'inactivation enzymatique. Pour les fluoroquinolones (la Ciprofloxacine présente la meilleure activité actuellement), la résistance est liée à des phénomènes d'imperméabilité. En plus de ces résistances classiques, le « slime » sécrété par certains *Pseudomonas* empêche la pénétration des antibiotiques dans la bactérie. Pour *Pseudomonas aeruginosa*, la thérapeutique ne peut donc pas être la même d'une ville à l'autre, d'un service à l'autre, d'un malade à l'autre. L'apparition de souches résistantes à tous les antibiotiques constitue toujours une limite gênante à l'antibiothérapie [3].

3. METHODOLOGIE

3.1. Cadre d'étude

Notre étude a été réalisée dans le laboratoire de l'Hôpital Gabriel TOURE situé dans le centre commercial de Bamako. En 1959, l'ancien Dispensaire Central de Bamako a été érigé en hôpital. Il sera baptisé «Hôpital Gabriel TOURE» en hommage au sacrifice d'un jeune "Soudanais" stagiaire en médecine mort lors d'une épidémie de peste, maladie qu'il contracta au cours de son stage en 1934. L'Hôpital Gabriel TOURE a été érigé en Etablissement Public à caractère Administratif (EPA) en 1992, doté de la personnalité morale et de l'autonomie de gestion. L'Hôpital Gabriel TOURE est l'un des onze (11) Etablissements Publics à caractère Hospitalier (EPH) institués par la loi n° 94-009 du 22 mars 1994 modifiée par la loi n°02-048 du 12 juillet 2002 portant création du Centre Hospitalier Universitaire (CHU).

Le laboratoire comprend une salle d'hématologie, une salle de biochimie, une salle pour les prélèvements et la parasitologie, une salle de stérilisation équipée d'autoclaves et de fours, une salle de garde, un bureau du chef de service. En Février 2002 une partie du laboratoire a été aménagée pour les activités de bactériologie et équipée en conséquence avec;

- 2 hottes à flux laminaire avec incinérateur électrique pour la stérilisation des anses ;
- 3 automates d'hémocultures BACTEC® 9050 ;
- 1 incubateur à CO₂ pour les bactéries aéro- anaérobies ;
- 1 incubateur sans CO₂ pour les bactéries aérobies, les antibiogrammes et les galeries d'identification API 20 E ;
- 1 centrifugeuse ;
- 1 congélateur de – 80° C pour la conservation des souches bactériennes ;

- 1 congélateur de – 20° C pour la conservation des disques d'antibiotiques, des disques d'identification (Optochine, Bacitracine) des facteurs de croissance des *Haemophilus* ; des réactifs de sérogroupage des *Salmonella* ;
- 2 réfrigérateurs pour la conservation des milieux de culture et des réactifs ;
- 1 micro- ordinateur avec un système de communication Internet;
- 1 microscope Olympus CX31;
- 1 néphélomètre Mc Ferland pour la mesure de turbidité en vue des antibiogrammes conformément à la méthode de Kirby Bauer ;

Des petits matériels divers, des consommables et un ravitaillement régulier en milieux de culture et réactif permettent de réaliser des activités de bactériologie.

L'ensemble des activités dans les différentes sections du laboratoire sont menées par le personnel comprenant :

- 1(un) pharmacien biologiste ;
- 4 pharmaciens ;
- 10 faisant fonction d'internes ;
- 1 assistant médical ;
- 8 techniciens supérieurs dont deux de la section de bactériologie ont bénéficié d'un stage de formation à Baltimore (USA) ;
- 2 techniciens de laboratoire, repartis entre les différentes sections de biologie;
- 1 personnel de surface.

Les activités de bactériologie dans le cadre de la recherche sont supervisées par un Professeur de bactériologie- virologie responsable de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP).

3.2. Etude

3.2.1. Type d'étude

Il s'agit d'une étude rétro- prospective étalée sur six ans et prospective longitudinale d'un an, basée sur la surveillance biologique d'émergence de maladies bactériennes invasives chez les malades hospitalisés ou vus en consultation externes (non hospitalisés) dans le service de pédiatrie.

Après avoir obtenu un consentement éclairé, une hémoculture est réalisée chez chacun des enfants inclus.

Dans certain cas et selon le contexte clinique un examen cyto bactériologique du liquide céphalo- rachidien ou de liquides stériles d'autres sites (lombaire, pleural, articulaire, tissulaire et osseux) est réalisé.

3.2.2. Durée de l'étude

L'étude a été réalisée sur une période de sept ans : de 2002 à 2008, couvrant toutes les saisons climatiques du Mali.

3.2.3. Critères d'éligibilité

3.2.3.1. Critères d'inclusion

Cette étude porte sur des enfants prélevés au niveau du site de prélèvement de CVD à la pédiatrie et répondant aux critères suivants :

- Etre âgé de moins de 17 ans,
- Etre hospitalisé ou traité en ambulatoire dans le service de pédiatrie du Centre Hospitalier Universitaire Gabriel TOURE,
- Avoir une température corporelle $\geq 39^{\circ}$ C à l'admission et/ou avoir une "Suspicion d'Infection Bactérienne Invasive" (SIBI) ;
- Le consentement des parents est obligatoire pour tous les enfants inclus dans l'étude et en plus l'assentiment des enfants de 13 à 16 ans est sollicité;

3.2.3.2. Critères de non- inclusion

Ne prennent pas part à cette étude :

- Le nouveau- né malade n'ayant jamais quitté le CHU Gabriel TOURE depuis sa naissance ;
- L'enfant âgé de 13 à 16 ans incapable ou refusant de donner tout assentiment pas à cause de la gravité de sa maladie ;
- L'incapacité ou refus du parent ou de l'accompagnateur du patient à donner un consentement ;
- Patient consultant pour autres pathologies en dehors d'infection bactérienne.

3.3. Aspects éthiques de l'étude :

3.3.1 Consentement des malades.

Des Assistants de Recherche sont formés à la méthodologie de l'étude, particulièrement à l'obtention du consentement éclairé et à l'inclusion du malade dans l'étude. Ils travaillent en collaboration avec le tri et les salles de consultation du service de Pédiatrie du CHU Gabriel TOURE pendant la durée de l'étude. Chaque pédiatre a à ses cotés un assistant de recherche qui est chargé de vérifier les critères d'inclusions, d'expliquer les modalités de l'étude, les objectifs, les risques et les bénéfices pour l'enfant à la famille et/ou au malade et d'obtenir le consentement éclairé du patient avant l'inclusion.

3.3.2 Inconvénients potentiels de cette étude

Le risque pour les enfants qui participent est faible. Tous les participants sont soumis à une ponction de sang veineux pour l'hémoculture. Cette procédure peut avoir un risque dont la douleur, l'infection et l'hémorragie. A l'admission, beaucoup d'enfants vont subir une ponction sur indication du pédiatre et cette prise complémentaire peut avoir des risques. La procédure d'obtention d'autres liquides stériles d'autres sites (lombaire, pleural, articulaire, tissulaire et osseux) peut avoir des risques comme la douleur, l'infection et la détérioration tissulaire. Ces procédures sont réalisées à la discrétion du médecin traitant et ne sont pas dictées

par ce protocole. La culture de ces liquides, qui est prise en charge par l'étude, n'entraîne pas de risque additionnel.

3.3.3. Bénéfices

Sur le plan individuel, les nouveaux équipements en place avec un personnel qualifié permettront une recherche étiologique avancée, telle l'isolement des bactéries par culture, non habituellement utilisés au CHU Gabriel TOURE. Ceci aide, considérablement, le médecin traitant à conduire un traitement étiologique, guidée par un antibiogramme, de la maladie de l'enfant, ce qui est largement important par rapport aux risques mineurs ci-dessus évoqués. Tous les examens biologiques (hémocultures et autres cultures, et antibiogrammes) sont faits gratuitement chez les malades inclus. Le coût moyen de la prise en charge journalière d'un malade est estimé à 25000 Fcfa.

D'une manière générale, cette étude va permettre de relever le niveau, la qualité des prestations au CNAM, au CHU Gabriel TOURE et à l'INRSP par l'amélioration du plateau technique (rénovation des locaux, équipements de laboratoire et de bureau). Aussi, deux techniciens de laboratoire (dont un pour l'HGT et un pour l'INRSP) et un médecin superviseur en pédiatrie ont été formés en microbiologie ainsi qu'à l'usage des nouveaux équipements de laboratoire. Au terme de l'étude, l'épidémiologie des maladies concernées est mieux connue et des recommandations sont faites en vue d'améliorer leur prise en charge et pour permettre d'autres études dans le domaine de la vaccinologie (introduction de nouveaux vaccins).

3.3.4. Respect des références bibliographiques

Les textes des références bibliographiques n'ont pas fait l'objet de modifications. La propriété intellectuelle des auteurs de nos références bibliographiques a été respectée.

3.4. Réception des prélèvements au laboratoire

Dans le cadre de la démarche qualité, et pour une bonne traçabilité, les prélèvements reçus au laboratoire sont inscrits dans les registres de laboratoire et saisis sur support informatique. Il existe 4 registres :

- 1 registre pour l'enregistrement des hémocultures ;
- 1 registre pour l'enregistrement des LCR ;
- 1 registre pour la goutte épaisse ;
- 1 registre pour l'enregistrement des autres prélèvements (Liquide articulaire, liquide pleural, liquide sous cutané ...)

Chaque registre comprend :

- une partie sur les données socio- démographiques (nom et prénoms, sexe, âge, résidence)
- une partie de données des résultats préliminaires comportant les résultats des tests d'agglutination du LCR direct, les résultats du comptage en cellule de KOVA des GB et GR du LCR.

Les résultats de la coloration de Gram du LCR direct, et des autres prélèvements et sur les flacons de BACTEC® des hémocultures positives, sont systématiquement portés dans le registre

- une partie comportant le résultat définitif des cultures du LCR, des hémocultures et des autres liquides et enfin le résultat de l'antibiogramme des souches de bactéries isolées.

3.5. Hémoculture

3.5.1. Présentation de la méthode d'hémoculture :

L'appareil BACTEC® 9050 et les bouillons de culture

L'appareil BACTEC® 9050

L'appareil " BACTEC®9050 de chez Becton Dickinson Microbiology Systems, Sparks, Md." et d'autres automates d'hémoculture comme le "BacT- ALERT 3D Combination de chez bioMérieux", utilisent des méthodes de détection des flacons positifs basées sur différentes mesures du CO₂. Les microorganismes présents dans les bouteilles BACTEC® libèrent du CO₂ qui réagit avec un colorant présent dans le capteur de l'appareil. Ceci module la quantité de lumière qui est absorbée par un composant fluorescent du capteur. Les détecteurs photosensibles de l'instrument mesurent l'intensité de la fluorescence, laquelle correspond à la quantité de CO₂ libérée par les microorganismes. La mesure est ensuite interprétée par le système en fonction des paramètres de positivités pré- programmés [11].

Le système "BacT- ALERT 3D Combination" fonctionne grâce à une technologie colorimétrique développée par bioMérieux, la croissance des microorganismes dans chaque flacon est constamment surveillée par un réflectomètre très sensible. Tout changement de statut des flacons est enregistré par un signal sonore et visuel comme pour le BACTEC® [12].

La capacité de l'automate BACTEC®9050 est de 50 flacons. Celle de "BacT- ALERT 3D Combination" est de 120 flacons.

Un volume de 2-5 ml de sang est prélevé sur le patient et injecté directement dans chaque flacon d'hémoculture qui est introduit dès que possible dans l'appareil pour garantir son efficacité. Il s'agit d'une innovation par rapport à l'hémoculture classique qui demande un volume de 10 ml de sang.

Le BACTEC® 9050 fonctionne par un système d'agitation continue des flacons versus intermittent des BACTEC® des séries de grande capacité (BACTEC® 9120 et BACTEC®9240) [13].



Figure 3 : BACTEC® 9050

Les bouillons de culture

Il existe 5 types de flacons BACTEC® :

- BD BACTEC™ PLUS/F

Ces milieux de culture contiennent des résines qui neutralisent une grande variété d'antibiotiques et permettent d'améliorer la mise en évidence des germes chez les patients sous antibiothérapie.

- BD BACTEC™ Lytic/10 Anaerobic/F

Ce milieu contient un agent lytique qui permet de détecter plus rapidement des organismes en partie phagocytés par les leucocytes.

- BD BACTEC™ MYCOSIS-IC/F

Ce milieu fongique facilite la mise en exergue de levures qui peuvent être masquées par la prolifération bactérienne dans la culture.

- BD BACTEC™ MYCO/F LYTIC

Ce milieu 7H9 supplémenté a été spécialement développé pour la détection des mycobactéries, levures et champignons dans le sang. Il contient un agent lytique qui permet de détecter plus rapidement des organismes en partie phagocytés.

- BD BACTEC™ PEDS PLUS/F

Ce milieu conçu pour les échantillons de faible volume permet d'optimiser la détection des germes pathogènes courants chez les enfants.

Ce flacon BD BACTEC™ PEDS PLUS /F étant utilisé pour sa conception à la détection des germes pathogènes courants chez les enfants, ceci exclut d'autres pathogènes dont la détection est assurée par les autres types de flacons BACTEC® [14].

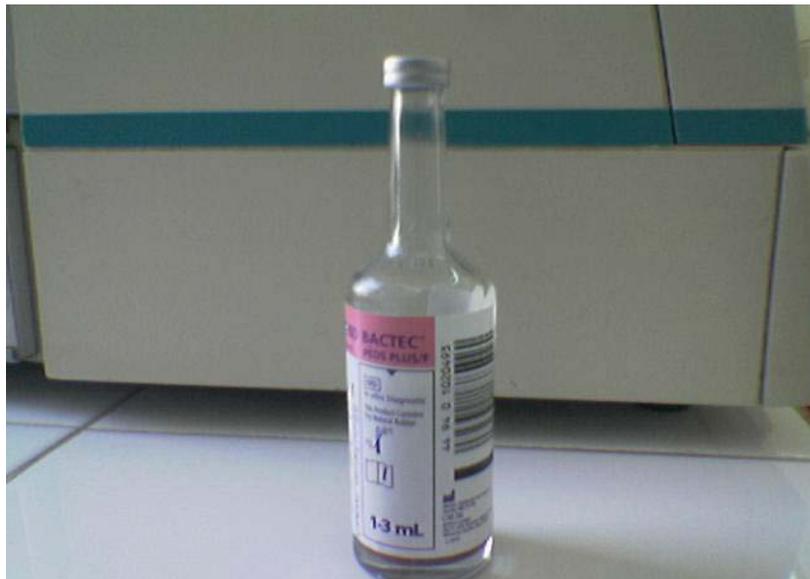


Figure 4 : Le flacon BD Bactec™ PEDS PLUS /F

Composition du bouillon BACTEC® 9050

Avant analyse, les flacons de culture BACTEC PEDS PLUS/F contiennent les réactifs suivants :

Liste des composants

(Les pourcentages correspondent au poids par rapport au volume)

Eau traitée	40 ml
Bouillon digéré de soja- caséine	2,75 %
Extrait de levure	0,25 %
Digestion de tissu animal	0,10 %
Pyruvate de sodium	0,10 %
Dextrose	0,06 %
Sucrose	0,08 %
Hémine	0,0005 %
Méladione	0,00005 %
Polyanéthol Sulfonate de Sodium (PSS)	0,020 %
Chlorhydrate de pyridoxal (vitamine B6)	0,001 %
Résine absorbante non ionique	10,0 %
Résine échangeuse de cations	0,60 %

3.5.2. Protocole de techniques des hémocultures positives [14]

Les procédures suivantes sont suivies lorsque le BACTEC® 9050 indique que l'hémoculture est positive :

1. la bouteille du BACTEC® 9050 est retirée de l'appareil. Sa capsule en plastique est désinfectée avec de l'alcool, ensuite une aiguille de subculture est insérée à travers la capsule et immédiatement après nous préparons une coloration de Gram ainsi qu'une subculture de l'échantillon de sang en utilisant les milieux suivants selon le cas :

- Boîte de gélose au sang de cheval ou de mouton ;
- Boîte de gélose Mac Conkey ;
- Boîte de gélose chocolat ;

Sont écrits sur chaque boîte le numéro du BACTEC®; ou le numéro d'identification GDH (Global Digital Health), les initiales du patient ainsi que la date ;

2. Reporter tous les résultats sur la fiche de travail ;

3. Procéder à la lecture de la coloration de Gram :

➤ Si aucun microorganisme n'est détecté sur la lame de coloration, remettre la bouteille dans le BACTEC® 9050. Ceci devrait être fait le plus tôt possible dans les 3 heures qui suivent la sortie du flacon. Dans les 3 heures, le flacon de BACTEC® doit être subcultivé sur la boîte de gélose au sang, la boîte de gélose Mac Conkey et la boîte de gélose chocolat. Les boîtes et la bouteille sont incubées et observées pendant une durée de 5 jours (à compter de l'incubation de la bouteille). La bouteille est encore subcultivée si au bout de ces 5 jours aucun microorganisme n'a toujours pas été identifié ;

➤ Si des microorganismes sont détectés, ne plus remettre la bouteille dans le BACTEC® 9050. Reporter sur la fiche de travail les résultats de la coloration de Gram (par exemple : CGPgr, CGPpr, CGPch, BGP, BGN, Cocco BGN, DCGN, Levures...);

4. le service de pédiatrie est ainsi informé d'un résultat positif de la coloration de Gram ;

5. lorsque des cocci Gram-positif en paires ou en chaînettes sont observés, placer un disque de bacitracine (A) et un disque d'optochine (P) sur la gélose au sang de la subculture ;

6. les boîtes contenant les subcultures sont placées dans l'incubateur à CO₂.

Si la coloration de Gram est positive, la bouteille est incubée avec les Boîtes.

7. lorsqu'une croissance est observée, reporter sur la fiche de travail les références des boîtes dans lesquelles des colonies ont été observées. Faire une coloration de

Gram sur ces colonies et reporter les résultats sur la fiche de travail. S'il existe plusieurs genres de colonies, l'aspect de chaque colonie bactérienne est aussi reporté ;

8. dans les cas où des cocci Gram-positif sont observés, se référer à l'organigramme de travail comme suit :

a. enregistrer les résultats des tests des disques d'optochine et de bacitracine ainsi que le test de la catalase ;

b. si le micro- organisme est catalase- positif et ressemble au Staphylocoque (cocci Gram-positif en grappes), faire un test de coagulase. Si le micro- organisme est coagulase- positive, il faudrait l'enregistrer comme étant *Staphylococcus aureus*. Si le micro- organisme est coagulase négatif après 24 heures, il faudrait l'enregistrer comme étant *Staphylococcus* à coagulase négative;

c. lorsque le micro- organisme est catalase- négatif, bêta- hémolytique, et bacitracine- positif (inhibé par la bacitracine), enregistrer le micro- organisme comme étant *Streptococcus* Groupe A ;

d. au cas où le test à la bacitracine ou à la catalase est flou, faire un PYR test. Si le PYR test est positif, enregistrer le micro-organisme comme étant *Streptococcus* groupe A ;

e. dans le cas où le micro- organisme est catalase négatif, bêta- hémolytique, et bacitracine négatif, faire les tests d'agglutination des streptocoques des groupes A et B. Enregistrer le micro- organisme comme étant *Streptococcus* bêta- hémolytique de groupe A, de groupe B ou non groupable ;

f. quand le micro- organisme est catalase négative, optochine- positif (inhibé par le disque d'optochine) et diplocoque Gram-positif, l'enregistrer comme étant *Streptococcus pneumoniae*. Si le test d'optochine est négatif ou non concluant, faire

un test de «bile solubility». Si ce test de solubilité par la bile est positif, enregistrer le micro-organisme comme étant *Streptococcus pneumoniae* ;

g. lorsque le micro- organisme ressemble au *Streptococcus* (catalase négative, cocci Gram-positif en chaînette), mais négatif au test du disque d'optochine et négatif au test de solubilité par la bile, effectuer le PYR test.

h. au cas où le résultat du PYR test est positif, enregistrer le micro- organisme comme étant *Enterococcus species*. Si le résultat du PYR test est négatif, enregistrer le micro-organisme comme étant *Streptococcus* alpha ou gamma hémolytique selon la réaction d'hémolyse ;

9. quand le micro- organisme est un bacille Gram-positif, aucun test additionnel n'est effectué, enregistrer seulement «Bacille Gram- Positif» ;

10. si des bactéries Gram-négatif sont observées, la référence est faite à l'organigramme ainsi qu'il suit :

➤ Si le micro-organisme pousse sur la gélose au sang et la gélose Mac Conkey faire un test d'oxydase et inoculer une galerie API 20 E. Les Enterobacteriaceae (tels que *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*) sont oxydase-négatifs ; les *Vibrio* et les *Pseudomonas* sont oxydase positive. Si les microorganismes isolés sont identifiés comme étant *Salmonella*, *Shigella* ou *Vibrio*, confirmer le résultat par un test de sérotypage. Enregistrer le résultat de ces différents tests ;

➤ Si le micro-organisme ne pousse que sur la gélose au sang de cheval ou de mouton et sur la gélose chocolat mais ne pousse pas sur la gélose Mac Conkey et est diplocoque Gram-négatif, *Neisseria meningitidis* pourrait être suspecté. Il faudra faire un test d'oxydase. Si l'identification préliminaire indique *Neisseria meningitidis*, le confirmer par un test de sérotypage ;

➤ Si le micro-organisme ne pousse que sur la gélose au sang de cheval ou de mouton et sur la gélose chocolat mais pas sur la gélose Mac Conkey et se présente comme de petits bacilles Gram-négatif, nous pouvons suspecter *Haemophilus influenzae*. Faire un test d'oxydase et un test des facteurs X et V. Si l'identification indique *Haemophilus influenzae*, le confirmer par un test de sérotypage ;

11. Procéder à un antibiogramme par la méthode de diffusion des disques d'antibiotiques selon Kirby- Bauer ;

12. Enregistrer le résultat dans le registre de laboratoire et informer le médecin du patient de l'identification finale.

3.6. LCR

Les procédures suivantes sont suivies pour le traitement et l'examen cyto-bactériologique du liquide céphalo-rachidien.

3.6.1. Techniques préliminaires sur le LCR et les autres liquides biologiques [14]

Les prélèvements sont reçus au laboratoire dans des tubes stériles et sont immédiatement identifiés puis enregistrés dans le registre de laboratoire.

Le reste du travail se fera sous une hotte à flux laminaire.

Les tests sur le LCR sont réalisés dans l'ordre suivant :

1. Nous identifions les boîtes de gélose ainsi que la lame pour le frottis (le numéro d'enregistrement, le type de prélèvement, la date de travail et les initiales du patient sont écrits) ;

2. Nous déposons sur les géloses au sang de cheval et ou chocolat 2 à 3 gouttes de LCR puis les boîtes de gélose sont refermées. Nous laissons imbiber la gélose par le LCR pendant quelques minutes ;

3. Une goutte de LCR est déposée sur une lame propre en vue de confectionner un frottis;

4. Après avoir laissé sécher le frottis, il est fixé par "chauffage" de la lame à l'incinérateur de la hotte pendant 5 secondes au maximum ;

5. Comptage cellulaire du LCR

Nous remplissons l'hémocytomètre de LCR (cellule de Kova) qui est ensuite laissé au repos pendant 2 à 3 min pour le comptage cellulaire ; Le comptage se fait au microscope optique, nous examinons avec objectifs x10 pour la mise au point à l'aide de la vis macrométrique et la qualité de l'image améliorée à l'aide de la vis micrométrique.

Nous comptons les éléments sur l'ensemble de la cellule à l'objectif x 40 au cas où les éléments figurés sont peu nombreux, dans le cas où les éléments sont nombreux et pratiquement identiques dans les cases de la grille, nous choisissons une case dans laquelle nous comptons les éléments et nous les multiplions par 81 pour obtenir le nombre d'éléments (hématies et ou leucocytes) par mm^3

NB : Ne compter que les cellules situées à l'intérieur des traits de la grille.

Méthode de calcul alternatif : Faire la moyenne des cellules comptées par petits carrés et multiplier par 81 pour obtenir le nombre de cellules par mm^3 ,

6. Nous revenons pour ensemencer les 2 à 3 gouttes de LCR préalablement déposées sur la gélose au sang de cheval ou de mouton et la gélose chocolat. Les boîtes sont ensuite mises dans l'incubateur à CO_2 en les renversant ;

7. Nous réalisons les tests d'agglutination sur le LCR direct avec le sérum latex Pastorex meningitis kit ou le sérum latex Slidex meningitis sont ensuite réalisés selon la disponibilité, dont le principe est le suivant :

Les réactifs sont constitués de particules de latex sensibilisées par des antisérums spécifiques, permettent, par une technique d'agglutination rapide sur carte, de

détecter l'antigène correspondant dans le prélèvement. Le coffret de Slidex méningitis contient les réactifs suivants:

- réactif R1 : Latex *Haemophilus influenzae* type b
- réactif R2 : Latex *Streptococcus pneumoniae*
- réactif R3 : Latex *Neisseria meningitidis* groupe A
- réactif R4 : Latex *Neisseria meningitidis* groupe B/ *Escherichia coli* K1
- réactif R5 : Latex *Neisseria meningitidis* groupe C
- réactif R6 : Contrôle Positif, extrait antigénique de : *Haemophilus influenzae* type b. [15]

Le coffret de Pastorex méningitis kit contient les réactifs suivants:

- réactif R1 : *Neisseria meningitidis* groupe B/ *Escherichia coli* K1
- réactif R2 : *Neisseria meningitidis* groupe B/ *Escherichia coli* K1 contrôle négatif.
- réactif R3 : *Haemophilus influenzae* type b.
- réactif R4 : *Streptococcus pneumoniae*
- réactif R5 : *Streptococcus* groupe B
- réactif R6 : *Neisseria meningitidis* groupe A
- réactif R7 : *Neisseria meningitidis* groupe C
- réactif R8 : *Neisseria meningitidis* groupe Y/W135
- réactif R9 : Contrôle polyvalent négatif
- réactif R10 : Contrôle polyvalent positif. [16]

8. Nous procédons à la coloration de Gram ;

Les autres liquides biologiques (liquide pleural, liquide péricardique, liquide articulaire) sont traités comme le LCR.

9. Le reste du prélèvement de LCR est gardé au laboratoire sur la paillasse de travail pendant 5 jours.

Les résultats suivants doivent être notifiés au service de pédiatrie dans les deux heures qui suivent la réception du prélèvement au laboratoire, il s'agit :

- du résultat de la coloration de Gram ;
- du résultat du comptage cellulaire ;
- du résultat des tests d'agglutination.

Nous préparons "une fiche de travail LCR" pour y enregistrer le nom du patient, le numéro de dossier ou le numéro de GDH et la date du prélèvement. Tous les résultats des tests sont enregistrés sur cette fiche de travail et saisi sur le support informatique.

3.6.2. Protocole de travail de la Culture du LCR

1. Les géloses au sang et au chocolat sont examinées tous les jours pendant 5 jours et les résultats sont enregistrés sur la fiche de travail et saisi sur le support informatique.

2. Si une colonie bactérienne est observée sur les géloses, une coloration de Gram est effectuée. Les résultats de la coloration de Gram ainsi que la description des colonies sont enregistrés sur la fiche de travail.

Le service de pédiatrie est informé de la positivité de la culture du LCR.

3. Nous suivons les procédures d'identification pour les cultures positives.

3.7. Techniques utilisées pour l'identification des bactéries

3.7.1. Coloration de Gram

Principe :

La coloration de Gram est la coloration la plus importante dans le laboratoire de microbiologie. Les bactéries peuvent être divisées en micro-organismes Gram-positif et en micro-organismes Gram-négatif. Les bactéries Gram positif retiennent la coloration violette du Violet de Gentiane (ou du Cristal Violet) et auront une teinte bleue au microscope.

Les bactéries Gram-négatif peuvent être décolorées, leur enlevant ainsi la coloration violette du Violet de Gentiane avec une solution d'alcool acétone. Les bactéries sont ensuite colorées en rouge avec la safranine (ou la fuschine basique). C'est parce que la coloration de Gram est très importante, qu'elle doit être accomplie avec le plus grand soin.

Matériels et réactifs utilisés :

- Microscope binoculaire avec objectifs 10 et 100 ;
- Huile à immersion ;
- Coffret de colorants de Gram contenant :
 - Violet de gentiane ou cristal violet
 - Solution de lugol
 - Solution de décolorant alcool acétone
 - Safranine ou fuschine basique
- Lames porte- objet
- Portoir de lame
- Crayon de papier
- Papier buvard
- Flacon d'eau distillée
- Bac de coloration

Procédure de la coloration :

1. Utiliser une lame propre sur laquelle sont écrits le nom du patient et l'identification du spécimen avec un crayon de papier. Ne pas utiliser de stylo à bille ;
2. Etaler l'échantillon en un frottis mince sur la lame de verre afin de permettre au frottis de sécher à l'air libre. Ne pas surtout chauffer la lame pour faire sécher rapidement le frottis ;

3. Lorsque la lame est complètement séchée, la tenir contre l'incinérateur jusqu'à ce qu'elle soit tiède sans être brûlante au toucher ;
 4. Recouvrir le frottis de lame avec le Violet de gentiane pendant 30 à 40 secondes
 5. Verser le surplus de la solution de Violet de gentiane et rincer la lame avec un jet d'eau faible et ensuite égoutter l'excès d'eau. Utiliser un faible jet d'eau pour laver la lame, si non le spécimen se détache de la lame ;
 6. Recouvrir le frottis avec la solution Iode- iodure (Solution de Lugol) pendant 30 à 40 secondes ;
 7. Verser la solution de Lugol de la lame et la rincer avec un faible jet d'eau. Egoutter l'excès d'eau ;
 8. Goutte à goutte la solution de décolorant alcool acétone est versée sur la lame de manière à recouvrir entièrement le frottis ;
 9. Immédiatement après, rincer la lame avec un faible jet d'eau. L'excès d'eau est égoutté ;
- Note : Si la solution alcool- acétone reste trop longtemps sur la lame, les micro-organismes Gram-positif pourraient apparaître comme Gram-négatif.
10. Recouvrir le frottis avec la solution de safranine (ou la fuschine basique) pendant 60 secondes (2 fois plus longtemps que les autres étapes) ;
 11. Verser la safranine qui une minute plu tard est rincée en tenant la lame sous un faible jet d'eau, l'excès d'eau est égoutté. Prudemment, sécher la lame avec du papier buvard. Ne pas surtout froter la lame pour la faire sécher.

Interprétation :

La clé dans l'interprétation de la coloration de Gram est d'identifier la morphologie des micro-organismes (exemple : cocci, bacilles) ainsi que leur relation les uns par rapport aux autres (exemple : cellules isolées, en paires, en chaînettes et en

grappes). La reconnaissance de ces caractéristiques peut aider à l'interprétation de la coloration de Gram.

Par exemple

Cocci Gram-positif en grappes = Staphylocoques

Note : Aucun cocci Gram négatif en grappes n'existe, ainsi les cellules qui apparaissent Gram négatif sont probablement des cocci Gram-positif qui ont été décolorés trop longtemps.

Cocci Gram-positif en chaînettes = Streptocoques.

Note : Il n'existe pas de cocci Gram- négatif en chaînettes.

Cocci Gram-positif en paires = *Streptococcus pneumoniae* ou *Enterococcus*

Note : Ces cocci sont allongés et attachés par leur bout.

Bacilles Gram- positif : égale plusieurs micro-organismes

Note : Il existe plusieurs bacilles à Gram positif comprenant *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Propionibacterium*.

Cocci Gram-négatif en paires = *Neisseria*

Note : Les cocci Gram-négatif les plus connus sont arrangés en pair (diplocoques) et attachés par leur côté. Ils ressemblent à des grains de café.

Bacilles Gram-négatif = Plusieurs micro-organismes

Note : Il existe plusieurs bacilles à Gram-négatif comprenant *Klebsiella*, *Haemophilus*, *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Pseudomonas*, *Vibrio*, etc.

3.8. Tests biochimiques et métaboliques :

3.8.1. Oxydase

Principe :

Le test d'Oxydase est un examen rapide, utilisé pour identifier les bactéries Gram-négatifs. Cet examen est utilisé comme un indicateur redox qui passe d'une teinte incolore (quand c'est réduit) à une couleur violet- foncé (quand c'est oxydé). Les

bactéries qui possèdent le cytochrome C sont capables d'éliminer des électrons (oxyde) de cet indicateur redox, cause pour laquelle la couleur change.

Matériels et réactifs utilisés :

Papier buvard

Anse

Écouvillon

Réactif d'oxydase : Phénylène- diamine

Procédure :

-Avec un écouvillon stérile prendre une à deux colonies de bactéries bien isolées dans une boîte de gélose (Ne pas utiliser une gélose Mac Conkey)

- Placer une à deux gouttes d'oxydase sur l'écouvillon.

Interprétation :

Réaction positive = développement d'une couleur violette dans un intervalle de 10 à 30 secondes.

Réaction négative = aucune couleur ne se développe au bout de 30 secondes. Ne pas lire le test après 30 secondes à cause des faux- positif qui peuvent se développer.

Contrôle de Qualité :

- Le test d'oxydase est très important pour l'identification des bactéries Gram-négatif. Les bactéries, oxydase positives, les plus connues sont *Neisseria*, *Haemophilus*, *Pseudomonas*, *Vibrio*. Les bactéries, oxydase négatives, les plus connues sont les Enterobacteriaceae, une grande famille de bactéries qui inclut *Klebsiella*, *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*.

- Un test d'oxydase ne peut pas être réalisé avec des colonies de bactéries isolées sur une gélose Mac Conkey parce que les colorations dans la gélose pourraient causer une réaction faussement positive.

3.8.2. Galeries classiques pour les bacilles à Gram négatif

3.8.2.1. Test à l'ONPG

Principe

Bien que certaines bactéries possèdent une enzyme intracellulaire (E) capable de scinder la molécule de lactose en galactose et glucose (sucre fermenté par toutes les entérobactéries), comme par exemple la bêta galactosidase (en abrégé β gal) ; elles ne fermentent pas ou fermentent tardivement le lactose.

Chez les bactéries, une autre enzyme (P) (perméase par exemple la galactoside perméase), qui permet la pénétration du lactose dans la cellule bactérienne, est absente ou n'est pas fonctionnelle.

Le test ONPG est une méthode simple et rapide, qui permet de rechercher directement l'enzyme (E) et par suite de distinguer les bactéries potentiellement lactose positives des bactéries lactose négatives. [17].

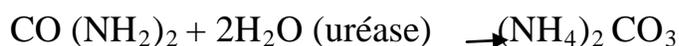
Il présente un grand intérêt diagnostique : comme le lactose, l'ONPG (= Orthonitrophényl – β – galactopyranoside) composé incolore, est scindé par l'enzyme (E) en libérant de l'orthonitrophénol soluble en jaune.

3.8.2.2. Recherche de l'uréase

Principe

L'uréase est mise en évidence au moyen du milieu «urée indole» ; milieu synthétique utilisé pour rechercher simultanément l'uréase, la tryptophane – désaminase (TDA) et la production d'indole

Dans ce milieu tamponné, les bactéries qui possèdent une uréase suffisamment active, transforment l'urée en carbonate d'ammonium, selon la réaction :

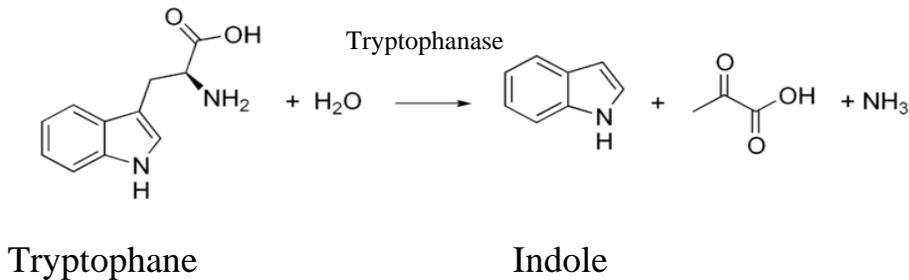


Il en résulte une alcalinisation du milieu dans des délais plus ou moins rapides

3.8.2.3 Recherche de l'indole

Principe

Certaines bactéries possèdent une tryptophanase, capable de scinder la molécule de tryptophane en donnant de l'indole suivant la réaction :



A partir de la culture en eau peptonée ou de suspension bactérienne en milieu « urée – indole » ; qui fermentent toutes deux du tryptophane, on peut rechercher la production d'indole à l'aide du réactif de Kovac (anneau rouge).

La présence d'indole est relevée par un anneau rouge en surface.

3.8.2.4 Recherche du thiosulfate- réductase (production de H₂S)

Principe :

Cette enzyme permet de réduire S₂O₃²⁻ en S²⁻. L'anion S peut être relevé grâce à la coloration noire de certains sulfures métalliques : sulfure de fer (milieu Hajna-Kligler), sulfure de plomb (gélose au sous – acétate de plomb

3.8.2.5 Réaction de Voges- Proskauer,

Principe :

Les bactéries dites Voges – Proskauer positives (VP⁺) possèdent une voie métabolique particulière dans la fermentation des hexoses. A partir de l'acide pyruvique CH₃CO – COOH, produit d'oxydation du glucose, elles peuvent former

de l'acétyl méthyle carbinol (= acetoïne) : $\text{CH}_3\text{CO} - \text{CHOH} - \text{CH}_3$ et du butane diol 2-3 : $\text{CH}_3 - \text{CHOH} - \text{CHOH} - \text{CH}_3$.

La présence de ces deux composés est décelée par la réaction de VP : en milieu fortement alcalin, ils sont oxydés en diacétyl : $\text{CH}_3\text{CO} - \text{COCH}_3$, qui réagit avec le groupement guanidine des peptones pour produire un complexe de couleur rose rouge cerise ; l'alpha - naphthol accélère cette réaction colorée. D'une façon générale, les produits de dégradation obtenus par les bactéries qui possèdent cette voie métabolique, présentent une réaction peu acide (virage au jaune du rouge de méthyle : RM^+)

3.8.2.7 Recherche des décarboxylases et dihydrolase (LDC, ODC, ADH)

Principe : Les décarboxylases sont des enzymes qui décarboxylent les acides aminés en formant l'amine correspondante avec dégagement de CO_2 .

Les décarboxylases présentant un intérêt taxonomique sont :

- la lysine – décarboxylase ou LDC (lysine → cadavérine) ;
- l'ornithine – décarboxylase ou ODC (ornithine putrescine) ;
- l'arginine – décarboxylase et dihydrolase ou ADH (arginine → agmatine et ornithine) [17].

Le milieu de Hajna-Kligler :

Le milieu de Hajna-Kligler est un milieu complexe, qui permet la recherche de plusieurs caractères biochimiques. Il est très utilisé dans l'identification des Entérobactéries.

Milieu urée – indole :

- Milieu urée – indole On utilise ce milieu pour mettre en évidence la décomposition de l'urée (présence d'uréase).

3.9. Galerie API 20E



Figure 3: Galerie pour l'identification des entérobactéries et autres BGN

Le Système d'Identification API 20E est utilisé pour l'identification des entérobactéries et d'autres bacilles à Gram négatif qui poussent facilement. Le système consiste en une galerie de 20 microtubes contenant les substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne, incubés pendant la nuit dans un incubateur en aérobose, et ensuite interprétés.

3.10. Test de Sensibilité des antibiotiques : Méthode de diffusion des disques d'antibiotiques selon Kirby- Bauer

Ce procédé définit l'utilisation de la méthode de diffusion des disques d'antibiotiques *in vitro* selon Kirby- Bauer. Pour tester la sensibilité, d'importants isolats en clinique. Les résultats de cet examen peuvent aider les médecins dans la sélection de l'antibiotique approprié pour la thérapie.

Principe :

La méthode de diffusion des disques selon Kirby- Bauer est basée sur l'observation qu'il y a une corrélation entre la concentration minimale inhibitrice (CMI) et le diamètre de la zone d'inhibition de croissance bactérienne autour d'un disque d'antibiotique. La taille de la zone d'inhibition de croissance est déterminée par la sensibilité du micro-organisme à l'antibiotique, la concentration du disque d'antibiotique, le taux de diffusion de l'antibiotique du disque et le taux de croissance du micro-organisme. En standardisant les conditions du test (exemple : préparation d'un seul antibiotique contenu dans le disque, milieu de culture spécial,

atmosphère et durée d'incubation) et avec une concentration du micro- organisme du test, la zone d'inhibition mesurée sera corrélée avec la sensibilité du micro- organisme à l'antibiotique (exemple : plus la zone est grande, plus l'organisme est sensible).

Le test doit être exécuté exactement comme décrit sinon les résultats ne seront pas précis. Matériels et réactifs utilisés :

Gélose de Mueller- Hinton additionnée de 5% de sang de cheval (MHA- B)

Milieu de culture pour *Haemophilus* (HTM)

Solution saline stérile à 0,85 %

Standard 0,5 de Mc Ferland

Disques antibiotiques pour test de sensibilité

Ecouvillons en coton stériles

Pipettes à sérum

Pinces à disques et/ ou applicateur de disque

Conditions de stockage nécessaires :

1. Milieux de culture (MHA- B et HTM) : A conserver au réfrigérateur, ils doivent être réchauffés à la température de la salle avant leur utilisation. Les boîtes non-stockées dans des sacs en plastique se déshydrateront et ne pourront pas être utilisées convenablement ;
2. Solution saline stérile : A conserver au réfrigérateur ;
3. Standard 0,5 de Mc Ferland : A conserver au noir dans un récipient. Ne pas utiliser de tube rayé. Le diamètre du tube doit être le même que celui des tubes de solution saline utilisés pour la préparation des tests d'inoculum ;
4. Disques d'antibiotiques : Congeler les disques à -20° C ou à une température plus basse pour de longue conservation ;

5. Dès qu'une boîte est ouverte pour usage, elle peut être conservée au réfrigérateur dans une capsule bleue de 50 ml ensemble avec le dessiccateur.

Procédure du test :

1. Les boîtes de gélose doivent être réchauffées à la température de la salle avant qu'elles ne soient inoculées. Aucun excès d'humidité ne doit se trouver sur la surface de la gélose. La surface peut être humide mais de gouttelette d'humidité ne devraient pas être présentes au moment d'inoculer la gélose avec le micro-organisme ;

2. La gélose HTM (gélose spéciale) est utilisée pour les tests *Haemophilus*. La gélose MHA-B (Mueller Hinton au sang) est utilisée pour tous les autres tests ;

3. Enlever du réfrigérateur les disques pour le test de sensibilité afin de leur permettre de se réchauffer à la température de la salle. Au paravant ils auront été enlevés du récipient de conservation. Il ne faut pas exposer les disques froids à l'air de la salle parce que la condensation de l'humidité sur les disques froids conduirait à une détérioration rapide des antibiotiques. Vérifier les dates d'expiration sur les boites d'antibiotiques.

Ne pas utiliser de disques périmés ;

4. Sélectionner au moins 4 à 5 colonies bien isolées de même morphologie sur la gélose au sang. Toucher le sommet de chaque colonie avec une anse et les transférer dans un tube de solution saline. Ajuster l'inoculum de la solution saline à une turbidité égale à un standard de 0,5 de l'échelle de Mac Farland en utilisant le turbidimètre. Cette étape est très importante. La boîte de gélose est immédiatement inoculée avec l'inoculum ajusté;

5. Plonger un écouvillon stérile dans la suspension ajustée. Il est tourné plusieurs fois sur la paroi intérieure du tube au- dessous du niveau du liquide pour enlever

l'excès de l'inoculum. Inoculer la surface entière de la boîte de gélose en faisant tourner la boîte d'approximativement d'un angle de 60° C et ensemercer de nouveau. Faire tourner la boîte et l'ensemencement est répété jusqu'à trois fois pour s'assurer d'une distribution régulière de l'inoculum. A l'étape finale, le bord de la gélose est tamponné ;

6. Inoculer une boîte pour *Haemophilus influenzae* ; pour *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* ; deux boîtes de gélose sont inoculées pour les autres bacilles à Gram négatif ;

7. Laisser l'excès d'humidité s'absorber par la gélose pendant 5 à 10 minutes avant d'appliquer les disques d'antibiotiques. Placer les disques d'antibiotiques sur la boîte en utilisant des pinces stériles. Le disque est pressé sur la surface de la gélose avec des pinces stériles pour s'assurer du contact complet avec la surface de la gélose. Ne plus enlever le disque une fois qu'il est arrivé au contact avec la surface de la gélose parce que l'antibiotique diffuse dans la gélose presque immédiatement.

Utiliser souvent des applicateurs de disques d'antibiotiques ;

8. Les disques d'antibiotiques suivants seront testés:

Pour *Streptococcus pneumoniae* : Oxacilline 1 µg (pour le test de Pénicilline 10 UI), Céftriaxone 30 µg, Erythromycine 15 µg, Chloramphénicol 30 µg ;

Pour *Staphylococcus aureus*: Pénicilline 10 UI, Oxacilline 1 µg, Céftriaxone 30µg ;

Pour *Haemophilus influenzae*: Ampicilline 10 µg, Ceftriaxone 30 µg, Chloramphénicol 30 µg ;

Pour les autres bacilles à Gram négatif

Boîte de gélose N°1- Ampicilline 10 µg, Ceftriaxone 30 µg, Chloramphénicol 30µg.

Boîte de gélose N°2- Gentamicine 15 µg, Cotrimoxazole 25 µg, Ciprofloxacine 5µg.

9. Laisser les boîtes pendant 15 minutes après que les disques aient été déposés avant l'incubation proprement dite.

Les espèces *Streptococcus* et *Haemophilus* sont placées dans l'incubateur à CO₂ tous les autres micro-organismes devraient être placés dans un incubateur en aérobiose.

Interprétation :

1. Tous les tests de sensibilité sont lus après 20 à 24 heures d'incubation. Si les examens sont lus plutôt ou après 24 heures, les résultats pourraient ne pas être précis ;

2. Mesurer les diamètres de la zone d'inhibition complète du disque, au millimètre près, en utilisant une règle posée sur la face postérieure de la boîte. Les résultats d'Oxacilline de *Staphylococcus* sont interprétés en tenant la boîte face à la lumière afin que toute croissance puisse être mise en évidence. Toute croissance discernable dans la zone d'inhibition est indicatrice de la résistance à la Vancomycine ou à l'Oxacilline. Fréquemment ces colonies seront très petites ; alors il faudrait examiner les boîtes avec soins.

3. La limite est l'aire dans laquelle une croissance évidente est visible à l'œil nu, excepté la trace de la ligne de croissance à la lisière de la zone d'inhibition.

La croissance de larges colonies à l'intérieur d'une zone d'inhibition claire devrait indiquer un mélange de croissance. Si tel est le cas alors la sensibilité est mixée, reprendre le test. Si les colonies persistent dans la zone, il faut les considérer comme significatives ;

Avec le Cotrimoxazole, les micro-organismes se développent au travers de plusieurs générations avant d'être inhibés. Nous ne tiendrons pas compte de la faible croissance, nous devons lire seulement les limites de la croissance en abondance ;

Se référer à la « carte de référence » pour l'interprétation des tests ;

Les tests du disque de Pénicilline pour *Streptococcus pneumoniae* ne sont pas exacts. C'est la raison pour laquelle le disque d'Oxacilline 1 µg est utilisé. Ne pas reporter les résultats comme Oxacilline mais plutôt les reporter comme Pénicilline.

Compte-rendu :

1. Reporter les résultats dès que l'identification du micro-organisme est complète ;
2. Si le profil de sensibilité est atypique pour le micro- organisme identifié, l'identification et le test de sensibilité devraient être repris. Si les résultats restent atypiques, ils pourraient être discutés avec le superviseur du laboratoire ou le directeur avant de les reporter ;
3. Quelques résultats avec les tests des disques de diffusion pourraient être irréalisables. Les microorganismes fastidieux ou lents en croissance ne pourraient pas être testés par la méthode. En plus, des combinaisons de micro- organismes et d'antibiotiques ne peuvent pas être testés de façon fiable avec la méthode de diffusion des disques. Les guides suivants seraient utilisés pour ces micro-organismes

Reporter comme résistants tous les tests de *Salmonella* et *Shigella* avec des Aminoglycosides et les Céphalosporines de première et seconde générations

Si le *Staphylococcus* est résistant à l'Oxacilline, reporter Pénicilline et Ceftriaxone comme résistants sans tenir compte de ce que le test du disque indique [18].

4. Résultats

Les résultats sont saisis sur Microsoft Word, vu la petite taille de notre échantillon nous sommes limités à une étude descriptive.

4.1. Résultats globaux

Durant la période d'étude 2002 à 2008, il a été effectué 21840 prélèvements d'hémocultures dont 4184 sont positifs soit 19.16%. Pendant la même période 7382 prélèvements de LCR ont été analysés dont 2097 positifs soit 28.41%. Il a été réalisé pendant la même période 495 prélèvements provenant d'autres foyers infectieux (articulaire, péritonéal, musculaire, sous-cutané, pleural...) dont 264 positifs soit 53.33%

De l'ensemble de ces prélèvements, il a été isolé 39 souches de *Pseudomonas*

Les *Pseudomonas* sont isolés à 0,13% de l'ensemble des prélèvements (29717), 0,60% des prélèvements positifs

4.2. Présentation des résultats sociodémographiques

TABLEAU IV: Répartition des *Pseudomonas* selon l'âge, le sexe, la résidence et le devenir

N°	Ordre	Age	sexe	Date	Résidence	Devenir
1	1	10Mois	F	30/04/2002	C I	Décédé
2	2	11Mois	F	01/05/2002	C III	Décédé
3	3	1Mois	F	10/05/2002	C I	Amélioré
4	4	17Mois	F	30/05/2002	CI	Décédé
5	5	1Mois	F	16/06/2002	Kolondiéba	Amélioré
6	6	12Mois	F	27/08/2002	C I	Décédé
7	7	1Mois	F	13/11/2002	C V	Amélioré
8	8	1Mois	F	15/11/2002	C V	Décédé
9	9	8 Ans	F	22/11/2002	CI	Amélioré
10	10	14Mois	M	11/02/2003	C I	Amélioré
11	11	1Mois	M	23/05/2003	C III	Amélioré
12	12	9 Ans	F	05/06/2003	CI	Décédé
13	13	11Mois	M	08/06/2003	C III	Amélioré
14	14	1Mois	F	17/06/2003	C VI	Amélioré
15	15	7 Mois	F	17/06/2003	CIV	Amélioré
16	16	6Mois	M	24/07/2003	C V	Décédé
17	17	1Mois	F	10/09/2003	C I	Amélioré
18	18	8 Ans	M	16/02/2004	CV	Décédé
19	19	4Mois	M	28/02/2004	C I	Décédé
20	20	10 Ans	M	09/09/2004	CVI	Amélioré
21	21	12jrs	M	18/11/2004	CIII	Amélioré
22	22	9Mois	F	09/08/2005	CII	Amélioré
23	23	4Mois	M	05/09/2005	CIV	Décédé
24	24	3Mois	M	03/04/2006	C IV	Décédé
25	25	36Mois	M	28/05/2006	CIII	Décédé
26	26	20jrs	F	15/06/2006	C V	Décédé
27	27	10Mois	F	21/07/2006	C VI	Décédé
28	28	6Mois	M	31/10/2006	C III	Amélioré
29	29	1jr	F	22/03/2007	CV	Amélioré
30	30	23Mois	F	27/08/2007	C I	Amélioré
31	31	4Mois	F	27/08/2007	CVI	Amélioré
32	32	15Jrs	F	17/02/2008	CI	Décédé
33	33	8Mois	M	26/05/2008	C V	Amélioré
34	34	8Mois	F	01/06/2008	CII	Décédé
35	35	10Mois	M	18/08/2008	C VI	Non amélioré
36	36	12Mois	M	20/09/2008	Koulikoro	Perdu de vue
37	37	11Mois	F	27/10/2008	III	Décédé
38	38	2Mois	M	26/11/2008	Koulikoro	Décédé
39	39	6Jrs	F	24/12/2008	C IV	Décédé

TABLEAU V: Répartition des patients en fonction du sexe

Sexes	Nombre	Fréquence
Masculin	16	41,03
Féminin	23	58,97
Total	39	100

Le sexe ratio est en faveur du sexe féminin soit 1,4

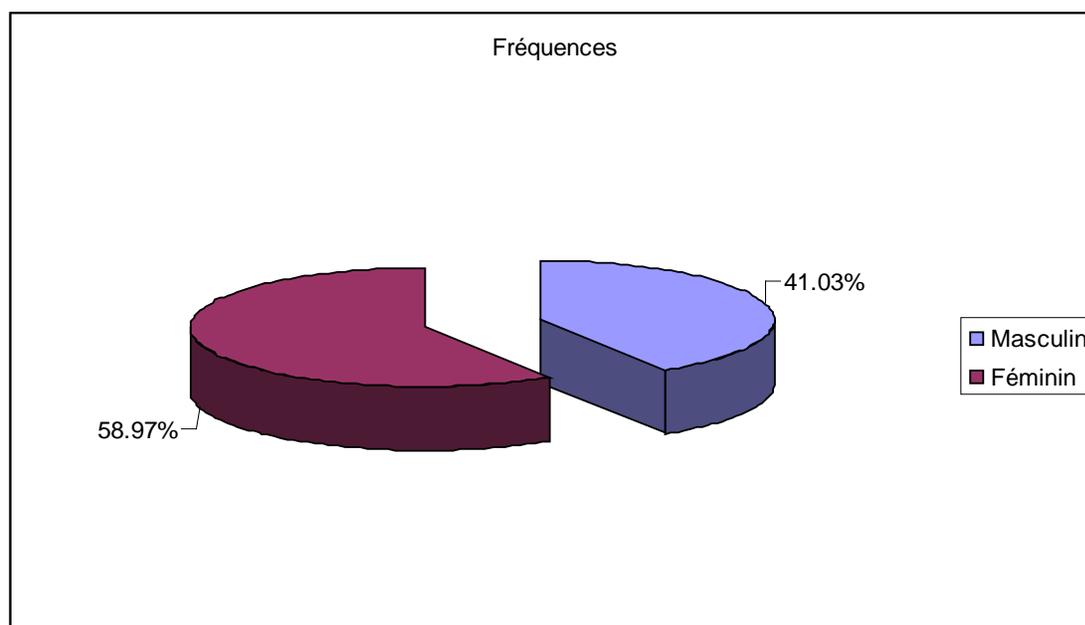


Figure 4 : représentation graphique de la répartition des patients en fonction du sexe.

TABLEAU VI: Répartition des enfants en fonction de l'âge.

Ages	Nombre	%
0 à 29 jours (nouveau- nés)	5	12.82
1 à 36 mois (nourrissons)	30	76.92
3 à 6 ans (petits-enfants)	0	00.00
6 ans à 10 ans (enfants)	4	10.26
TOTAL	39	100

Tous les patients sont des enfants, la tranche d'âge (1 à 36 mois) est la plus touchée.

TABLEAU VII : Répartition des patients en fonction de leur devenir

Devenir	Nombre	%
Décédés	19	48.73
Améliorés	18	46.15
Non amélioré	1	2.56
Perdu de vue	1	2.56
TOTAL	39	100

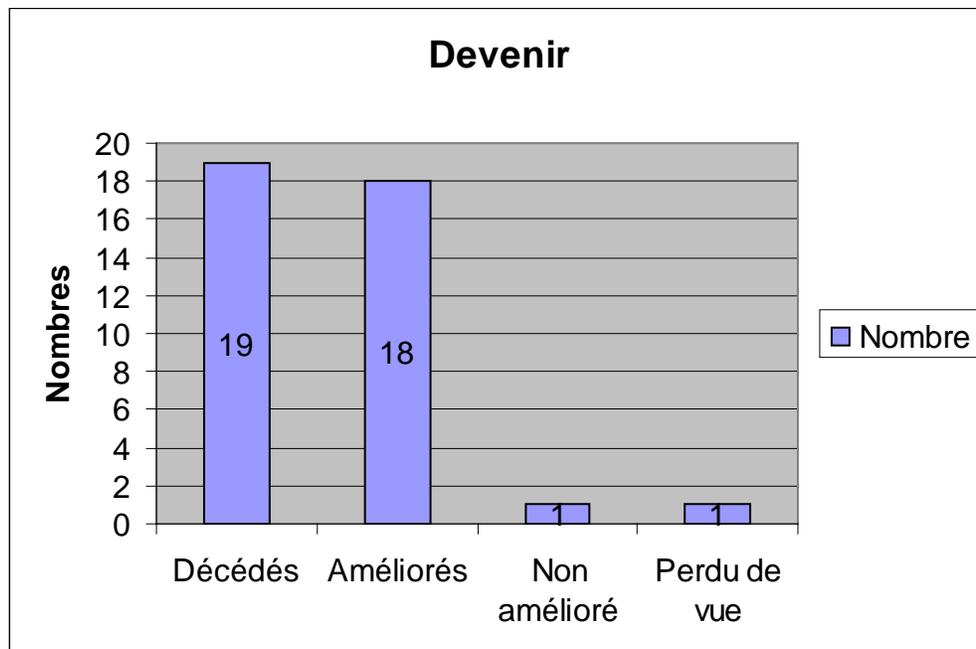


Figure 5 : Représentation graphique des patients en fonction de leur devenir
Presque la moitié des patients est décédée

TABLEAU VIII : Répartition des cas selon la résidence et l'année.

Résidences	C I	CII	CIII	CIV	C V	CVI	Autres	Koulikoro
Années								
2002	05	00	01	00	02	00	01	00
2003	03	00	02	01	01	01	00	00
2004	01	00	01	00	01	01	00	00
2005	00	01	00	01	00	00	00	00
2006	00	00	02	01	01	01	00	00
2007	01	00	00	00	01	01	00	00
2008	01	01	01	01	01	01	00	02
Total	11	2	7	4	7	5	1	2

Les patients sont majoritairement originaires de la commune I, suivi des communes III, V et VI

4.3. Etude bactériologique des prélèvements.

4.3.1. Fréquence des germes isolés

TABLEAU IX : Résultats des hémocultures

DESIGNATIONS	ANNEES							Total	%
	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008		
Total	1978	1672	1843	4097	4375	2913	4962	21840	100
Résultats négatifs	1480	1181	1329	3339	3660	2425	4242	17656	80.84
Résultats positifs	498	491	514	758	715	488	720	4184	19.16
Nature des germes isolés									
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	78	100	115	178	221	153	187	1032	4.73
<i>Haemophilus influenzae</i> type b	12	99	122	148	96	42	42	561	2.57
<i>Salmonella enterica</i>	60	48	39	28	52	45	98	370	1.69
<i>Salmonella</i> Typhi	56	20	13	50	25	16	18	198	0.91
<i>Staphylococcus aureus</i>	23	29	27	49	38	11	19	196	0.90
<i>Escherichia coli</i>	17	08	17	28	23	11	18	122	0.56
<i>Salmonella</i> paratyphi B	16	11	06	46	45	25	00	149	0.68
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	03	03	05	04	04	05	02	26	0.12
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	01	06	01	02	04	00	07	21	0.10
<i>Neisseria meningitidis</i> W135	02	08	01	00	00	00	01	12	0.06
<i>Streptococcus</i> non hémolytique	03	06	01	00	00	00	01	11	0.05
<i>Neisseria meningitidis</i> du groupe A	01	04	04	02	09	13	45	78	0.36
<i>Streptococcus</i> β hémolytique du groupe A	03	02	03	02	03	02	05	20	0.09
<i>Enterococcus spp</i>	01	01	05	03	03	01	12	26	0.12
<i>Streptococcus</i> du groupe B	04	01	01	00	00	00	00	06	0.03
<i>Morganella morganii</i>	01	02	02	02	00	00	00	07	0.03
<i>Citrobacter species</i>	02	01	01	00	01	00	00	05	0.02
<i>Citrobacter freundii</i>	02	00	02	02	02	02	04	14	0.06
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	01	01	01	00	00	00	00	03	0.01
<i>Salmonella arizonae</i>	01	01	01	00	00	00	00	03	0.01
<i>Salmonella paratyphi</i> A	01	01	01	02	02	04	00	11	0.05
<i>Pseudomonas putida</i>	00	00	00	00	01	00	00	01	0.005
<i>Salmonella paratyphi</i> C	01	00	01	02	01	02	00	07	0.03
<i>Enterobacter cloacae</i>	01	01	00	04	04	00	00	10	0.05
<i>Neisseria meningitidis</i> du groupe C	00	00	01	00	00	00	00	01	0.005
<i>Flavobacterium meningosepticum</i>	00	00	01	01	00	01	00	03	0.01
<i>Proteus mirabilis</i>	01	00	00	01	00	00	01	03	0.01
<i>Acinetobacter baumannii</i>	00	00	00	01	00	00	00	01	0.005
<i>Acinetobacter calco. var anitratus</i>	00	00	00	02	01	02	03	08	0.04
<i>Serratia liquefaciens</i>	00	00	00	00	01	00	00	01	0.005
<i>Flavobacter odoratum</i>	00	00	00	00	02	00	00	02	0.01
<i>Aeromonas spp</i>	00	00	00	00	01	00	00	01	0.005
<i>Klebsiella oxytoca</i>	01	01	00	01	00	00	00	03	0.01
<i>Klebsiella ornitholytica</i>	00	00	01	00	00	00	00	01	0.005
<i>Shigella spp</i>	00	00	00	01	01	00	00	02	0.01
<i>Streptococcus spp</i>	00	00	00	02	02	00	00	04	0.02
<i>Enterobacter sakazakii</i>	01	00	00	00	00	00	00	01	0.005
<i>Salmonella choleraesuis</i>	01	00	00	00	00	00	01	02	0.01
<i>Pseudomonas cepacia</i>	03	01	00	00	00	00	00	04	0.02
<i>Pseudomonas pseudomallei</i>	01	00	00	00	00	00	00	01	0.005
<i>Chromobacterium violaceum</i>	01	00	00	00	00	00	00	01	0.005
Cocco Bacille Gram Négatif	01	00	00	00	00	00	00	01	0.005
Contaminants :									
<i>Staphylococcus non aureus</i> (SNA)	143	119	123	156	143	128	180	992	4.54
Bacilles Gram Positif (BGP)	54	16	18	40	30	25	76	259	1.19
Levures	01	01	01	01	00	00	00	04	0.02

TABLEAU X : Résultats des LCR de 2002 à 2008

DESIGNATIONS	ANNEES							TOTAL	%
	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008		
Total	788	981	1038	1408	1252	649	1266	7382	100
Résultats négatifs	386	484	523	1198	1098	524	1072	5285	71.59
Résultats positifs	402	497	515	210	154	125	194	2097	28.41
Germes identifiés									
<i>Haemophilus influenzae</i> type b	52	75	87	108	54	26	42	444	6.01
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	45	68	77	71	83	62	60	466	6.31
<i>Salmonella enterica</i>	15	14	06	00	01	00	00	36	0.49
<i>Neisseria meningitidis</i> type A	02	18	09	02	09	32	81	153	2.07
<i>Escherichia coli</i>	04	05	05	02	01	00	01	18	0.24
<i>Neisseria meningitidis</i> W135	00	08	06	00	00	01	01	16	0.21
<i>Salmonella</i> Typhi	03	01	04	01	01	00	00	10	0.14
<i>Proteus mirabilis</i>	01	04	03	01	00	01	00	10	0.14
<i>Neisseria</i> spp	00	02	00	00	00	00	03	05	0.07
<i>Streptococcus</i> non hémolytique	01	02	04	01	01	00	00	09	0.12
<i>Staphylococcus aureus</i>	03	02	02	04	01	00	01	13	0.18
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	05	01	01	00	00	00	00	07	0.09
<i>Streptococcus</i> du groupe B	01	01	03	00	00	00	00	05	0.07
<i>Salmonella</i> paratyphi B	01	01	03	05	01	00	00	11	0.15
<i>Enterococcus</i> spp	01	02	01	01	00	00	01	06	0.08
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	02	02	01	00	00	01	01	07	0.09
<i>Pseudomonas</i> spp	00	00	00	00	00	00	01	01	0.01
<i>Moraxella</i> specie	01	01	01	00	00	00	00	03	0.04
<i>Klebsiella arizonae</i>	01	01	01	00	00	00	00	03	0.04
<i>Acinetobacter calcovar anitratus</i>	00	01	02	00	00	00	00	03	0.04
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	00	00	02	00	00	01	00	03	0.04
<i>Enterobacter agglumera</i>	00	01	01	00	01	00	01	04	0.05
<i>Citrobacter freundii</i>	00	01	01	00	00	00	00	02	0.03
<i>Morganella morganii</i>	00	01	01	00	00	00	00	02	0.03
<i>Salmonella</i> paratyphi A	00	01	00	00	00	00	00	01	0.01
<i>Enterobacter cloacae</i>	00	00	01	01	00	00	00	02	0.03
<i>Enterobacter sakasaki</i>	00	00	01	00	00	00	00	01	0.01
<i>Flavobacter meningoseptocum</i>	00	00	00	01	00	00	00	01	0.01
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	00	00	00	00	00	01	00	01	0.01
Contaminants									
<i>Staphylococcus</i> non aureus (SNA)	235	248	252	09	00	00	01	745	10.09
Bacilles Gram Positif (BGP)	28	34	36	03	01	00	00	102	1.38
Levures	01	02	04	00	00	00	00	07	0.09

TABLEAU XI : Résultats des autres prélèvements de 2002 à 2008 : autres liquides (pleural, artriculaire, sous-cutané, péritonéal et musculaire, pus).

DESIGNATIONS	ANNEES							TOTAL	%
	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008		
Total	59	88	60	78	74	57	79	495	100
Résultats négatifs	20	34	23	27	53	30	44	231	46,67
Résultats positifs	39	54	37	51	21	27	35	264	53,33
Germes identifiés									
<i>Haemophilus influenzae</i> type b	01	02	03	03	00	01	02	12	2.42
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	02	10	05	07	05	04	11	44	8.89
<i>Salmonella enterica</i>	03	03	01	01	00	00	00	08	1.62
<i>Escherichia coli</i>	00	04	03	03	02	01	02	15	3.03
<i>Salmonella</i> Typhi	00	00	00	01	00	01	00	02	0.40
<i>Proteus mirabilis</i>	02	03	02	01	00	00	00	08	1.62
<i>Streptococcus</i> non hémolytique	01	00	00	00	00	00	00	01	0.20
<i>Staphylococcus aureus</i>	16	16	13	23	09	10	05	92	18.59
<i>Streptococcus</i> β hemolyt grp A	01	00	02	00	00	00	01	04	0.81
<i>Salmonella</i> paratyphi B	00	00	00	00	00	01	04	05	1.01
<i>Enterococcus</i> spp	00	00	00	02	00	01	02	05	1.01
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	02	01	00	00	00	01	02	06	1.21
<i>Acinetobacter calcovar</i>	00	01	02	00	00	00	01	04	0.81
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	00	01	01	00	00	00	00	02	0.40
<i>Citrobacter freundii</i>	01	01	01	00	00	00	01	04	0.81
<i>Morganella morganii</i>	00	00	00	01	00	00	00	01	0.20
<i>Enterobacter cloacae</i>	01	01	00	00	00	00	00	02	0.40
<i>Klebsiella oxytoca</i>	01	00	00	01	00	00	01	03	0.61
<i>Enterobacter aerogenes</i>	01	01	00	00	00	00	00	02	0.40
<i>Serratia fonticola</i>	01	00	00	00	00	00	00	01	0.20
<i>Serratia odorifera</i>	00	00	01	00	00	00	00	01	0.20
<i>Citrobacter youryae</i>	00	01	00	00	00	00	00	01	0.20
<i>Streptococcus</i> non pneumoniae	01	00	00	00	03	00	00	04	0.81
<i>Pseudomonas</i> spp	01	00	00	00	00	00	00	01	0,20
<i>Aeromonas hydrophila</i>	00	01	00	00	00	00	00	01	0,20
Contaminants									
<i>Staphylococcus</i> non aureus (SNA)	02	07	03	08	02	07	03	32	6.46
Bacilles Gram Positif (BGP)	02	01	00	00	00	00	00	03	0.61
Levures	00	00	00	00	00	00	00	00	00

- Seul le résultat de la culture finale a été pris en compte pour les germes
- Les Bacilles Gram Positifs (BGP), les staphylocoques à coagulase négative et les levures sont considérés comme des contaminants

TABLEAU XII: Total des prélèvements effectués au CHU Gabriel Touré chez les enfants de moins de 18 ans de 2002 à 2008

ANNEES	PRELEVEMENTS					
	Hémocultures		LCR		Autres liquides	
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
2002	1978	9.06	788	10.67	59	11.92
2003	1672	7.65	981	13.29	88	17.77
2004	1843	8.44	1038	14.06	60	12.12
2005	4097	18.76	1408	19.07	78	15.76
2006	4375	20.03	1252	16.96	74	14.95
2007	2913	13.34	649	8.79	57	11.52
2008	4962	22.72	1266	17.15	79	15.96
Total	21840	100%	7382	100%	495	100%

Il a été effectué 21840 hémocultures, 7382 LCR et 495 autres liquides

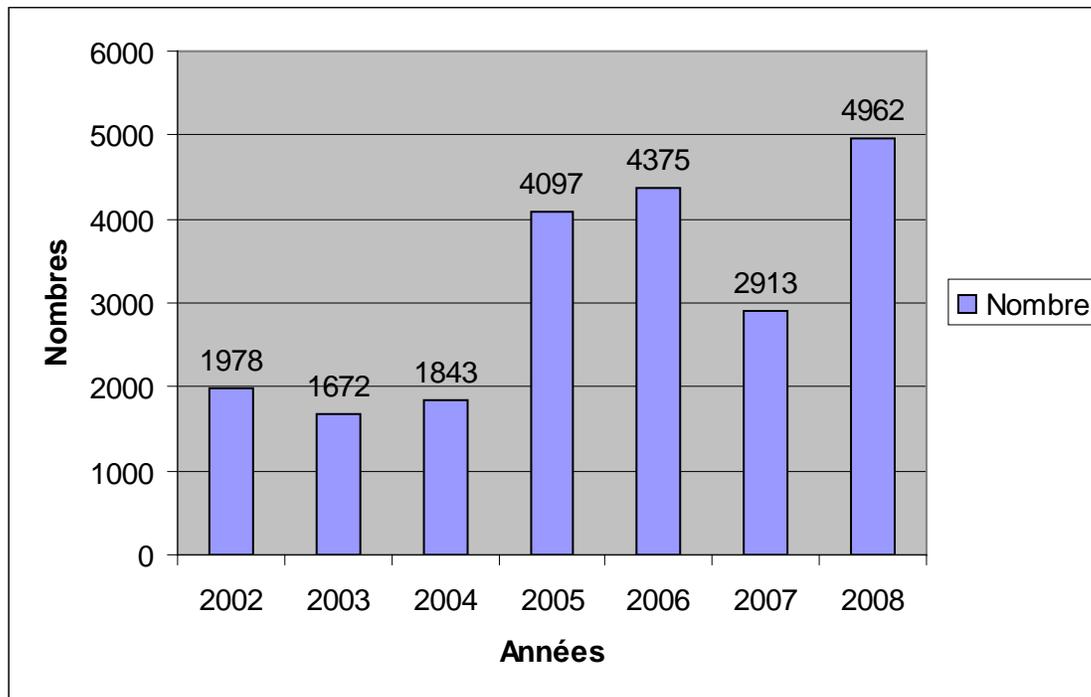


Figure 6 : Représentation graphique des prélèvements d'hémocultures par année.

En 2008 il a été effectué plus de prélèvements soit 4962

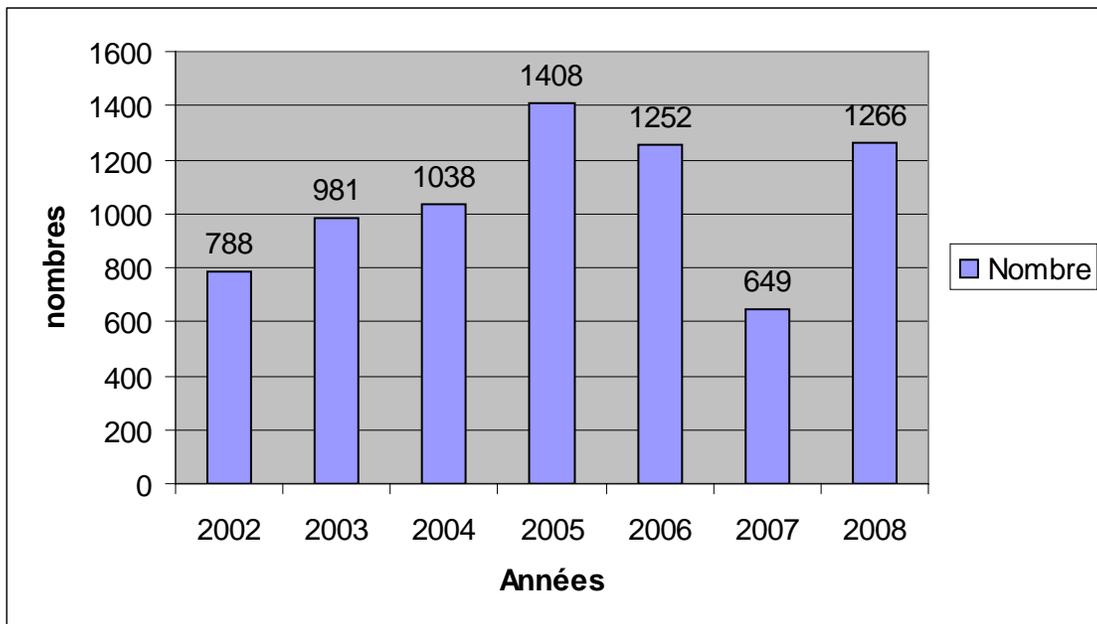


Figure 7 : Représentation graphique des prélèvements de LCR par année

On a reçu plus de prélèvements en 2005

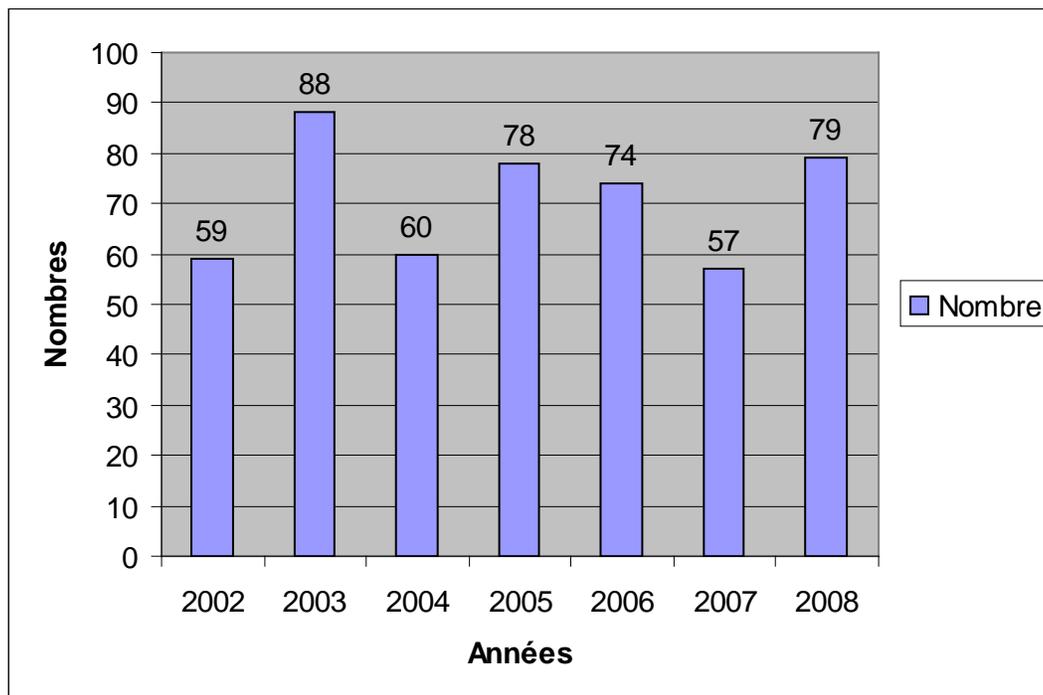


Figure 8 : Représentation graphique des prélèvements des autres liquides par année

On a reçu plus de prélèvement en 2003

Tableau XIII : Résultat des Hémocultures effectuées au CHU Gabriel TOURE chez les enfants de moins de 17 ans de 2002 à 2008

Types de prélèvements et cultures	Résultats cultures	Nombre	Pourcentage
Hémocultures	Cultures avec germes	2879	13.18
	BACTEC® positif		
	Cultures avec contaminants	1255	5.75
	Cultures négatives	50	0.23
Total		4184	19.16
	BACTEC® négatif		
	Cultures négatives	17656	80.84
Total		21840	100

Les cultures avec germes représentent 13.18%

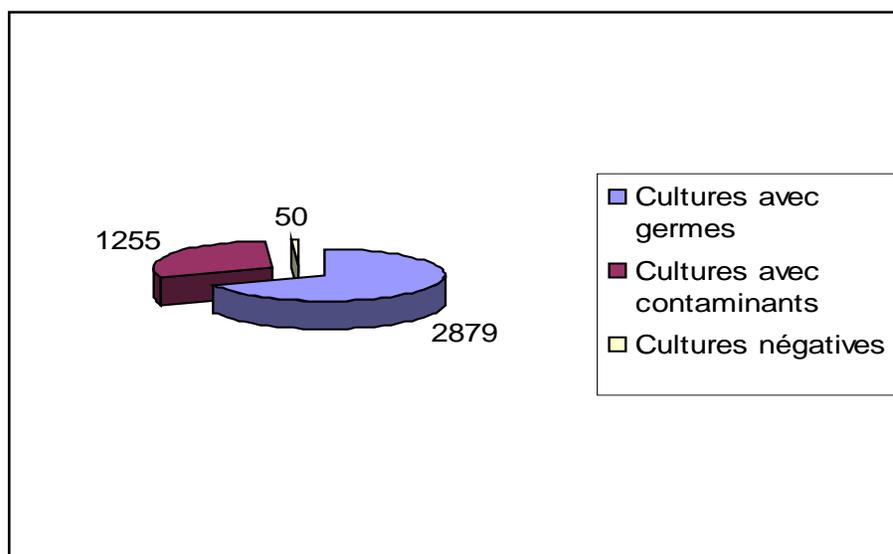


Figure 9 : Représentation graphique du résultat de la culture du BACTEC® positif

Tableau XIV: Résultats des LCR effectués au CHU Gabriel TOURE chez les enfants de moins de 17 ans de 2002 à 2008

Types de prélèvements et cultures		Résultats par		
		isolement		
			Nombre	Pourcentage
LCR en culture sur gélose	Cultures positives	Cultures avec germes	1243	16.84
		Cultures avec contaminants	854	11.57
	Total		2097	28.41
	Cultures négatives	négative	5285	71.59
Total			7382	100

Le nombre de cultures avec germes est de 1243 soit 16.84 %.

Tableau XV: Résultats des autres liquides effectués au CHU Gabriel TOURE chez les enfants de moins de 17 ans de 2002 à 2008

Types de prélèvements et cultures		Résultats par isolement	Nombre	Pourcentage
Autres liquides	Cultures positives	Cultures avec germes	229	46.26
		Cultures avec contaminants	35	7.07
	Total		264	53.33
	Cultures négatives	négative	231	46.67
Total			495	100

Le nombre de cultures avec germes est de 229 soit 46.26 %

Tableau XVI: Récapitulatif des bactéries du genre *Pseudomonas* isolées au laboratoire de 2002 à 2008

Pseudomonas identifiés	Années							Total
	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	01	07	04	02	04	01	07	26
<i>Pseudomonas putida</i>	00	00	00	00	01	00	00	01
<i>Pseudomonas spp</i>	04	00	00	00	00	01	01	06
<i>Pseudomonas cepacia</i>	03	01	00	00	00	00	00	04
<i>Pseudomonas pseudomallei</i>	01	00	00	00	00	00	00	01
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	00	00	00	00	00	01	00	01

4.3.2. Profil antibiotique des espèces de *Pseudomonas* isolées

Tableau XVII: Sensibilité des espèces de *Pseudomonas* testées à l'Ampicilline

ATB Espèces	Ampicilline						
	Effectif	S	%	I	%	R	%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	26	0	0	0	0	26	100
<i>Pseudomonas putida</i>	1	0	0	0	0	1	100
<i>Pseudomonas spp</i>	6	0	0	0	0	6	100
<i>Pseudomonas cepacia</i>	4	0	0	0	0	4	100
<i>Pseudomonas pseudomallei</i>	1	0	0	0	0	1	100
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1	1	100	0	0	0	100

Seul *Pseudomonas fluorescens* est sensible à l'Ampicilline

Tableau XVIII: Sensibilité des espèces de *Pseudomonas* testées au Chloramphenicol

ATB	Chloramphénicol						
	Effectif	S	%	I	%	R	%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	26	5	19.23	1	3.85	20	76.92
<i>Pseudomonas putida</i>	1	0	0	0	0	1	100
<i>Pseudomonas spp</i>	6	2	33.33	0	0	4	66.67
<i>Pseudomonas cepacia</i>	4	2	50	2	50	0	0
<i>Pseudomonas pseudomallei</i>	1	1	100	0	0	0	0
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1	1	100	0	0	0	0

La majorité des différentes espèces de *Pseudomonas* reste résistant au Chloramphenicol

Tableau XIX: Sensibilité des espèces de *Pseudomonas* testées au Céftriaxone

ATB Espèces	Céftriaxone						
	Effectif	S	%	I	%	R	%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	26	12	46.15	6	23.08	8	30.77
<i>Pseudomonas putida</i>	1	0	0	0	0	1	100
<i>Pseudomonas spp</i>	6	2	33.33	2	33.33	2	33.33
<i>Pseudomonas cepacia</i>	4	1	25	1	25	2	50
<i>Pseudomonas pseudomallei</i>	1	1	100	0	0	0	0
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1	1	100	0	0	0	0

La majorité des différentes espèces de *Pseudomonas* reste sensible à la Céftriaxone

Tableau XX: Sensibilité des espèces de *Pseudomonas* testées au Cotrimoxazole

ATB Espèces	Cotrimoxazole						
	Effectif	S	%	I	%	R	%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	26	1	3.85	2	7.69	23	88.46
<i>Pseudomonas putida</i>	1	0	0	0	0	1	100
<i>Pseudomonas</i> spp	6	1	16.67	0	0	5	83.33
<i>Pseudomonas cepacia</i>	4	3	75	0	0	1	25
<i>Pseudomonas pseudomallei</i>	1	0	0	0	0	1	100
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1	1	100	0	0	0	0

Seuls *Pseudomonas cepacia* et *Pseudomonas fluorescens* restent sensibles au Cotrimoxazole

Tableau XXI: Sensibilité des espèces de *Pseudomonas* testées à la Gentamicine

ATB Espèces	Gentamicine						
	Effectif	S	%	I	%	R	%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	26	12	46.15	5	19.23	9	34.62
<i>Pseudomonas putida</i>	1	0	0	0	0	1	100
<i>Pseudomonas spp</i>	6	4	66.67	0	0	2	33.33
<i>Pseudomonas cepacia</i>	4	1	25	0	0	3	75
<i>Pseudomonas pseudomallei</i>	1	0	0	0	0	1	100
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1	0	0	1	100	0	0

La majorité des différentes espèces de *Pseudomonas* reste sensible à la Gentamicine.

Tableau XXII: Sensibilité des espèces de *Pseudomonas* testées à la Ciprofloxacine

ATB Espèces	Ciprofloxacine						
	Effectif	S	%	I	%	R	%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	26	23	88.46	3.85	0	2	7.69
<i>Pseudomonas putida</i>	1	1	100	0	0	0	0
<i>Pseudomonas spp</i>	6	6	100	0	0	0	0
<i>Pseudomonas cepacia</i>	4	3	75	1	25	0	0
<i>Pseudomonas pseudomallei</i>	1	0	0	1	100	0	0
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1	1	100	0	0	0	0

La majorité des différentes espèces de *Pseudomonas* reste sensible à la Ciprofloxacine

5. Commentaires et Discussions

Notre travail est effectué dans le cadre du diagnostic bactériologique des suspicions d'infections bactériennes invasives (SIBI) initié par le CVD Mali. L'étude source est une étude rétro- prospective sur six ans et prospective sur un an basée sur la surveillance de laboratoire des cas de maladies bactériennes invasives dues aux pathogènes responsables de septicémies et / ou de méningites bactériennes chez les patients hospitalisés dans les services de pédiatrie du CHU Gabriel TOURE ou reçus en consultation ambulatoire.

Les critères d'inclusion des enfants admis de février 2002 à décembre 2008 ont porté sur l'âge ≤ 17 ans, la maladie fébrile (température $> 39^{\circ}$ C), être hospitalisé dans le service de pédiatrie du CHU Gabriel TOURE, avoir une suspicion d'infection bactérienne invasive (SIBI), avoir le consentement éclairé des parents pour les enfants âgés de moins de 13 ans, le consentement des enfants de 13 à 16 ans est obligatoire. Les enfants âgés de 13 à 16 ans ne pouvant pas donner leur assentiment à cause de l'état de gravité de leur maladie sont aussi inclus. Les prélèvements d'hémocultures sont effectués dans le service de pédiatrie et les flacons de BACTEC® 9050 y sont immédiatementensemencés. [19]

5.1. Du point de vue de la méthodologie.

Une hémoculture est réalisée chez chacun des patients inclus. Les prélèvementsensemencés sur le bouillon BACTEC® adapté au développement des germes responsables de septicémies et/ ou d'infections bactériennes invasives sont alors reçus au laboratoire. Ils sont identifiés, enregistrés dans les registres de travail. Les flacons du bouillon BACTEC® sont ensuite introduits dans l'appareil BACTEC® pour garantir son efficacité.

Les cultures positives dues au métabolisme des microorganismes sont détectées automatiquement grâce à un signal de l'appareil BACTEC®.

La surveillance de l'hémoculture et la détection des cas positifs sont programmées volontairement pour une durée de 5 jours, alors que les hémocultures classiques peuvent aller de 7 à 10 jours.

Les flacons positifs sont examinés alors conformément à la bactériologie de routine. La coloration de Gram, technique très importante, est accomplie avec le plus grand soin. [13]

Chez OUOLOGUEM Y en 2008, les hémocultures ont été réalisées sur bouillon Hémoline performance Duo pour la plupart ou sur bouillon cœur cerveau [20].

L'intervention de l'utilisateur et les manipulations des bouteilles qui consistent à faire la coloration de Gram en fonction de la turbidité observée sur les hémocultures dans la méthode classique, sont minimisées dans la méthode du BACTEC®. En effet cette dernière est basée sur l'incubation, l'agitation de toutes les cultures et un signal immédiat des positifs (par un affichage sur l'écran à cristaux liquides une alarme sonore) concoure à diminuer le risque d'erreur humaine.

Un examen préliminaire est fait sur le Liquide Céphalo- Rachidien (LCR), les hémocultures et les autres liquides biologiques dont le résultat est porté immédiatement à la connaissance des prescripteurs de la pédiatrie.

Dans le traitement du LCR, des techniques complémentaires comme les tests d'agglutinations latex, la cytologie (notamment le comptage des globules blancs et des globules rouges) sont faits dans le cadre des examens préliminaires.

Les résultats préliminaires et définitifs sont saisis dans le logiciel GDH, en plus de la saisie dans le registre de travail. Ce logiciel met en réseaux les services de consultation de la pédiatrie, le bureau CVD de la pédiatrie et le laboratoire. Il existe un transfert informatique des données via internet entre le serveur de l'hôpital, le serveur au siège du CVD au CNAM et le serveur du CVD à l'université de Baltimore (Maryland- USA).

5.2. Du point de vue des résultats globaux

Au terme de notre étude de 2002 à 2008 nous avons étudié 21840 prélèvements d'hémocultures soit une moyenne annuelle de 3120. SAMAKE M, de 2002 à 2003 a travaillé sur 2198 prélèvements d'hémocultures soit une moyenne de 1099. [21] Dans la même période 2002- 2008, 7382 examens cyto bactériologiques du LCR ont été effectués soit une moyenne annuelle de 1055 contre 945 prélèvements retrouvés chez SAMAKE T en 2 ans (2002 à 2003) soit une moyenne de 473. [22] Il a été effectué dans la même période 2002- 2008, 495 prélèvements provenant d'autres sites (articulaire, péritonéal, musculaire, sous- cutané, pleural...) soit une moyenne annuelle de 71 prélèvements.

De l'ensemble de ces prélèvements il a été isolé 39 souches de *Pseudomonas*. *Pseudomonas aeruginosa* est l'espèce la plus fréquemment isolée et représente 66.67% des *Pseudomonas* isolés. Ce résultat est inférieur à ceux rapportés par MAGUIERAGA G 70.6% et CISSE M 72.4% [23, 24].

En terme de fréquence d'isolement, les 39 souches de *Pseudomonas* représentent 0.60% de l'ensemble des résultats positifs pendant notre période d'étude, ce résultat est significativement inférieur à ceux rapportés par CHIPPAUX et al, N'KURIKIYINFURA et al au Zaïre, qui ont trouvé respectivement 3.6% et 2.3% [24, 25].

5.3. Du point de vue la sensibilité aux antibiotiques

La sensibilité aux antibiotiques a été évaluée par la méthode de l'antibiogramme standard ou méthode de diffusion des disques d'antibiotiques. Seuls les antibiotiques proposés dans le protocole ont été testés à savoir Ampicilline, Céftriaxone, Ciprofloxacine, Gentamicine, Chloramphénicol et Cotrimoxazole.

- Ciprofloxacine

Les souches restent sensibles à la Ciprofloxacine à 88.46% pour *Pseudomonas aeruginosa*, 75% *Pseudomonas cepacia* et 100% pour les autres souches

MAGUIERAGA G en 2002 a obtenu 79,2% pour *Pseudomonas aeruginosa*, 40% pour *Pseudomonas cepacia*, 71,1% pour *Pseudomonas putida*, 83,3% pour *Pseudomonas fluorescens* [23].

VERON M a rapporté que la Ciprofloxacine est active sur *Pseudomonas aeruginos*. [5].

SECONDS C et coll. ont réalisé que la Ciprofloxacine reste l'antibiotique le plus actif sur *Burkholderia cepacia* ce qui confirme nos résultats [27].

- Ceftriaxone

Nos souches étaient peu sensibles à la ceftriaxone à 46,15% des *Pseudomonas aeruginosa*, 33,33% des *Pseudomonas spp*, 100% des *Pseudomonas pseudomallei* et *Pseudomonas fluorescens*.

- Gentamicine

Nos souches de *Pseudomonas aeruginosa* étaient sensibles à 46,15 %, 19,23 % étaient intermédiaires, Podie MAGNE en 1999 à Cotonou a rapporté 71% [28].

Par contre CAMARA M (1999), MAGUIRAGA G (2000), KOUMARE et al (1991) à Bamako ont obtenu respectivement 54,2%, 54,5% et 65% de résistance des *Pseudomonas aeruginosa* à la Gentamicine [30, 23,29].

SOUDE a rapporté que 60% des souches de *Pseudomonas aeruginosa* étaient résistants à la Gentamicine [31].

Les *Pseudomonas putida* et *Pseudomonas pseudomallei* étaient résistants à 100%, Les souches de *Pseudomonas cepacia* étaient résistantes à 75%, chez MAGUIRAGA M 100% des *Burkholderia cepacia* étaient résistants à la Gentamicine [23].

- Ampicilline

La totalité de nos souches est résistante à l'ampicilline, à l'exception de la souche de *Pseudomonas fluorescens* qui était sensible, MAGUIRAGA M a fait le même constat en 2000 [23].

- Cotrimoxazole

Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* étaient résistantes au Cotrimoxazole, soit un pourcentage de 88,46%, ce résultat est inférieur à 100% rapporté par MAGUIRAGA [23].

Les souches restent résistantes au Cotrimoxazole, 100% pour *Pseudomonas pseudomallei* et *Pseudomonas putida*, 83,33 % pour *Pseudomonas spp*

Seulement 25% de nos souches de *Pseudomonas cepacia* étaient résistantes au Cotrimoxazole par contre l'ensemble des *Pseudomonas cepacia* isolés par MAGUIRAGA, était résistant au Cotrimoxazole [23].

- Chloramphénicol

De l'ensemble des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées, 76,92% étaient résistantes au Chloramphénicol, SOUDE confirme que le Chloramphénicol est inactif sur ses souches isolées [31].

5.4. Du point de vue socio- démographique

Pendant la période d'étude, sur les 39 cas d'infections à *Pseudomonas*, le sexe ratio est en faveur du sexe féminin soit 1,4.

La majorité des patients infectés soit 76,92% sont dans la tranche d'âge des nourrissons (de 1 à 36 mois).

La majorité des patients réside dans la commune I, soit 28,21%

5.5. Devenir des patients

Le devenir des cas d'infection à *Pseudomonas* est variable selon les patients et cela malgré l'antibiothérapie. Nous avons noté 48.73% de décès, 46.15% d'amélioration et 2.56% de non amélioration, un patient a disparu soit 2.56%

6. Conclusion et Recommandations

6.1 Conclusion

Au terme de cette étude, nous avons pu évaluer la fréquence d'isolement des principaux germes impliqués dans les suspicions d'infection bactérienne invasive chez les enfants hospitalisés dans le service de pédiatrie de l'hôpital Gabriel TOURE.

La méthodologie moderne des hémocultures avec le Bactec 9050 a permis une approche bactériologique aisée. Sur une période de sept ans, 21840 hémocultures effectuées ont permis l'identification de 21 souches de *Pseudomonas aeruginosa* soit 0,10%.

Les examens cyto bactériologiques du LCR et les autres prélèvements biologiques pour étayer le diagnostic donnent peu 0,04% et 0,40%.

Le *Pseudomonas aeruginosa* reste sensible à la Ciprofloxacine, Ceftriaxone et à la Gentamicine.

La résistance est de plus marquée à l'Ampicilline et dans une certaine mesure au Chloramphénicol et au Cotrimoxazole.

L'ensemble de ces examens a permis d'évaluer la fréquence d'isolement des *Pseudomonas* dans l'étiologie de ces bactériémies invasives chez les enfants, de définir le profil antibiotique des souches isolées.

Nos résultats aident au diagnostic, au choix de l'antibiothérapie et au suivi approprié de l'évolution clinique.

6.2. Recommandations

Au terme de notre étude, nous formulons les recommandations suivantes :

A l'endroit des bactériologistes

- Faire un bon antibiogramme pour permettre au prescripteur de faire un bon choix d'antibiotique

A l'endroit du personnel de santé

- Respecter les règles de prescriptions des antibiotiques ;
- Eviter l'antibiothérapie systématique avant la réalisation de l'hémoculture ;
- Mesurer l'asepsie dans l'usage des objets extra- corporels.

A l'endroit des populations

- Eviter l'automédication ;
- Respecter la prise des antibiotiques.

A l'endroit des autorités

- Rendre fonctionnelle la législation en matière de dispensation des médicaments ;
- Etre plus efficaces dans la lutte contre les médicaments en ambulatoire.

7. Références

- 1- **CISSE HA**, 2006. Evaluation du rôle de *Staphylococcus aureus* dans les infections bactériennes invasives à partir des liquides biologiques examinés au laboratoire de l'hôpital Gabriel TOURE. Thèse Pharm. N° 06-P-84 Bamako (Mali).
- 2- **GUIBERT J**, 1982. Infections à bacille pyocyanique In LAFFONT A, ALBEAUX-PERNET M, AZERAD E, BERNARD H et al. Encycl. Méd. Chir. Maladies Infectieuses. 8025 B⁵⁰ : 11
- 3- **FLANDROIS JP**, 1997. Bactériologie médicale. Collection Azay. Édition Presses Universitaires de Lyon : 207-209
- 4- **ARNOW PM, FLAHERTY JP**, 1996. Nonfermentative Gram negative bacilli. In MAYHALL CG "Hospital epidemiology and infection control" Baltimore, WILLIAM AND WILLKINS: 366-387
- 5- **VERON M**. *Pseudomonadaceae*. In LE MINOR L, VERON M, 1989. Bactériologie médicale. Médecine-sciences Flammarion, 2e édition : 555- 587
- 6- **AVRIL JL, DABERNAT H, DENIS F, MONTEIL H**, 2000. Bactériologie clinique. 3^e édition. Ellipses Edition Marketing S.A : 294-320
- 7- **SPICER JW**, 2002. Pratique clinique en bactériologie, mycologie et parasitologie. Médecine-Sciences Flammarion: 46
- 8- **FAUCHERE JL, AVRIL JL**, 2002. Bactériologie générale et médicale. Ellipses édition marketing: 259-263
- 9- **FERRON A**, 1989. Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine. Edition Crouan et Roques. 13^e édition: 217-221
- 10- **FERRON A**, 1979. Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine. Edition Crouan et Roques. 10^e édition: 201-205

- 11- **BERCHE P**, 1998. Les staphylocoques. In **BERCHE P, GAILLARD JL, SIMONET M**, eds. Bactériologie: Les bactéries des infections humaines. Paris, Flammarion : 267-277
- 12- **Bio Mérieux BV. Bactériologie** Mars 2003. Réf. 247003
- 13- **BECTON DICKINSON** and Company. BACTEC® 9050 Manuel d'utilisation. MA- 0103. Révision : E Réf 445845. Septembre 2004.
- 14- **BECTON DICKINSON**, 1996. Division DIAGNOSTIC VOTRE PARTENAIRE EN MICROBIOLOGIE : 1-4
- 15- Procédures et techniques de laboratoire d'analyses (protocoles approuvés Avril 2004) CVD-Mali
- 16- **BIO-RAD PASTOREX™ MENINGITIS** ; Detection of soluble antigens and identification of *Neisseria meningitidis* A, C, Y/W135, B/E. *coli* K1, *Haemophilus influenzae* type b, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus* B ; Juin 2006
- 17- **LE MINOR L, RICHARD C**, 1993. Institut Pasteur Méthode de laboratoire pour l'identification des Entérobactéries : 217p
- 18- **LECLERC H**, 1983. Microbiologie générale. 2^e édition : 199-202
- 19- **CVD-MALI** Surveillance 1000, Infection bactérienne invasive chez les enfants recevant les soins en externe dans le département des urgences du centre pédiatrique de référence à Bamako (Mali). Février 2002.
- 20- **OUOLOGUEM Y**. 2008. Bilan de deux années d'hémoculture au laboratoire de biologie médicale du point – G. Thèse Pharm, N° 08-P-93, Bamako (MALI).
21. **SAMAKE M**, 2003, Pratique de l'hémoculture au laboratoire d'analyses médicales de l'Hôpital Gabriel TOURE, Aspects méthodologiques. Thèse Pharm, N° 04-P-7, Bamako (MALI).
22. **SAMAKE T**, 2003. Pratique de l'examen cyto bactériologique du liquide céphalorachidien au laboratoire d'analyses médicales de l'Hôpital Gabriel TOURE, Aspects méthodologiques. Thèse Pharm, N°04-P-6, Bamako (MALI) .

- 23- MAGUIRAGA G**, 2000. *Pseudomonas* et genres apparentés isolés à l'Institut National de Recherche en Santé Publique ; sensibilité aux antibiotiques. Thèse Pharm. N°00-P-19, Bamako (MALI)
- 24- CISSE MM**, 1991. Profil de la sensibilité des bacilles à Gram négatif aux antibiotiques en milieu hospitalier Bamakois : à propos de 964 souches. Thèse Pharm N° 91-P-7, Bamako (MALI)
- 25- CHIPPAUX, HYPPOLYTE C, COUPRIE F, DEVAUX R** et al, 1975. Les septicémies à *Klebsiella pneumoniae* (à propos de 656 enfants ayant présenté une ou plusieurs hémocultures positives) Med Afr. Noire 22.529-536
- 26- N'KURIKIYINFURA JB, MUYEMBE TL, VANDEPITTE J, ODIO W**, 1985. Evaluation des hémocultures aux cliniques universitaires de Kinshasa (RDC). Med Afr Noire 32.75-85
- 27- SECONDS C, MARTY N, DOURNES JL, GHABANON G**, 1998. *Burkholderia cepacia* dans tous ces états, Med Mal Infect. 28 (spécial) 72-78
- 28- Podie MAGNE NK**, 1999. Evaluation de la sensibilité aux antibiotiques des germes les plus fréquemment isolés au laboratoire de bactériologie du CNHU de Cotonou (à propos de 896 souches bactériennes du 1 Mars au 30 Juin 1999). Thèse Med, N° 853, Cotonou (BENIN)
- 29- KOUMARE B, BOUGOUDOGO F**, 1993. Résistances aux antibiotiques de 2187 souches bactériennes isolées au Mali. Publications Médicales Afr. 26 (125) : 26-29
- 30- CAMARA M**, 1999. Sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* à 14 antibiotiques à Bamako. Thèse Pharm., N° 99-P-13. Bamako (MALI)
- 31- SOUDE S.G.A**, 2005. Bactéries isolées des hémocultures au centre national hospitalier et universitaire Hubert Koutoukou Maga de Cotonou. Thèse Pharm. N° 05-P-84 Cotonou (BENIN)

FICHE SIGNALETIQUE

Nom : DIARRA

Tel : 0022376373476

Prénom : Faity

e- mail : diarrafaity@yahoo.fr

Titre de la thèse : Fréquence d'isolement des *Pseudomonas* au laboratoire de bactériologie CVD du CHU Gabriel TOURE de 2002 à 2008.

Année Universitaire : 2009- 2010

Ville de soutenance : Bamako

Pays d'origine : Mali

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la Faculté de Médecine, Pharmacie et d'Odontostomatologie (Université de Bamako).

Secteurs d'intérêt : Bactériologie, Infectiologie, pédiatrie, Santé publique.

Résumé

Il s'agit d'une étude rétro- prospective sur six ans et d'une étude prospective sur un an, basée sur la surveillance de laboratoire des cas de maladies bactériennes invasives chez les malades hospitalisés ou vus en consultation externes (non hospitalisés) dans le service de pédiatrie.

Elle vise à déterminer la fréquence d'isolement des *Pseudomonas* dans les infections bactériennes invasives à partir des liquides biologiques.

Au terme de notre étude de 2002 à 2008 nous avons obtenu des résultats suivants:

- Nombre total de prélèvements effectués (hémocultures, LCR, autres liquides biologiques) : 29717

- Nombre total d'hémocultures : 21840 soit 73,49% des prélèvements.
- Nombre de flacons BACTEC® positifs : 4184 soit 19,16%
- Nombre total de culture de LCR : 7382 soit 24,84% des prélèvements
- Nombre de culture de LCR positive : 2097 soit 28,41%
- Nombre total de culture des prélèvements provenant d'autres sites : 495 soit 1,67% des prélèvements
- Nombre de cultures positives : 264 soit 53,33%
- Fréquence d'isolement des *Pseudomonas* : 0,13% de l'ensemble des prélèvements (29717), 0,60% du nombre de prélèvements positifs
- Nombre de souches de *Pseudomonas* isolé : 39

Pseudomonas aeruginosa représente 66,67% des *Pseudomonas* isolés.

Nos souches restaient résistantes à l'Ampicilline, au Chloramphénicol et au Cotrimoxazole. Elles étaient sensibles à la Ciprofloxacine, Ceftriaxone et à la Gentamicine.

Mots clés : bacilles pyocyaniques, hémoculture, LCR, *Pseudomonas*.

IDENTIFICATION FORM

First name: DIARRA

Tel: 0022376373476

Last name: Faity-

e- mail: diarrafaity@yahoo.fr

Title: *Pseudomonas* isolation frequency in the bacteriological laboratory of CVD at CHU Gabriel TOURE from 2002 to 2008.

Year: 2009- 2010

City of defending: Bamako

Home country: Mali

Deposit zone: Library of the Faculty of Medicine, Pharmacy and d'Odonto-Stomatology (University of Bamako).

Sector of interest: Bacteriology, Infectiology, Paediatric, Public health.

Summary

It is a retro prospective study on six years and prospective on one, based on the laboratory surveillance of invasive bacterial disease in hospitalized patients or outpatients in the paediatric service.

The target was to determine pseudomonas isolation frequency in invasive bacterial infections from biological fluids.

At the end of the study from 2002 to 2008 we have got the following results:

- Total number of samples (Blood culture, CSF, others biological fluids):
29717
- Total number of blood culture: 21840 about 73,49% of all samples.

- Number of positive BACTEC® vials: 4184 about 19,16%.
- Total number CSF culture: 7382 about 24,84% of all samples.
- Number of positive CSF culture: 2097 or 28,41%.
- Total number of sample culture from others sites: 495 about 1,67% of all samples.
- Number of positive cultures: 264 or 53,33%.
- *Pseudomonas* isolation frequency: 0,13% of all samples (29717); 0,60% of positive samples.
- Number of *Pseudomonas* strains isolated : 39

Pseudomonas aeruginosa represente 66,67% of isolated *Pseudomonas*.

Our trains were resistant to Ampicillin, to Chloramphenicol and cotrimoxazole. They were sensitive to ciprofloxacin, ceftriaxone and gentamicin.

Key words: Pyocyanic bacilla, blood culture, CSF, *Pseudomonas*.

SERMENT DE GALIEN



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 reconnaissance 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 mes connaissances 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 couverte d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Je le jure!