#### République du Mali

Un peuple-Un but-Une foi

#### Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako



#### Faculté de Pharmacie

Année universitaire 2013-2014

Thèse N°....

# MISE EN PLACE DE LA SURVEILLANCE DES RESISTANCES AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES RESPONSABLES D'INFECTIONS SEXUELLEMENT TRANSMISSIBLES DANS LE LABORATOIRE RODOLPHE MERIEUX DE BAMAKO

Thèse présentée à la faculté de Pharmacie

pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie (Diplôme d'Etat)

#### par

#### Mlle Elisabeth SOGODOGO

soutenue publiquement le 30 / 06 / 2014

#### Jury

**Président :** M. Flabou BOUGOUDOGO Professeur

Membre: M. Seydou DIARRA Docteur

Membre: M. Niani MOUNKORO Professeur

**Directeur:** M. Souleymane DIALLO II Professeur

#### Liste des enseignants de la faculté de Pharmacie

#### FACULTE DE PHARMACIE

#### **ANNEE UNIVERSITAIRE 2013-2014**

#### **ADMINISTRATION**

DOYEN: M. BOUBACAR TRAORE - MAITRE DE CONFERENCES

VICE-DOYEN: M. ABABACAR I .MAIGA MAITRE DE CONFERENCES

SECRETAIRE PRINCIPAL: M. SEYDOU COULIBALY ADMINISTRATEUR CIVIL

AGENT COMPTABLE: M. FAMALE DIONSAN -CONTROLEUR DES FINANCES

#### LES PROFESSEURS HONORAIRES

M. Mamadou KOUMARE Pharmacognosie

M. Boulkassoum HAIDARA Législation

M. Boubacar Sidiki CISSE Toxicologie

M. Daouda DIALLO Chimie générale & minérale

M. Massa SANOGO Chimie Analytique

M. Moussa HARAMA Chimie organique

M. Abdourahamane S. MAIGA Parasitologie

M. Bréhima KOUMARE Bactériologie-virologie

#### DER DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET MEDICALES

#### 1. Professeur/Directeur de recherche

M. Bakary M. CISSE Biochimie

M. Abdoulaye DABO Biologie/parasitologie Chef de DER

M. Alassane DICKO Santé publique

#### 2. Maître de conférences

M. Flabou BOUGOUDOGO Bactériologie-Virologie

M. Boubacar TRAORE Parasitologie-Mycologie

M. Mounirou BABY Hématologie

M. Bourèma KOURIBA Immunologie

M. Mahamadou DIAKITE Immunologie

M. Souleymane DIALLO Bactériologie-Virologie

M. ousmane KOITA Parasitologie-Moléculaire

M. Abdoulaye DJIMDE Microbiologie-Immunologie

M. Abdoulaye TOURE Entomologie Moléculaire-Médicale

M. Akory AG IKNANE Santé publique/Nutrition

3. Maître assistant

Mme Fanta SANGHO Santé Communautaire

M. Aldjouma GUINDO Hématologie

4. Assistant/Attaché de recherche

M. Seidina Aboubacar Samba DIAKITE Immunologie

M. Charles ARAMA Immunologie

M. Modibo DAOU Immunologie

M. Issa DIARRA Immunologie

M. Klétigui Casmir DEMBELE Biochimie clinique

M. Yaya GOITA Biochimie clinique

M. Samba Adama SANGARE Bactériologie-Virologie

M. Modibo DIARRA Nutrition

DER DES SCIENCES DU MEDICAMENT

1. Professeur/Directeur de recherche

M. Ousmane DOUMBIA Pharmacie chimique

M. Elimane MARIKO Pharmacologie Chef de DER

2. Maître de conférences

M. Bénoit Yaranga KOUMARE Chimie analytique

M. Ababacar I. MAIGA Toxicologie

#### 3. Maître assistant/Chargé de recherche

M. Sékou BAH Pharmacologie

#### 4. Assistant/Attaché de recherche

M. Mody CISSE Chimie thérapeutique

M. Ousmane DEMBELE Chimie thérapeutique

M. Mahamadou TANDIA Chimie analytique

M. Madani MARIKO Chimie analytique

M. Tidiane DIALLO Toxicologie

M. Blaise DACKOUO Chimie analytique

#### DER DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

#### 1. Professeur/Directeur de recherche

M. Drissa DIALLO Pharmacognosie

#### 2. Maître de conférences

M. Saibou MAIGA Législation Chef de DER

Mme Rokia SANOGO Pharmacognosie

M. Alou Amadou KEITA Galénique

#### 3. Maître assistant

M. Yaya COULIBALY Législation

M. Loséni BENGALY Pharmacie Hospitalière

#### 4. Assistant/Attaché de recherche

M. Bacary Moussa CISSE Galénique

M. Bourama TRAORE Législation

M. Hamma Boubacar MAIGA Galénique

M. Hammadou Abba TOURE Bromatologie

M. Adama DENOU Pharmacognosie

M. Mahamane HAIDARA Pharmacognosie

M. Issa COULIBALY Gestion

M. Souleymane DAMA Sciences Pharmaceutiques

M. Antoine DARA Sciences Pharmaceutique

M. Balla Fatogoma COULIBALY Pharmacie Hospitalière

M. Karim TRAORE Sciences pharmaceutique

#### DER DES SCIENCES FONDAMENTALES

#### 1. Professeur/Directeur de recherche

M. Mahamadou TRAORE Génétique

M. Mamadou KONE Physiologie

M. Sékou Fantamady TRAORE Biologie-Génétique-Zoologie

#### 2. Maître de conférences

M. Mouctar DIALLO Biologie/Parasitologie

M. Kaourou DOUCOURE Physiologie

M. Lassana DOUMBIA Chimie minérale

M. Mamadou CISSE Biologie Végétale

#### 3. Assistant/Attaché de recherche

M. Moussa KONE Chimie organique

M. Amidou DOUCOURE Chimie organique

M. Seydou Sassou COULIBALY Biochimie

M. Oumar GUINDO Biochimie

M. Mamadou Lamine DIARRA Botanique

#### **CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES**

M. Bouba DIARRA Bactériologie

M. Boubacar KANTE Galénique

M. Yaya KANE Galénique

M. Moussa SACKO Biologie

M. Atimé DJIMDE Bromatologie

M. Boubacar ZIBEIROU Physique

#### **ENSEIGNANTS EN MISSION**

Pr Babacar FAYE Pharmacodynamie

Pr Amadou DIOP Biochimie

Pr Pascal BONNABRY Pharmacie Hospitalière

Pr Gaoussou KANOUTE Chimie analytique (en disponibilité)

#### **DEDICACES**

#### A Papa et Maman

Pour tous vos sacrifices et tant d'efforts en mon endroit. Merci d'avoir été toujours présents à mes côtés et d'avoir cru en moi.

#### A ma grand-mère

Babouchka, tu n'es plus là mais sache que je te dédie particulièrement ce travail qui est le témoignage de tout mon amour pour toi. Repose en paix. Amen!

#### A ma sœur et à mon frère

Toute mon affection et toute ma reconnaissance.

#### REMERCIEMENTS

#### A mes amis

Merci pour votre soutient et pour tous vos précieux conseils.

#### Au Docteur KANTE Awa DANIOKO

Un grand merci pour avoir contribuer à ma formation.

#### A Monsieur Songho FANE

Merci pour votre soutien.

#### Au Docteur Djibril CONTE

Merci pour votre soutien et conseils

#### A l'ensemble du corps professoral de la faculté de médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie de Bamako

Pour nous avoir transmis leur savoir si durement acquis.

#### A tout le personnel du Laboratoire Rodolphe Mérieux

Merci pour votre soutien.

#### Aux Internes, Etudiants, du laboratoire Rodolphe Mérieux,

Merci pour tous les moments passés ensembles et vos conseils si précieux.

A tous mes promotionnaires de la faculté de médecine.

#### HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY

#### A notre Maître et président de jury

#### Professeur agrégé Flabou BOUGOUDOGO

- \* Pharmacien Microbiologiste,
- **❖** Maître de Conférences Agrégé en Bactériologie, Virologie,
- ❖ Responsable de l'enseignement de Bactériologie Virologie à la Faculté de Pharmacie,
- ❖ Ancien Directeur de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP),
- **Chevalier de l'ordre du Mérite de la Santé.**

#### Cher Maître

Vous nous faites un grand honneur en assumant la présidence de notre jury de thèse.

Permettez-nous de vous en remercier en toute sincérité.

#### A notre Maître et Juge

#### **Professeur Niani MOUNKORO**

- ❖ Maitre de conférence à la Faculté de Médecine et d'Odonto Stomatologie
- **Synécologue obstétricien**
- **❖** Chef de service d'obstétrique CHU Gabriel TOURE
- \* Chevalier de l'ordre du mérite de la Santé

#### Cher Maître

A vous, toute notre gratitude pour votre apport indispensable et déterminant dans la réalisation de ce travail et cela en dépit de vos multiples occupations.

Acceptez tous nos remerciements pour votre participation.

#### A notre Maître et Juge

#### **Docteur Seydou DIARRA**

- **Spécialiste en microbiologie**
- **❖** Chef de service bactériologique à l'INRSP
- Maitre chargé de l'enseignement de la bactériologie à l'institut de formation des techniciens de laboratoire

#### Cher Maître

Permettez-nous de vous dire combien nous avons été touchées par votre disponibilité et votre abord facile .Acceptez tous nos remerciements pour votre participation.

#### A notre Maître et Directeur de thèse,

#### **Professeur Souleymane DIALLO II**

- **❖** Pharmacien biologiste,
- **❖** Maitre de Conférences de Bactériologie-Virologie à la Faculté de Pharmacie,
- Colonel Major des services de santé des armées,
- ❖ Directeur Général du Centre d'Infectiologie Charles Mérieux (CICM) de Bamako.

#### Cher Maître

Nous avons eu le privilège d'être votre élève et de retrouver en vous les qualités d'un enseignant méthodique et rigoureux.

Veuillez accepter nos sentiments d'admiration et un profond respect pour l'homme de science que vous êtes.

#### LISTES DES ABREVIATIONS

**ADN** Acide désoxyribonucléique

**ANAES** Agence nationale d'accréditation et d'évaluation en santé

**ARN** Acide ribonucléique

**BMR** Bactérie multi résistante

**BVHRI** Bactéries vaginales à haut risque infectieux

**CASFM** Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie

**CICM** Centre d'infectiologie Charles Mérieux

C3G Céphalosporine de troisième génération

**IST** Infections sexuellement transmissibles

**LRM** Laboratoire Rodolphe Mérieux

**MST** Maladies sexuellement transmissibles

**OMS** Organisation mondiale de la santé

**pH** Potentiel d'hydrogène

**PLP** Protéines de liaison à la pénicilline

PU Prélèvement urétral

**PV** Prélèvement vaginal

**SIDA** Syndrome d'immunodéficience acquis

VIH Virus de l'Immunodéficience Humaine

MSA Mannitol-Salt-Agar

**ANC** Acide Nalidixique + Colimycine ou Colistine

**PVX** Poly-vitex

COS Columbia +5% de sang frais de mouton

VCAT Vancomycine + Colimycine + Amphotéricine + Trimethoprime

**VCN** Vancomycine + Colimycine + Nystatine

MRSA Methicillin-Résistant-Staphylococcus aureus

**PBP** Penicillin Binding protein

#### LISTE DES TABLEAUX

| Tableau I: Microorganismes des voies génitales féminines  |
|---|
| Tableau II : Principaux agents pathogènes sexuellement transmissibles et maladies qu'ils        |
| causent9  |
| Tableau III : Evaluation des flores vaginales à partir de l'examen microscopique                |
| Tableau IV : Traitement des IST   |
| Tableau V : Principaux mécanismes connus de résistance aux antibiotiques                        |
| TableauVI: Les examens bactériologiques des prélèvements vaginaux (PV) et urétraux              |
| (PU) au Laboratoire Rodolphe Mérieux de Bamako  |
| Tableau VII : Fréquence des IST selon les mois au LRM de mars 2013 à février 2014 34            |
| Tableau VIII : Fréquence d'isolement des germes responsables d'IST                              |
| Tableau IX : Profil de résistance aux antibiotiques des souches d'Ureaplasma urealyticum        |
| isolées des prélèvements génitaux des patients reçus au LRM de mars 2013 à février 201438       |
| Tableau X : Profil de résistance aux antibiotiques des souches de Mycoplasma hominis            |
| isolées des prélèvements génitaux des patients reçus au LRM de mars 2013 à février 201439       |
| Tableau XI : Profil de résistance aux antibiotiques des souches de Streptococcus agalactiae     |
| isolées des prélèvements génitaux des patients reçus au LRM de mars 2013 à février 2014 40 $$   |
| Tableau XII : Profil de résistance aux antibiotiques des souches d'Escherichia coli isolées des |
| prélèvements génitaux des patients reçus au LRM de mars 2013 à février 201441                   |

#### LISTE DES FIGURES

| Figure 1 : Fréquence des IST chez les patients pour diagnostic au LRM de mars 2013 à fé  | vrier |
|--|-------|
| 2014   | 33    |
| Figure 2 : Fréquence des IST chez les patients selon la provenance des patients au LRM d | le    |
| mars 2013 à février 2014   | 35    |
| Figure 3 : Fréquence des IST chez les patients selon la résidence au LRM de mars 2013 à  |       |
| février 2014   | 35    |
| Figure 4 : Répartition des IST selon les tranches d'âge des patients au LRM de mars 2013 | à     |
| février 2014   | 36    |
| Figure 5 : Répartition des IST en fonction du sexe chez les patients au LRM de mars 2013 | 3 à   |
| février 2014   | 36    |
| Figure 6 : Organigramme du CICM  | 55    |

#### **SOMMAIRE**

| Dedicaces et Remerciements       | vii  |
|----------------------------------|------|
| Abréviations                     | xiii |
| Liste des tableaux               | xv   |
| Liste des figures                | xvi  |
| 1. Introduction                  | 1    |
| 2. Objectifs                     | 3    |
| 3. Généralités                   | 4    |
| 4. Méthodologie                  | 23   |
| 5. Résultats                     | 32   |
| 6. Commentaires et discussion    | 42   |
| 7. Conclusion et récommandations | 47   |
| 8. Références bibliographiques   | 48   |
| Annexes                          | 55   |

# 1. INTRODUCTION

Les infections sexuellement transmissibles (IST) sont de plus en plus reconnues comme étant un problème majeur de santé publique. Ces infections ont pour conséquences : la stérilité, les grossesses extra-utérines, les douleurs pelviennes chroniques, les fausses couches et le risque accru de transmission du virus de l'immunodéficience humaine (VIH) [1]. Les infections sexuellement transmissibles (IST) sont causées par des virus, des bactéries, des parasites ou des champignons qui sont transmis lors des rapports sexuels avec un(e) partenaire infecté(e). Il y a environ 30 différentes infections sexuellement transmissibles qui ont été identifiées [2].

Les symptômes les plus couramment associés aux IST sont les pertes vaginales, les écoulements urétraux chez l'homme, les ulcérations génitales et les douleurs abdominales. L'IST peut être silencieuse sans présenter pour autant de symptômes apparents.

Les IST posent un problème de santé publique dans le monde particulièrement dans les pays en développement et figurent parmi les cinq premiers motifs de consultation chez les adultes [2]. En 2005, l'Organisation mondiale de la sante (OMS) estimait à près de 350 millions le nombre de nouveaux cas annuels d'infections sexuellement transmissibles (IST) curables survenant dans le monde chez les hommes et les femmes âgés de 15 à 49 ans [2].

Chaque jour, près d'un million de personnes contractent une IST; ce chiffre englobe l'infection à virus de l'immunodéficience humaine (VIH) [3].

Depuis le début de l'infection à VIH/Sida, les IST ont connu un regain d'intérêt, parce que d'une part, elles constituent des cofacteurs de celle-ci et que, d'autre part, leur prise en charge adéquate permet de réduire sa transmission.

Ces dernières années, la résistance aux antibiotiques s'est développée rapidement pour certaines IST (*N. gonorrhoeae* en particulier), limitant ainsi les options thérapeutiques. L'apparition d'une résistance du gonocoque aux céphalosporines qui constituent le traitement de dernière intention, associée à celle déjà démontrée à d'autres antibiotiques comme les pénicillines, les sulfonamides, les tétracyclines, les quinolones et les macrolides, font de *N. gonorrhoeae* une bactérie multi-résistante. Des résistances aux antibiotiques pour d'autres pathogènes responsables d'IST ont été également décrites. Cette situation rend indispensables la prévention et le traitement adéquat des IST [4].

La résistance bactérienne aux antibiotiques est un phénomène préoccupant au niveau mondial. Selon l'OMS les infections causées par des bactéries résistantes peuvent être difficiles et parfois impossibles à guérir, et elles sont en augmentation. Entre-temps, les activités de recherche visant la mise au point d'antibiotiques efficaces sont particulièrement longues et

coûteuses, et la résistance se développe souvent rapidement après la commercialisation de nouveaux médicaments.

Le contrôle de la dissémination des résistances bactériennes nécessite de disposer au niveau de chaque pays des données régulières et fiables sur la fréquence et les caractéristiques de cette résistance [5].

Face à cette situation, il nous a paru nécessaire de mettre en place un système de surveillance de la résistance aux antibiotiques au Laboratoire Rodolphe Mérieux de Bamako.

# 2. OBJECTIFS

#### 2.1. Objectif général

Mettre en place un système de surveillance des résistances aux antibiotiques des bactéries associés aux infections sexuellement transmissibles au Laboratoire Rodolphe Mérieux de Bamako (LRM).

#### 2.2. Objectifs spécifiques

- Mettre à jour des procédures des examens bactériologiques des prélèvements vaginaux (PV) et urétraux (PU) au Laboratoire Rodolphe Mérieux de Bamako ;
- Déterminer la fréquence des infections sexuellement transmissibles chez les patients reçus au LRM.
- Identifier les germes associés aux infections sexuellement transmissibles chez les patients reçus au Laboratoire Rodolphe Mérieux de Bamako;
- Déterminer la fréquence des bactéries résistantes aux antibiotiques chez les patients présentant une IST reçus au LRM.
- Identifier les bactéries multi-résistantes aux antibiotiques isolées des prélèvements génitaux.

# 3. GENERALITES SUR LES INFECTIONS SEXUELLEMENT TRANSMISSIBLES

#### 3.1. Définitions

Les infections sexuellement transmissibles (IST) constituent un groupe de maladies infectieuses dues à des agents microbiens transmises exclusivement ou principalement par contact sexuel entre deux partenaires dont l'un est infecté.

L'Organisation Mondiale de la Santé recommande de remplacer l'expression maladies sexuellement transmissibles (MST) par celle d'infections sexuellement transmissibles (IST). L'expression infections sexuellement transmissibles a été adoptée en 1999, car elle tient mieux compte des infections asymptomatiques. En outre, l'expression est maintenant utilisée par de très nombreuses sociétés et publications scientifiques.

Les IST se manifestent par des signes d'atteinte locale de la sphère génitale et ou généralisée de l'organisme.

#### 3.2. Epidémiologie

#### 3.2.1. Flore commensale du tractus génital

#### **3.2.1.1.** Chez la femme

L'appareil génital féminin est composé de deux secteurs microbiologiques.

Le premier secteur comporte la vulve, le vagin, et l'exocol. Il est largement colonisé par les flores commensales. Inversement, le second secteur, composé de l'endocol, la cavité utérine, la cavité tubaire et le pelvi-péritoine, est stérile. Ces deux secteurs sont séparés par le col de l'utérus qui peut être considéré comme un véritable « verrou » microbiologique très efficace contre l'ascension des bactéries cervico- vaginales.

Les voies génitales basses sont normalement habitées par de très nombreuses bactéries, de types variés, dont l'équilibre et la nature conditionnent l'état physiologique [6]. Ces bactéries commensales sont inoffensives à l'état normal [7].

La première description de la flore vaginale fut faite en 1892 par Doderlein qui donna son nom à ces bacilles qu'il considérait, avec ses collègues, comme constituant une population homogène de bacilles à Gram positif.

La flore bactérienne commensale, constituée en majorité par les lactobacilles, joue un rôle de contrôle par le phénomène d'exclusion mutuelle qui empêche qu'une espèce se multiplie aux dépends d'une autre. Cette régulation s'opère par des mécanismes variés et complexes qui conduisent à l'établissement d'un environnement écologique équilibré particulier [6].

Les lactobacilles dominent la flore vaginale normale ( $> 10^7/\text{mL}$  dans les sécrétions vaginales).

Leur nombre est affecté par le taux de glycogène des cellules épithéliales intermédiaires, de même que par le pH, le taux des hormones sexuelles et la fréquence des rapports sexuels [6].

Les œstrogènes favorisent l'accumulation de glycogène dans les cellules de l'épithélium vaginal qui vont le dégrader en glucose puis en acide lactique [8].

Cette production d'acide lactique par les cellules épithéliales, plus que celle obtenue par les lactobacilles au cours de leur propre métabolisme, semble être le principal support responsable de l'acidité du pH vaginal.

Au cours des premières semaines de la vie, le vagin du nouveau-né est sous l'influence des œstrogènes maternels. A partir de quatre semaines et jusqu'à la puberté, les parois vaginales sont fines, le contenu en glycogène des cellules épithéliales est faible, le pH élevé (=7) et la flore constituée de bactéries commensales intestinales et cutanées, avec une prédominance des espèces anaérobies strictes [9].

Après la puberté, sous l'influence des œstrogènes, l'épithélium s'épaissit, devient un épithélium pavimenteux stratifié riche en glycogène, le pH est acide [5-5,6] et les lactobacilles prédominent [8].

Après la ménopause, en l'absence d'oestrogénothérapie, l'épithélium vaginal redevient très fin, le glycogène est absent ou en quantité réduite, les lactobacilles plus rares et les bactéries anaérobies strictes redeviennent dominantes [10].

Au cours de la grossesse, la quantité de glycogène augmente dans les cellules de l'épithélium vaginal, ce qui entraîne une diminution du pH vaginal, une multiplication des lactobacilles et une raréfaction des bactéries anaérobies [11].

Les lactobacilles grâce à leur pouvoir acidifiant et leur sécrétion de peroxyde d'hydrogène permettent d'inhiber la multiplication des pathogènes tels que *Gardnerella vaginalis* et les *Neisseria*. Ils permettent également de limiter la multiplication des *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Staphylococus aureus ou Escherichia coli*.

La flore vaginale peut devenir anormale si elle est déséquilibrée par un agent pathogène étranger, on parle alors de vaginite ou de vaginose [12].

- Les vaginites infectieuses se définissent comme une infection liée à un agent pathogène mais aussi comme étant le résultat d'une pullulation anormale d'une bactérie, d'un parasite ou d'un champignon habituellement présent en quantité infime. Ce sont principalement les infections à *Gardnerella*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis* mais aussi les mycoses.

- Les vaginoses bactériennes traduisent un déséquilibre de la flore vaginale normale. Les lactobacilles sont remplacés par des microorganismes anaérobies comme *Gardnerella vaginalis et Mycoplasma hominis*.

Certaines bactéries de la flore vaginale dite « Bactéries vaginales à haut risque infectieux (BVHRI) materno-fœtal » sont incriminées dans les infections materno-fœtales et néonatales. La flore de Doderlein est généralement bien conservée et les BVHRI en quantité telles qu'elles ne sont pas observables à la coloration de Gram (< 105 bactéries/g de sécrétions vaginales) et donc dépistable que par culture.

Les principales bactéries concernées sont :

- Streptococcus agalactiae : cette bactérie touche le couple mère enfant avec facteurs de risque mais aussi se révèle être l'agent infectieux le plus agressif pour l'enfant de plus de 2 500 g. Les taux de colonisation des voies génitales maternelles rapportés dans la littérature chez les femmes enceintes sont très variables allant de 2% à 35%.

En France, des travaux récents estiment ce taux de portage à environ 10% [13].

- Escherichia coli : bactérie qui se partage avec Streptococcus. agalactiae l'étiologie des infections materno-foetales et néonatales dans les situations à risque comme la prématurité et/ou la rupture prématurée des membranes [14].
- Plus rarement, d'autres bactéries comme *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* sont retrouvés dans la flore vaginale et responsables d'infections utéro-annexielles ou néonatales dans les situations à risque [15], [16].

**Tableau I :** Microorganismes des voies génitales féminines [17]

| Microorganismes<br>Toujours pathogènes | Microorganismes commensaux éventuellement associés à des manifestations pathologiques | Microorganismes sans pouvoir pathogène connu sur le tractus génital |
|--|---|---|
| Bactéries responsables d'IST           | Candida vaginalis,  | Lactobacillus spp,  |
| (Neisseria gonorrhoeae,                | Gardnerella vaginalis,  | Corynebacterium(autre que   |
| Chlamydia trachomatis et               | Mobiluncus spp,   | C.diphteriae), Neisseria  |
| Haemophilus ducreyi,                   | Mycoplasma spp,   | autres que <i>N. gonorrhoeae</i> ,                                  |
| Trichomonas vaginalis,                 | Ureaplasma spp,   | Staphylococcus non aureus   |
| Herpès virus                           | Staphylococcus aureus,  |   |
|  | Streptococcus spp,  |   |
|  | bactéries anaérobies  |   |
|  | strictes,   |   |
|  | Entérobactéries,  |   |
|  | Papillomavirus  |   |

#### **3.2.1.2.** Chez l'homme [18]

Le gland et le tiers distal de l'urètre possèdent une flore commensale poly-microbienne dérivée des flores digestive et cutanée: Staphylocoques, Entérocoques, Entérobactéries, Lactobacilles, corynébactéries, anaérobies strictes. La partie haute de la muqueuse urétrogénital et les glandes annexes sont normalement stériles. Les infections génitales masculines sont dues la plupart du temps aux mêmes pathogènes spécifiques que les infections féminines, plus rarement à des bactéries commensales.

#### 3.2.2. Agents pathogènes

Les IST sont causées par plus de 30 bactéries, virus et parasites et se transmettent principalement par voie sexuelle, y compris lors d'un rapport vaginal, anal ou oral [4].

- Les principales bactéries sont *Neisseria gonorrhoeae* (gonococcie), *Chlamydia trachomatis* (chlamydioses), *Treponema pallidum* (syphilis), *Haemophilus ducreyi* 

(chancre mou), *Klebsiella (Calymmatobacterium) granulomatis* (granulome inguinal ou donovanose) et les souches L1-L3 de *Chlamydia trachomatis* (lymphogranulome vénérien).

- Les principaux virus sont le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), les virus *Herpes simplex*, les papillomavirus (HPV), le virus de l'hépatite B et le cytomégalovirus.
- *Trichomonas vaginalis* (trichomonose) est l'agent sexuellement transmissible le plus répandu ; il cause essentiellement une vaginite, mais aussi une urétrite a-microbienne chez l'homme.
- *Candida albicans*, qui peut se transmettre par voie sexuelle, est à l'origine d'une mycose courante se traduisant par une vulvo-vaginite chez la femme et une inflammation du gland et du prépuce chez l'homme.

La vaginose bactérienne (transformation de la flore vaginale normale au profit de germes anaérobies souvent associes a des mycoplasmes) n'est pas toujours d'origine sexuelle mais des infections des partenaires, et donc des ré-infestations, sont possibles. Enfin pour être complet, il faut citer deux parasites *Phtirus pubis* (phtirose du pubis) et *Sarcoptes scabiei* (gale) [2].

Tableau II: Principaux agents pathogènes sexuellement transmissibles et maladies qu'ils causent [3]

| Agents pathogènes               | Manifestations cliniques et autres maladies associées                       |  |  |
|---------------------------------|---|--|--|
| Infections bactériennes         |   |  |  |
| Neisseria gonorrhoeae           | GONORRHEE Hommes: écoulement urétral (urétrite), épididymite,               |  |  |
|                                 | orchite, stérilité  |  |  |
|                                 | Femmes : cervicite, endométrite, salpingite, infection                      |  |  |
|                                 | génitale haute, stérilité, rupture prématurée des membranes, périhépatite   |  |  |
|                                 | <b>Deux sexes</b> : rectite, pharyngite, gonococcie disséminée              |  |  |
|                                 | <b>Nouveau-nés</b> : conjonctivite, cicatrices cornéennes et                |  |  |
|                                 | cécité  |  |  |
| Chlamydia trachomatis           | CHLAMYDIOSE   |  |  |
| ,                               | Hommes: écoulement urétral (urétrite), épididymite,                         |  |  |
|                                 | orchite, stérilité  |  |  |
|                                 | Femmes : cervicite, endométrite, salpingite, infection                      |  |  |
|                                 | génitale haute, stérilité,  |  |  |
|                                 | rupture prématurée des membranes, périhépatite ;                            |  |  |
|                                 | souvent asymptomatique  |  |  |
|                                 | <b>Deux sexes</b> : rectite, pharyngite, syndrome de Reiter                 |  |  |
|                                 | Nouveau-nés : conjonctivite, pneumonie                                      |  |  |
| Chlamydia trachomatis           | LYMPHOGRANULOME VENERIEN  |  |  |
| (souches L1-L3)                 | Deux sexes : ulcère, œdème inguinal (bubon), rectite                        |  |  |
| Treponema pallidum              | SYPHILIS  |  |  |
|                                 | Deux sexes : ulcération primaire (chancre) associée à                       |  |  |
|                                 | une adénopathie locale, éruption cutanée,                                   |  |  |
|                                 | condylomatose; atteintes osseuses, cardio-vasculaires et                    |  |  |
|                                 | neurologiques   |  |  |
|                                 | <b>Femmes</b> : grossesses improductives (avortement,                       |  |  |
|                                 | mortinaissance), accouchement avant terme                                   |  |  |
| Ugamanhilus duanavi             | Nouveau-nés : mortinaissance, syphilis congénitale                          |  |  |
| Haemophilus ducreyi             | CHANCRE MOU   |  |  |
|                                 | <b>Deux sexes</b> : ulcères génitaux douloureux parfois associés à un bubon |  |  |
| Klebsiella (Calymmatobacterium) | GRANULOME INGUINAL (DONOVANOSE)   |  |  |
| granulomati                     | <b>Deux sexes</b> : nodules et ulcérations dans la sphère                   |  |  |
| granuoman                       | inguinale et ano-génitale   |  |  |
| Mycoplasma genitalium           | Hommes : écoulement urétral (urétrite non                                   |  |  |
| 111/copiasma gentiami           | gonococcique)   |  |  |
|                                 | Femmes : vaginose bactérienne, probablement infection                       |  |  |
|                                 | génitale haute  |  |  |
| Ureaplasma urealyticum          | Hommes : écoulement urétral (urétrite non                                   |  |  |
|                                 | gonococcique)   |  |  |
|                                 | Femmes : vaginose bactérienne, probablement infection                       |  |  |
|                                 | génitale haute  |  |  |
| Infections virales              |   |  |  |

| Virus de l'immunodéficience           | SYNDROME D'IMMUNODEFICIENCE ACQUIS  |  |  |
|---------------------------------------|---|--|--|
| humaine                               | (SIDA)  |  |  |
|                                       | <b>Deux sexes</b> : maladie liée au VIH, SIDA                             |  |  |
| Virus Herpes simplex type 2           | HERPES GENITAL  |  |  |
| Virus Herpes simplex type 1 (plus     | <b>Deux sexes</b> : lésions vésiculaires et ulcérations                   |  |  |
| rarement)                             | anogénitales  |  |  |
|                                       | Nouveau-nés : herpès néonatal (souvent mortel)                            |  |  |
| Papillomavirus humain                 | CONDYLOMES ACUMINES   |  |  |
|                                       | <b>Hommes</b> : condylomes péniens et anaux ; cancer du                   |  |  |
|                                       | pénis   |  |  |
|                                       | <b>Femmes</b> : condylomes de la vulve, de l'anus et du col               |  |  |
|                                       | de l'utérus, cancer du col,   |  |  |
|                                       | cancer de la vulve, cancer anal   |  |  |
|                                       | Nouveau-nés : papillome laryngé   |  |  |
| Virus de l'hépatite B                 | HEPATITE VIRALE   |  |  |
|                                       | <b>Deux sexes</b> : hépatite aiguë, cirrhose du foie, cancer du           |  |  |
|                                       | foie  |  |  |
| Cytomégalovirus                       | INFECTION A CYTOMEGALOVIRUS   |  |  |
|                                       | <b>Deux sexes</b> : fièvre infraclinique ou non spécifique,               |  |  |
|                                       | gonflement diffus des ganglions lymphatiques,                             |  |  |
| V'                                    | hépatopathie, etc.  |  |  |
| Virus molluscum contagiosum           | MOLLUSCUM CONTAGIOSUM  Down govern and vlos outenée embiliquée et indurée |  |  |
|                                       | <b>Deux sexes</b> : nodules cutanés ombiliqués et indurés                 |  |  |
|                                       | généralisés ou siégeant sur<br>les parties génitales                      |  |  |
| Sarcome de Kaposi associé au virus    | SARCOME DE KAPOSI   |  |  |
| de l'herpès (virus de l'herpès humain | <b>Deux sexes</b> : type agressif de cancer chez les sujets               |  |  |
| type 8)                               | immunodéprimés  |  |  |
| Protozoose                            | minunoceprinies   |  |  |
| Trichomonas vaginalis                 | TRICHOMONASE  |  |  |
| Trichomonas vaginatis                 | Hommes : écoulement urétral (urétrite non                                 |  |  |
|                                       | gonococcique); souvent asymptomatique                                     |  |  |
|                                       | Femmes: vaginose avec pertes vaginales abondantes et                      |  |  |
|                                       | bulleuses; accouchement avant terme, faible poids de                      |  |  |
|                                       | naissance   |  |  |
|                                       | Nouveau-nés : faible poids de naissance                                   |  |  |
| Mycose                                | F   |  |  |
| Candida albicans                      | CANDIDOSE   |  |  |
| Sarata dio ionis                      | Hommes: balanite  |  |  |
|                                       | Femmes : vulvo-vaginite avec pertes vaginales                             |  |  |
|                                       | caillebottées, démangeaisons ou brûlures vulvaires                        |  |  |
| Parasitoses                           | , ,   |  |  |
| Phthirus pubis                        | PHTIRIASE DU PUBIS  |  |  |
| Sarcoptes scabiei                     | GALE  |  |  |
| za. copies senoiei                    | V   |  |  |

#### 3.2.3. Mode de transmission

- Les IST se transmettent principalement par des relations sexuelles non protégée ;
- la transmission de la mère à l'enfant : pendant la grossesse (VIH et syphilis), à l'accouchement (*gonorrhée et chlamydia*), ou après la naissance (VIH)
- les transfusions ou autres contacts avec le sang ou des produits sanguins (syphilis et VIH)
- Accidents d'exposition au sang.

#### 3.2.4. Facteurs de risque [19]

Les risques d'être contaminé par une infection sexuellement transmissible dépendent à la fois de la probabilité de rencontrer un partenaire infecté et la susceptibilité à contracter la maladie. On peut citer comme facteur :

- -L'âge : Le jeune âge est dans toutes les études un facteur de risque de contamination par IST.
- **-Le sexe** : Il est plus facile pour une femme de se faire contaminer par un homme que le contraire.
- **-Facteurs démographiques** : Le statut marital est lié au risque des IST, les célibataires, les divorcés et séparés étant plus fréquemment atteints.
- **-La pratique sexuelle** : Les rapports anaux sans protection constituent un risque accru de contamination, les rapports sexuels pendant la menstruation.

Le fait de ne pas se servir d'un préservatif dans l'une ou l'autre de ces situations expose les deux partenaires à un risque d'infection très élevé.

#### 3.2.5. Fréquence

En 2005, l'OMS estimait à près de 350 millions le nombre de nouveaux cas annuels d'infections sexuellement transmissibles (IST) curables survenant dans le monde chez les hommes et les femmes âgés de 15 à 49 ans [2].

Chaque jour, plus d'un million de personnes contractent une IST et on estime que, chaque année, 500 millions de personnes contractent l'une des quatre IST suivantes: chlamydiose, gonorrhée, syphilis et trichomonase [4]. En l'absence de traitement, les infections à gonocoque et à Chlamydia chez la femme entraînent une infection génitale haute dans une proportion des cas pouvant aller jusqu'à 40 %. Dans un cas sur quatre, l'infection conduit à la stérilité [3]. Une syphilis précoce non traitée chez la femme enceinte entraîne un taux de mortinatalité de 25 % et cause 14 % des décès de nouveau-nés, soit un taux global de mortalité périnatale d'environ 40 %. Ainsi, la prévalence de la syphilis chez les femmes enceintes en Afrique se situe entre 4 % et 15 % [3].

L'infection à *Trichomonas vaginalis* est l'infection sexuellement transmissible non virale la plus rependue, avec un chiffre estimatif de 276,4 millions de cas enregistrés chaque année dans le monde [20]. Une étude effectuée dans sept pays d'Afrique occidentale (Bénin, Burkina Faso, Côte d'Ivoire, Ghana, Guinée, Mali et Sénégal) chez des hommes venus consulter dans des services de soins de santé primaires pour écoulement urétral a permis de diagnostiquer une infection à *Trichomonas vaginalis* chez 15 % des sujets souffrant d'une urétrite non occasionnée par des gonocoques ou des *Chlamydia* [20]. Au Mali : TRAORE.O a trouvé 5% dans son étude en 2009 [21].

*Ureaplasma urealyticum* fait partie de la flore uro-génitale dans 40-70 % des cas, mais prédomine chez la femme. Cependant, il peut parfois être isolé chez 60 % des hommes et 80 % de femmes issus d'une population à risque suivie ou en consultation pour IST [22].

Vingt pour cent des femmes enceintes sont porteuses de Streptococcus agalactiae. L'enfant s'infecte par voie ascendante trans-cervicale *in utero*, lors de l'accouchement ou en péripartum. Cinquante pour cent des enfants nés de mères porteuses de streptocoque B sont colonisés, mais 1 % seulement présentera une infection néonatale (soit 1 enfant pour 1 000 naissances) [23]. Les levures du genre *Candida* sont fréquemment isolées des prélèvements vaginaux (PV). On estime que 75% des femmes ont au cours de leur vie au moins un épisode infectieux du au *Candida albicans*, 20% des patientes en âge de procréer seraient des porteurs sains et 25% des partenaires des femmes atteintes de mycose vaginale sont porteurs de *Candida Albicans*. Les vaginoses bactériennes représentent actuellement plus de 50% de toutes les infections vaginales et sont asymptomatiques chez plus de la moitié des patientes.

#### 3.3. Diagnostic biologique [17]

#### 3.3.1. Prélèvements

La qualité des prélèvements, effectués autant que possible au laboratoire, et des renseignements cliniques conditionnent la pertinence des résultats bactériologiques.

Les prélèvements effectués au laboratoire, par le biologiste permettent de noter l'aspect des lésions et des leucorrhées (en particulier l'aspect et l'odeur évocateurs d'une vaginose ou d'une candidose).

Quelle que soit la bactérie recherchée, il est nécessaire de recueillir par écouvillonnage un maximum de sérosité et de cellules.

Chez la femme, l'une des précautions majeures dans le diagnostic des infections hautes visera à éviter les contaminations de l'échantillon par les germes du bas appareil.

Les sites anatomiques susceptibles de contenir des bactéries plus fragiles (gonocoque, *Chlamydia*) doivent être prélevés, non pas avec des écouvillons à extrémité en coton, mais à l'aide d'écouvillons à extrémité en dacron ou en alginate. Ces derniers doivent être placés dans un milieu de transport.

#### 3.3.1.1. Prélèvement dans les deux sexes

En présence d'urétrite

- Pour la recherche de gonocoque, prélever le pus urétral à l'écouvillon en dacron ou en alginate et le placer dans un milieu de transport de type Stuart.
- Pour la recherche de *Chlamydia trachomatis*, utiliser un écouvillon ayant une extrémité plastique sous forme d'ogive rainurée ou une brosse stérile (chez la femme) ou un écouvillon en dacron ou en alginate monté sur tige plastique (chez l'homme et la femme).

#### 3.3.1.2. Prélèvement du tractus génital chez la femme (enceinte ou non)

Chez la femme, les prélèvements génitaux se font sous spéculum avec un éclairage adapté.

- Recherche de cervicite due à une IST
- Pour la recherche de gonocoque, prélever le col à l'aide d'un écouvillon en dacron ou en alginate et le placer dans un milieu de transport de type Stuart.
- Pour la recherche de *Chlamydia trachomatis*, nettoyer d'abord correctement l'exocol avec un écouvillon ou un tampon stérile imbibé d'eau physiologique stérile. Puis prélever l'endocol avec un écouvillon plastique ayant une extrémité sous forme d'ogive rainurée ou avec une brosse stérile ou avec un écouvillon en dacron. L'écouvillon ayant servi au prélèvement est retiré en évitant tout contact avec les parois du vagin.
- La recherche de gonocoque et de *Chlamydia trachomatis* doit être systématique en cas de cervicite en raison du portage asymptomatique de cette bactérie chez la jeune femme. La présence de ces bactéries peut même n'occasionner aucune cervicite.

#### - En présence d'une leucorrhée ou d'une vulvo-vaginite

On procède à un écouvillonnage (extrémité en coton ou en dacron) des sécrétions des parois de la moitié inférieure du vagin jusqu'au vestibule et la vulve.

#### 3.3.1.3. Prélèvements particuliers chez la femme enceinte

Streptococcus agalactiae est recherché au niveau du tiers vaginal inférieur lors de la dernière consultation avant la date prévue pour l'accouchement (34-35<sup>e</sup> semaine). Sa présence permet de mettre en place une antibiothérapie préventive au moment de l'accouchement.

#### - En cas d'antécédents d'accouchement prématuré

Effectuer un frottis vaginal à l'écouvillon de coton en début de grossesse pour la recherche systématique d'une vaginose.

### - En présence d'une vulvo-vaginite, d'une menace d'accouchement prématuré ou d'une rupture prématurée des membranes

Rechercher les principaux microorganismes à risque pour l'enfant : *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*.

#### - Suspicion d'infection chorioamniotique ascendante

L'infection chorioamniotique ascendante commence par une colonisation de l'endocol.

L'examen d'un prélèvement d'endocol correctement réalisé (sans contamination vaginale) peut permettre d'identifier la bactérie responsable de la colonisation, voire de l'infection.

La technique de prélèvement est déterminante pour éviter les contaminations vaginales.

Il faut d'abord nettoyer correctement l'exocol avec un tampon stérile et imbibé d'eau physiologique stérile, puis prélever l'endocol avec un écouvillon qui sera tourné plusieurs fois dans l'endocol et retiré en évitant tout contact avec les parois du vagin.

#### 3.3.1.4. Prélèvements génitaux masculins

#### - En cas d'épididymite

Procéder à un écouvillonnage urétral, à un prélèvement de sperme, ou au recueil du premier jet urinaire.

#### - En cas de prostatite

Comme pour une suspicion d'épididymite, procéder à un écouvillonnage urétral, à un prélèvement de sperme, ou au recueil du premier jet urinaire. En outre, recueillir les sécrétions prostatiques après un éventuel massage prostatique et/ou le premier jet urinaire. Dans tous les cas, les prélèvements doivent permettre l'examen direct et l'ensemencement.

#### 3.3.1.5. Transport des prélèvements

Si les prélèvements ne sont pas effectués au laboratoire, ils doivent être transportés rapidement dans des milieux de transport appropriés (indispensable pour la recherche de gonocoque, de *Chlamydia trachomatis*, de mycoplasmes).

#### 3.3.2. Examen bactériologique

Les renseignements cliniques et épidémiologiques, la description de la localisation des lésions et de leur aspect sont indispensables à l'orientation du diagnostic bactériologique.

Cette orientation se traduit par le choix des techniques diagnostiques mises en œuvre : examen cytobactériologique, culture en conditions particulières, techniques de biologie

moléculaire et examen sérologique. La recherche de bactéries anaérobies dans les prélèvements vaginaux ne présente généralement pas d'intérêt.

#### 3.3.2.1. Examen microscopique

L'examen cytobactériologique des prélèvements est fonction du contexte clinique.

De façon systématique, une coloration de Gram sera réalisée sur tous les échantillons biologiques.

#### - Vaginites, urétrites et cervicites

- L'examen microscopique à l'état frais, entre lame et lamelle, permet d'observer la présence de *Trichomonas vaginalis* ou de *Candida albicans* et de cellules vaginales superficielles recouvertes de très nombreuses bactéries (*Gardnerella vaginalis* et/ou anaérobies par exemple) avec disparition du contour visible de la cellule. Cette association caractéristique entre bactéries et cellules (cellule dites clue-cells) est spécifique des vaginoses.
- La coloration de Gram permet le diagnostic de candidose à *Candida albicans* et surtout d'étudier la flore bactérienne vaginale et son équilibre. Elle permet aussi d'observer chez les patients suspects de gonococcie, la présence de polynucléaire contenant des diplocoques à Gram négatif; ces bactéries sont observées facilement à l'examen microscopique du pus urétral chez l'homme et plus rarement chez la femme dans un prélèvement de cervicite. Dans le cas des vaginoses, elle permet également d'observer la présence de *Gardnerella vaginalis* (bacilles à Gram variable) fixées sur les cellules vaginales, de *Mobiluncus spp* (Bactéries affectant la forme d'un coup d'ongle) et de morphotypes bactériens faisant évoquer des bactéries anaérobies strictes. Il est à noter que *Mycoplasma hominis* (non observable à la coloration de Gram) est aussi fréquemment associé aux vaginoses.

#### - Vaginites

- Les microorganismes les plus fréquemment isolés au cours des vaginites sont Candida albicans, Trichomonas vaginalis. On y recherche aussi systématiquement Neisseria gonorrhoeae. En cas d'urétrite et de cervicite associée, on ajoute la recherche de Chlamydia trachomatis
- Il est important de savoir que *Candida albicans* peut exister chez des femmes totalement asymptomatiques.

#### Vaginoses

- Le diagnostic de vaginose repose essentiellement, pour le clinicien, sur l'association de 3 des 4 critères suivants : présence de sécrétions homogènes dites « grisâtre », odeur d'amines de poisson renforcée par la potasse (test à potasse), pH >4,5, présence de « cluecells » à l'examen direct après coloration de Gram.
- A l'examen microscopique, on observe la présence de « clue-cells » accompagnées d'une disparition ou d'une réduction importante du nombre de bacilles à Gram positif de type *Lactobacillus*. Ces *Lactobacillus* sont remplacés par une flore dominante constituée de bactéries corynéformes à Gram variable et/ou de morphotypes bactériens évoquant des bactéries anaérobies et/ou de bacilles incurvés de type *Mobiluncus* (Tableau 2).

En pratique, l'examen direct par la coloration de Gram permet le diagnostic de vaginose. La culture n'est pas utile pour réaliser ce diagnostic.

**Tableau III:** Evaluation des flores vaginales à partir de l'examen microscopique

| Score | Morphotype<br>Lactobacillus | Morphotype<br>Gardnerella,<br>Bacteroides | Bacilles incurvés à<br>Gram variable<br>(Mobiluncus) |
|-------|-----------------------------|---|--|
| 0     | ++++                        | 0   | 0  |
| 1     | +++                         | +   | + ou ++  |
| 2     | ++                          | ++  | ++ ou +++  |
| 3     | +                           | +++                                       |  |

**Remarque :** Les morphotypes sont gradués en nombre moyen de bactéries par champ à l'immersion.

#### **3.3.3.** Culture

- Les milieux ensemencés seront au minimum :
- Gélose au sang cuit avec et sans mélange inhibiteur (type VCN ou VCAT) pour la recherche de Neisseria gonorrhoeae et Neisseria meningitidis, incubée en atmosphère contenant 5% de CO<sub>2</sub>;

- Gélose au sang (base Columbia) pour la recherche de diverses bactéries à Gram positif, dont *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*;
- Cas particulier du dépistage de *Streptococcus agalactiae* (Streptocoque du groupe B) entre la 34<sup>e</sup> et la 38<sup>e</sup> semaine de grossesse.
- Selon les recommandations de l'ANAES (2001), la culture doit être quantifiée de 1+ à 4+ selon le quadrant, ce qui permet de quantifier le risque de faible (1+) à majeur (4+) ;
- Une gélose lactosée sélective ou non peut être utile pour la recherche de divers bacilles à Gram négatif, en particulier les Entérobactéries.

#### - Interprétation des résultats des cultures

L'interprétation dépend de la nature des bactéries isolées et du contexte clinique.

En particulier, dans les urétrites, cervicites et vaginites, les espèces bactériennes saprophytes ne seront considérées comme potentiellement pathogènes que si elles sont présentes en quantité importante et en flore unique, notamment en l'absence de Lactobacilles dans le cas des vaginites. D'autres bacilles à Gram négatif (*Pseudomonas spp*) peuvent exceptionnellement être isolés chez des patientes colonisées notamment à partir de produits de toilette contaminés.

#### 3.3.4. Antibiogramme

L'antibiogramme sera systématiquement réalisé dans les infections endocervicales du haut appareil génital, sur les germes pathogènes isolés, sur les souches de gonocoque selon les recommandations du CASFM. Pour les bactéries colonisant le bas appareil génital, en particulier chez la femme, la réalisation d'un antibiogramme n'est pas indiquée, sauf dans le cas du portage des streptocoques du groupe B au cours du troisième trimestre de la grossesse.

#### 3.4. Traitement

#### 3.4.1. Indications

Un traitement efficace des infections sexuellement transmissibles repose sur l'identification correcte du germe en cause (Tableau IV)

Tableau IV: Traitement des IST

| Type d'infection                                  | Pathogène   | Antibiotiques de  | Alternatives  |  |
|---|---|---|---|--|
|   |   | choix   |   |  |
| chancre mou                                       | Haemophilus ducreyi   | Azithromycine   | Ciprofloxacine  |  |
| syphilis  | Treponema pallidum  | Pénicilline<br>Benzathine   | Doxycycline   |  |
| gonorrhée<br>(cervicite, urétrite,<br>prostatite) | Neisseria gonorrheae<br>+ Chlamydia<br>trachomatis  | [Azithromycine ou<br>Doxycycline] +<br>[Fluoroquinolone ou<br>Amoxycilline (si<br>gonocoque<br>sensible)] |   |  |
| endométrite                                       | Bacteroïdes<br>streptocoques<br>Gardnerella vaginalis<br>entérobactéries<br>Mycoplasma hominis<br>Chlamydia trachomatis | Amoxycilline/ac.  Clavulanique +  Doxycycline   | [Clindamycine + Aminoglycoside] ou [Aminopénicilline ou Céfotoxine] + [Néomacrolide ou Doxycycline] |  |
| salpingite  | Neisseria gonorrheae Chlamydia trachomatis Bacteroïdes; entérobactéries streptocoques Mycoplasma hominis                | Amoxycilline/ac.  Clavulanique +  Doxycycline   | Céphalosporine +<br>Métronidazole +<br>[Doxycycline ou<br>Néomacrolide]                             |  |
| vaginite  | Trichomonas vaginalis   | Métronidazole   |   |  |
| épididymite                                       | Neisseria gonorrheae<br>Chlamydia trachomatis<br>entérobactéries  | Fluoroquinolone ou<br>Cotrimoxazole   |   |  |
| prostatite  | entérobactéries<br>autres   | Fluoroquinolone ou<br>Cotrimoxazole<br>voir plus haut   |   |  |
| Vulvo-vaginite                                    | Candida albicans  | Azole local ou oral   | Nystatine   |  |

#### 3.4.1.1. Mécanismes d'action des antibiotiques

#### Mécanisme d'action des Beta-lactamines

Quatre mécanismes distincts peuvent être à l'origine de la résistance des bactéries aux  $\beta$ -lactames:

- Une imperméabilisation par altération des porines se rencontre chez les Gram (-) et confère une résistance aux β-lactames trop hydrophiles pour diffuser à travers la membrane externe (céphalosporines; pénicillines à large spectre).
- Un efflux actif à l'aide de transporteurs peut conférer un niveau modéré de résistance à la plupart des β-lactames. Il se rencontre surtout chez *Pseudomonas aeruginosa*. Ces pompes à efflux possèdent une très large spécificité de substrats et Elles agissent en bloquant la synthèse du peptidoglycane, constituant commun de la paroi des bactéries à Gram négatif en inhibant les enzymes essentielles à la synthèse : les transpeptidases et les carboxypeptidases, appelées protéines de liaison à la pénicilline (PLP). La fixation de l'antibiotique empêche celle du substrat naturel (Acyl-D-Alanyl-D- Alanine) qui présente une analogie structurale avec le cycle beta-lactame. La synthèse du peptidoglycane est alors inhibée, la bactérie n'est plus protégée du milieu extérieur hostile, ce qui se traduit par une lyse bactérienne.
- reconnaissent aussi d'autres classes d'antibiotiques, conférant des résistances croisées.
- Une altération des PBP peut réduire leur affinité pour les β-lactames. Ce type de mécanisme se retrouve dans les souches de staphylocoques dites "résistantes à la Méthicilline" (MRSA). Il implique la production d'une PBP2a de faible affinité pour ces antibiotiques, ce qui entraîne une résistance à l'ensemble de la classe des β-lactames et a donc une grande signification clinique. Chez les pneumocoques, des modifications par mutation des PBP réduisent petit à petit l'activité des β-lactames, ce qui impose l'utilisation de doses croissantes en antibiotiques.

#### ➤ Mécanisme d'action des Aminosides

Les antibiotiques agissent en perturbant l'intégralité de la membrane externe et de la membrane plasmique des bactéries en se fixant sur l'ARN ribosomal sur la sous-unité 30S avec une forte affinité : ce qui entraine des erreurs de lecture des ARN messagers donnant des protéines anormales qui s'incorporent à la membrane et l'affinité

#### Mécanisme d'action des Macrolides

Ils inhibent la synthèse protéique au niveau du ribosome. Ils se fixent tous au niveau de la sous unité 50 S, mais le mécanisme est très mal connu. Ils inhibent la translocation et la réaction de transpeptidation au site P. Ils favoriseraient la libération prématurée du complexe t-ARN-peptide du ribosome .Ils agiraient à un stade plus précoce que les macrolides avant la formation des polysomes en inhibant la fixation de l'amino acyl-t-ARN au site accepteur ainsi que la formation de la liaison peptidique.

#### Mécanisme d'action des Sulfamides et Triméthoprime

Le Cotrimoxazole (Sulfaméthoxazole + Triméthoprime) inhibe la synthèse des acides nucléiques en agissant sur les deux enzymes principales de la voie de synthèse des bases puriques : le Sulfaméthoxazole inhibe le dihydrofolate synthétase et le Triméthoprime la dihydrofolate réductase.

#### **➤** Mécanisme d'action des Fluoroquinolones

Ils inhibent la synthèse de l'ADN par blocage de l'ADN-gyrase. L'activité de la sous unité A de cette enzyme est inhibée.

#### > Mécanisme d'action des Cyclines

Les tétracyclines se fixent au niveau du site A de la fraction 30 S et empêchent la liaison de l'aminoacyl-t-ARN. Elles bloquent ainsi la phase d'élongation de la synthèse protéique.

#### Mécanisme d'action des Glycopeptides

Les glycopeptides sont au même titre que les β-lactames des inhibiteurs de la synthèse de la paroi bactérienne. Leur action est toutefois différente: ils se fixent par leur fraction aglycone aux extrémités D-Ala-D-Ala du précurseur lipopeptidique et inhibent, par l'encombrement stérique qu'ils créent, l'action subséquente de la transpeptidase (catalysant l'enlèvement du D-Ala terminal et la réticulation du peptidoglycan) et de la transglycosylase (responsable de la fixation de nouvelles sous unités de disaccharide-pentapeptide sur le polymère en croissance).

#### 3.5. Résistance bactérienne aux antibiotiques

#### 3.5.1. Notion de résistance

Une souche est dite résistante lorsque la concentration d'antibiotique qu'elle est capable de supporter est notablement plus élevée que la concentration que l'on peut atteindre *in vivo*.

Cette résistance est liée à un ou plusieurs mécanismes biochimiques, qui impliquent l'étude des interactions entre l'antibiotique et les voies métaboliques de la bactérie.

La généralisation de l'utilisation des antibiotiques a conduit à une sélection des souches résistantes.

Ce phénomène a atteint une telle ampleur que la seule identification bactérienne ne permet plus de prédire le comportement d'une souche isolée vis-à-vis des antibiotiques d'où l'intérêt et la nécessité de réaliser des antibiogrammes.

#### 3.5.2. Types de résistance

#### 3.5.2.1. Résistance naturelle

La résistance naturelle ou intrinsèque à un antibiotique est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce.

Le mécanisme de cette résistance est variable mais son support génétique est généralement chromosomique.

#### 3.5.2.2. Résistance acquise [24]

Le spectre d'activité naturel de l'antibiotique est rétréci en raison d'une modification génétique de la bactérie : il apparait alors au sein de la population bactérienne sensible des souches résistantes. L'acquisition d'une résistance vis-à-vis des antibiotiques résulte de deux types de mécanismes génétiques :

- La mutation chromosomique affectant le chromosome ; elle est rare, spontanée ; indépendante de l'antibiotique ;
- La résistance est le plus souvent liée à l'acquisition d'un élément génétique transférable, le plasmide, ADN extra-chromosomique, qui gouverne la synthèse d'enzymes (Exemple : pénicillinases secrétées par les staphylocoques) inactivant un ou plusieurs antibiotiques. Cette résistance plasmidique porte sur plusieurs antibiotiques et est transférable en bloc, d'où l'apparition de bactéries multi-résistantes.

#### 3.5.2.3. Résistance clinique

Elle se traduit par l'échec thérapeutique. Plusieurs facteurs entre en cause dans ce type de résistance :

-Facteur environnementaux

- -La pharmacocinétique
- -Le choix judicieux de l'antibiotique
- -Les mécanismes développés par les bactéries

Tableau V: Principaux mécanismes connus de résistance aux antibiotiques [25]

| Antibiotiques   | Mécanisme de résistance           | Groupes bactériens concernés    |
|-----------------|-----------------------------------|---------------------------------|
| Beta-lactamines | Beta-lactamases                   | Staphylocoques, enterocoques    |
|                 | Modification des PLP cibles       | Pneumocoques, staphylocoques    |
|                 |                                   | Neisseria, haemophilus,         |
|                 |                                   | pseudomonas                     |
| Chloramphénicol | Acétylation                       | Gram positif et Gram négatifs   |
| Aminosides      | Modification des protéines cibles | Streptocoques                   |
|                 | ribosomales                       |                                 |
|                 | Enzymes d'inactivation            | Entérobactéries, staphylocoques |
| Macrolides;     | Méthylation de l'ARN r            | Gram positifs                   |
| Lincosamides;   |                                   |                                 |
| Streptogramines |                                   |                                 |
| Quinolones      | Modification de l'ADN gyrase      | Gram positifs et Gram négatifs  |
| Rifampicine     | Mutation de l'ARN polymérase      | Gram positifs et Gram négatifs  |
| Tétracyclines   | Afflux                            |                                 |

## 4. METHODOLOGIE

#### 4.1. Cadre et lieu d'étude

Le Centre d'Infectiologie Charles Mérieux (C.I.C.M) a constitué notre cadre d'étude. Le CICM est situé dans le quartier de l'ex- base aérienne de Bamako, rue du Docteur Charles Mérieux.

Fruit de la collaboration entre le Gouvernement de la République du Mali et la Fondation Mérieux, le CICM a été mis en place suite à la signature de l'Accord- cadre N° 0956/1899 du 18 février 2004 entre le Gouvernement de la République du Mali et la Fondation Mérieux ainsi que la Convention du 16 janvier 2005 et son Protocole annexe du 11 mai 2011 entre le Ministère de la Santé et la Fondation Mérieux.

- 8 décembre 2003 : Création de la Fondation Mérieux Mali
- 15 janvier 2004 : Pose de la première pierre du CICM
- 17 janvier 2005 : Inauguration du CICM
- 2 mai 2005 : Démarrage des activités

#### Le CICM comprend :

- une administration générale.
- un centre de formation avec une formation diplômante le BAMS (Bachelor de Biologie Médicale Appliquée), des formations qualifiantes et des formations par compagnonnage
- un laboratoire d'analyses médicales dénommé Laboratoire Rodolphe Mérieux (LRM) avec des activités de recherche et des activités de routine.

La présente étude s'est déroulée dans le Laboratoire Rodolphe Mérieux (LRM).

Le CICM a pour mission de participer tout comme les autres structures du Ministère de la Santé au développement sanitaire du Mali par le service rendu aux malades, la formation, la recherche et le renforcement des capacités dans le domaine du diagnostic biologique dans des conditions désintéressées au bénéfice de la population.

Les ressources humaines du CICM sont composées de 28 agents, répartis entre les services techniques du LRM (18 agents) et les fonctions de support administratif, financier et logistique (10 agents).

L'organigramme du Centre d'infectiologie Charles Mérieux de Bamako (cf. annexe N°1).

Le LRM se compose des Laboratoires 1 et 2 au sein desquels les activités de recherche et de diagnostic de routine sont effectuées. Le Laboratoire 1 offre le cadre et le matériel pour la réalisation des examens d'hématologie, de biochimie et d'immunologie et le Laboratoire 2 prend en charge les examens de microbiologie (bactériologie, mycologie et parasitologie).

Le niveau d'équipements du Laboratoire Rodolphe Mérieux pour la microbiologie au Laboratoire 2 où s'est déroulée notre étude est comme suite :

- Deux étuves de marque JOUAN,
- Une plaque chauffante de marque STUART,
- Une centrifugeuse de marque JOUAN,
- Un réfrigérateur de marque LIEBHERR pour la conservation des milieux de culture préparés (+ 5 degrés Celsius),
- -Un congélateur de marque SANYO pour la conservation souche de BMR isolée (-85 degrés Celsius)
- deux microscopes optiques de marque Leica,
- Une hotte de bactériologie à flux laminaire de marque JOUAN,
- Un autoclave pour la stérilisation de la verrerie, et pour la préparation des milieux de culture.
- Un Automate VITEK 2 COMPACT de marque BIOMERIEUX (pour la réalisation des identifications et de l'antibiogramme).
- Un Automate MINI API de marque BIOMERIEUX (pour la réalisation des identifications et de l'antibiogramme).

#### 4.2. Type et période d'étude

Il s'agit d'une étude transversale, prospective et descriptive portant sur les PV et PU réalisés au Laboratoire Rodolphe Mérieux de Bamako, de Mars 2013 à Février 2014.

#### 4.3. Population d'étude

La population de cette étude était composée des patients reçus au LRM pour un prélèvement urétral ou vaginal de mars 2013 à février 2014.

#### 4.3.1. Critères d'inclusion

Etaient inclus dans notre étude les patients dont les prélèvements vaginaux (PV) et prélèvements urétraux (PU) ont été effectué au Laboratoire Rodolphe Mérieux.

#### 4.3.2. Critères de non-inclusion

N'étaient pas inclus dans l'étude les patients reçus au LRM dont les prélèvements n'ont pu être effectués comme décrit dans la procédure.

#### 4.3.3. Echantillonnage

Nous avons effectué un échantillonnage exhaustif. Au total 628 prélèvements génitaux ont été effectués chez les patients adressés au Laboratoire Rodolphe Mérieux de Bamako.

#### 4.4. Variables mesurées

Les variables mesurées étaient :

- L'âge,
- le sexe,
- la résidence
- le type de prélèvement,
- le type de germe,
- la résistance aux antibiotiques.

#### 4.5. Méthodes

#### 4.5.1. Matériels et réactifs

#### > Examen microscopique :

- Lame et lamelles
- Pipettes pasteurs
- Huile à immersion
- Micropipettes

- Bec Bunsen
- Microscopique optique
- Plaque chauffante
- Colorants par GRAM.

#### > Isolement et identification

#### Isolement

- Anse de platine
- Bec Bunsen
- Jarre d'incubation (aérobie et anaérobie)
- Etuve à 37°C
- Les milieux de culture : VCA3 ; Gélose ANC ; Gélose Sabouraud+Chloramphénicol ou CAN2 ; Gélose Drigalski ; Gélose COS ; Gélose MSA.

#### • Pré-identification

- Microscope optique
- Lame porte-objet
- Test de l'oxydase (Mode opératoire de la recherche de l'oxydase.cf.annexe n°13)
- Test de la Catalase (Mode opératoire de la recherche de la catalase.cf.annexe n°12)
- Test de Coagulase (Mode opératoire du test de la coagulase.cf.annexe n°8)
- Slidex Strepto Plus. (**Procédure de détection des chlamydiae par le kit Quick vue chlamydia test.cf.annexe n**°5)
- Kit Quikvue Chlamydia Test (Mode opératoire du test de SLIDEX STREPTO PLUS.cf.annexe n°7)

#### > Réalisation de l'antibiogramme

- Les automates : Vitek®2 Compact et Mini Api
- Le Kit Mycoplasma IST2

#### Les antibiotiques testés pour les mycoplasmes uro-génitaux :

Doxycycline, Josamycine, Ofloxacine, Erythromycine, Tétracycline, Ciprofloxacine, Azithromycine, Clarythromycine, Pristinamycine.

#### Les antibiotiques testés pour les Streptocoques bêta-hémolytique du groupe B :

Céfotaxime, Clindamycine, Gentamycine, Lévofloxacine, Moxifloxacine, Vancomycine, Imipenème, Cotrimoxazole, Benzyl pénicilline, Ampicilline, Tétracycline, Erythromycine.

#### Les antibiotiques testés pour Escherichia coli :

Ampicilline, Amoxicilline +Acide clavulanique, Ticarcilline, Céfalotine Céfoxitine, Céfotaxime, Céftazidime, Ertapeneme , Imipenème, Gentamicine, Tobramycine, Acide nalidixique, Ciprofloxacine, Ofloxacine, Cotrimoxazole.

#### 4.5.1.1. Méthodes de laboratoire

#### **4.5.1.1.1. Prélèvement**

Le prélèvement était effectué au laboratoire par écouvillonnage et traité dans les minutes qui suivaient.

#### - Cas du prélèvement vaginal (PV)

Le prélèvement cervico-vaginal a été réalisé au laboratoire avec beaucoup de soin, la patiente en position gynécologique sous speculum et de préférence en dehors des périodes des règles devra éviter toute toilette intime, tout traitement local ainsi que tout rapport sexuel le jour précédant l'examen. (Mode opératoire de la technique du prélèvement Vaginal, Vulvaire, Mycoplasmes et Chlamydia.cf.annexe n°2).

#### - Cas du prélèvement urétral (PU)

Ce prélèvement a été aussi fait avec beaucoup de précaution et avant toute antibiothérapie, de préférence le matin avant la première miction, ou quatre heures après une miction.

(Mode opératoire de la technique de prélèvement urétral, Mycoplasmes et Chlamydia.cf.annexe n°3).

#### 4.5.1.1.2. Examen macroscopique

La texture et la couleur du prélèvement étaient observées à l'œil nu et notées.

#### 4.5.1.1.3. Examen microscopique

A l'état frais, les étapes suivies étaient les suivantes :

- Préparer la suspension : Tube à hémolyse + eau physiologique + écouvillons de prélèvement
- Déposer une goutte de cette suspension sur la lame et la recouvrir d'une lamelle.
- Observer au microscope à l'objectif x10 puis x40 et rechercher : Les *Trichomonas vaginalis*, les levures , les hématies , les leucocytes.

Pour la coloration les étapes étaient les suivantes :

- Retirer la lamelle et mettre la lame à sécher pour la coloration de Gram selon le mode opératoire en annexe
- Déposer une goutte d'huile à immersion sur la lame colorée au Gram
- Observer au microscope à l'objectif x100
- Observer la flore microbienne et rechercher un déséquilibre de cette flore.
- Rechercher les gonocoques qui même si on ne les voit généralement pas dans les prélèvements vaginaux, n'en reste pas moins essentielle contrairement aux prélèvements urétraux.
- Rechercher la présence de clue-cells indicatrices d'une vaginite à *Gardnerella* (image correspondant à des cellules épithéliales tapissées de nombreux petits bacilles gram variables).
- Noter la présence de Mobiluncus : bacilles gram+ fin incurvés en coup d'ongles
- Rechercher la présence de levures et/ou de filaments mycéliens
- Observer les bacilles gram- et/ou de cocci Gram+
- Rechercher les genres *Haemophilus* et les germes banaux : *Staphylococcus aureus*, les *Entérobactéries*, *Neisseria meningitidis*, *Streptocoque*, *Entérocoques* etc....

#### 4.5.1.1.4. Recherche de chlamydia et de mycoplasme

Cette recherche était effectuée sur demande explicite du service clinique (**Mode opératoire** de la recherche de Chlamydia et Mycoplasme. Annexes n°5 et 6).

#### 4.5.1.2. Culture des pathogènes

Faire revenir les milieux de cultures à la température ambiante à savoir :

#### Dans le cas du PV on utilise les milieux suivant:

- VCAT3 (gélose chocolat poly vitex + antibiotique) ou PVX +VCN (incuber à 37°C sous CO<sub>2</sub>);
- Gélose ANC (incuber à 37°C sous CO<sub>2</sub>);
- Gélose Sabouraud +chloramphénicol (ou CAN2) : incubée à 37°C ;
- Gélose Drigalski (incubée à 37°C);

#### Dans le cas du PU on utilise les milieux suivant :

- VCAT3 (gélose chocolat poly vitex + antibiotique) ou PVX +VCN (incuber à 37°C sous CO<sub>2</sub>);
- Gélose COS (incuber à 37°C sous CO<sub>2</sub>);
- Gélose Sabouraud +chloramphénicol (ou CAN2) : incubée à 37°C ;
- Gélose Drigalski (incubée à 37°C);
- Gélose MSA ou Chapman (incubée à 37°C);

Avant d'ensemencer, on écrit la date, le numéro d'identification du patient et l'examen demandé sur la boite de gélose ; ensuite déposer une goutte de la suspension déjà préparée sur la gélose en effectuant avec une pipette pasteur stérile des stries qui permettent d'obtenir des colonies distinctes. Les boites de pétri ensemencé sont incubé à 37°C pendant 24h, voir 48 heures.

#### 4.5.1.3. Identification

La lecture des géloses s'effectue au bout de 24 à 48h puis identifié et faire les antibiogrammes sur les colonies suspectées. Si la culture est stérile après 24h, ré incuber les géloses au sang pour 48h.

**NB** : Dans tous les cas ne jamais faire d'antibiogramme sauf sur demande du médecin après rendu des résultats et discussion avec le biologiste.

- Culture sur gélose VCAT3 : toujours identifié et faire un antibiogramme dans le cas ou on a les *Neisseria gonorrhoeae*.

- Culture sur le milieu CNA: milieu spécifique pour les genres Streptocoques et Staphylocoques.

Si ce sont les Cocci gram positif avec catalase négative, c'est le genre Streptocoque avec production d'une hémolyse de type beta. Faire le Slidex Streptocoque-plus puis faire l'antibiogramme dans le cas du Streptocoque du groupe B chez les femmes enceintes. (**Mode opératoire du test de Slidex Strepto-plus.cf.annexe 7**)

Si ce sont les Cocci gram positif avec catalase positive, c'est le genre Staphylocoque, faire le test de coagulase puis faire l'antibiogramme si présence de Cocci Gram positif à la coloration et pas d'autres pathogènes. (Mode opératoire du test de la coagulase.cf.annexe 8)

**NB**: chez la femme enceinte faire la recherche systématique de streptocoque Bêta hémolytique (identification et Antibiogramme)

- Culture sur gélose CAN2 : Faire l'identification et l'antibiogramme dans le cas des cultures positives.
- Culture sur gélose Drigalski : colonies de types lactose positives ou négatives Faire l'identification et l'antibiogramme si présence de bacilles à Gram négative à la coloration et pas d'autres pathogènes.

**NB**: Chez la femme âgée, les entérobactéries font partie de la microflore normale du vagin.

- Culture sur gélose MSA : Milieu sélectif pour *Staphylococcus aureus* Faire l'identification et l'antibiogramme.

#### 4.5.1.4. Antibiogramme

Les Bactéries ainsi isolées et identifiées sont soumises à un test antibiogramme pour déterminer leur profil de sensibilité aux antibiotiques.

Les identifications et antibiogrammes sont effectués sur : les appareils Vitek2 Compact ou sur le Mini Api (Mode opératoire d'utilisation du Vitek2 Compact et du Mini Api.cf.annexe 9 et 10) et le Kit Mycoplasma IST2 pour les Mycoplasmes (Mode opératoire de la recherche des Mycoplasmes. Annexe 6).

#### 4.5.1.5. Souchage des bactéries multi-résistantes (BMR)

A la fin de l'identification et l'établissement de l'antibiogramme, on procède dans le cas où on observe des germes multi-résistants au souchage des bactéries concernées :

- ✓ Salmonelles
- ✓ *Staphylococcus aureus* (Methicyline, Vancomycine Résistantes)
- ✓ Klebsiella pneumoniae
- ✓ Escherichia coli
- ✓ Pseudomonas aeruginosa (Mode opératoire des souchothèques cf. annexe 11)

#### 4.5.1.6. Recueil des données

Les données sociodémographiques des patients, les résultats des examens cytobactériologiques, des cultures et des antibiogrammes étaient saisies directement dans le logiciel SYSLAM de CODAT informatic, France.

Nous avons extrait nos données à partir de ce logiciel. Les données ont été complétées à partir des dossiers des patients.

#### 4.6. Saisie et analyse des données

Les données ont été saisies et analysées par SPSS Statistics v19.0.1 et nous avons utilisé Microsoft Office Excel 2007 pour l'élaboration des graphiques.

#### 4.7. Aspects éthiques

Les prélèvements ont été traités en respectant les bonnes pratiques de laboratoire.

L'anonymat et la confidentialité des patients ont été respectés conformément aux règles d'éthique médicale et à la législation sur la recherche biomédicale et scientifique.

Tous les résultats positifs étaient communiqués aux médecins traitant les patients chez qui les germes multi-résistants étaient dépistés.

Il n'y a pas de conflit d'intérêt dans cette étude.

### 5. RESULTATS

#### 5.1. Résultats globaux

Les modes opératoires normalisés nécessaires à la réalisation du diagnostic des IST et du dépistage de résistance aux antibiotiques ont été mise à jour et validées.

**Tableau VI:** Les examens bactériologiques des prélèvements vaginaux (PV) et urétraux(PU) au Laboratoire Rodolphe Mérieux de Bamako.

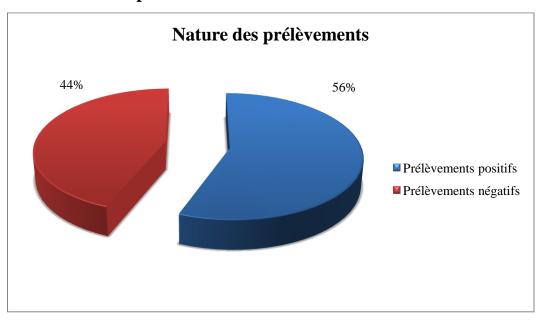
| Numéro des | Type de procédure   |
|------------|---|
| procédures |   |
| 1          | Mode opératoire de l'examen bactériologique du prélèvement vaginal et vulvaire            |
| 2          | Mode opératoire de l'examen bactériologique des prélèvements de pus urétral               |
| 3          | Mode opératoire de la technique du prélèvement vaginal, vulvaire, mycoplasme et chlamydia |
| 4          | Mode opératoire de la technique de prélèvement urétral, mycoplasme et chlamydiae          |
| 5          | Mode opératoire de la technique de coloration de GRAM                                     |
| 6          | Procédure de détection des chlamydiae par le kit Quick vue chlamydia test                 |
| 7          | Mode opératoire de la recherche des mycoplasmes urogénitaux avec le kit mycoplasme IST 2  |
| 8          | Mode opératoire du test de SLIDEX STREPTO PLUS  |
| 9          | Mode opératoire du test de la coagulase   |
| 10         | Mode opératoire de l'utilisation du Vitek 2 Compact                                       |
| 11         | Mode opératoire d'utilisation du MINI API   |
| 12         | Mode opératoire de la technique de SOUCHOTHEQUE   |
| 13         | Mode opératoire de la recherche de la Catalase  |
| 14         | Mode opératoire de la recherche de l'Oxydase  |

Au cours de notre étude, sur 628 prélèvements génitaux réalisés dont 601 PV et 27 PU, 9 différents types de germes ont été isolés dans 351 prélèvements soit 56% du total.

La résistance a été observé chez 171 souches soit 34,20% du total des germes (*Ureaplasma urealyticum*; *Mycoplasma hominis*; Streptocoque bêta-hémolytique du groupe B et *Escherichia coli*).

Une bactérie multi-résistante (BMR) a été retrouvée : Escherichia coli

#### 5.2. Résultats descriptifs



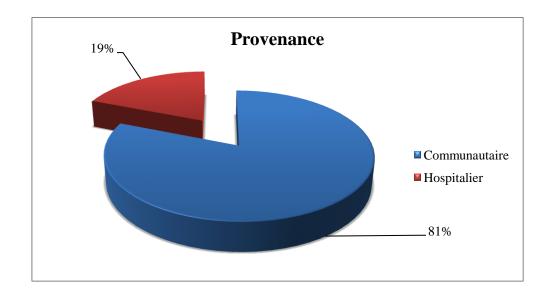
**Figure 1 :** Fréquence des IST chez les patients ayant fait un prélèvement genital au LRM de mars 2013 février 2014.

Nous constatons dans notre étude que 56% des patients reçus au LRM présentaient des IST.

Tableau VII: Fréquence des IST selon les mois au LRM de mars 2013 à février 2014.

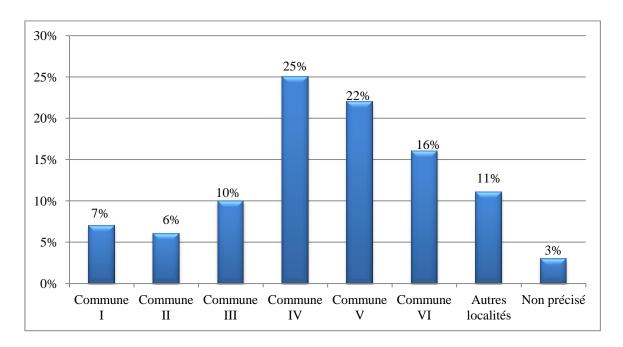
| Mois      |      | Effectifs des IST | Pourcentage des IST |
|-----------|------|-------------------|---------------------|
| Mars      | 2013 | 31                | 8,80                |
|           |      |                   |                     |
| Avril     | 2013 | 26                | 7,40                |
| Mai       | 2013 | 41                | 11,70               |
| Juin      | 2013 | 26                | 7,40                |
| Juillet   | 2013 | 28                | 8                   |
| Août      | 2013 | 24                | 6,80                |
| Septembre | 2013 | 33                | 9,4                 |
| Octobre   | 2013 | 28                | 8                   |
| Novembre  | 2013 | 29                | 8,30                |
| Décembre  | 2013 | 34                | 9,70                |
| Janvier   | 2014 | 25                | 7,10                |
| Février   | 2014 | 26                | 7,40                |
| Total     |      | 351               | 100,0               |

Le plus grand effectif des IST chez les patients reçus au LRM a été observé au mois de mai 2013 avec 41 prélèvements positifs.



**Figure 2 :** Fréquence des IST selon la provenance des patients au LRM de mars 2013 à février 2014.

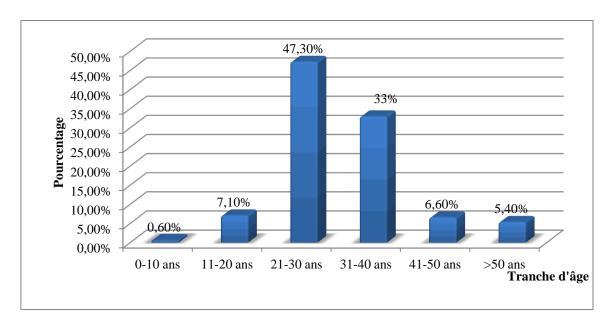
Les patients adressés au LRM provenaient majoritairement des centres communautaires avec 81%.



Autres localités: Cercle de Kati, Cercle de Ouelessebougou, Ségou, Sikasso, Kita.

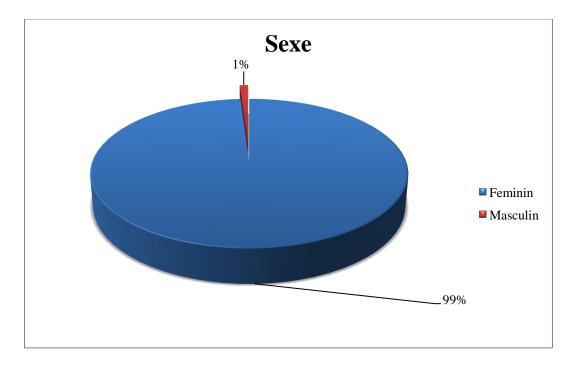
**Figure 3 :** Fréquence des IST chez les patients selon la résidence au LRM de mars 2013 à février 2014.

La majorité des patients présentant les IST provenaient des communes IV, V et VI avec respectivement 25%, 22%, et 16%.



**Figure 4:** Répartition des IST selon les tranches d'âge des patients au LRM de mars 2013 à février 2014.

La moyenne d'âge était de 31,13 ans avec des extrêmes de 3 ans et 74 ans. Cette répartition montre que les sujets de 21-30ans étaient les plus touchés par les IST avec 47,30%.



**Figure 5 :** Répartition des IST en fonction du sexe chez les patients au LRM. Les IST ont été plus retrouvées chez les femmes avec une prédominance de 99%.

#### 5.3. Diagnostic bactériologique

Tableau VIII: Fréquence d'isolement des germes responsables d'IST.

| Germes                                    | Effectifs | Pourcentage |
|---|-----------|-------------|
| Candida albicans                          | 155       | 31          |
| Ureaplasma urealyticum                    | 129       | 25,8        |
| Streptocoque bêta-hémolytique du groupe B | 83        | 16,6        |
| Gardnerella vaginalis                     | 47        | 9,40        |
| Candida non albicans                      | 44        | 8,80        |
| Mycoplasma hominis                        | 32        | 6,40        |
| Trichomonas vaginalis                     | 6         | 1,20        |
| Escherichia coli                          | 3         | 0,60        |
| Streptocoque bêta-hémolytique du groupe A | 1         | 0,20        |
|   |           |             |
| Total                                     | 500       | 100,0       |

Au total 500 germes associés aux IST ont été isolés. Les principaux sont : *Candida albicans*, *Ureaplasma urealyticum* et les Streptocoques bêta-hémolytique du groupe B représentaient 73,40% des IST.

#### 5.4. Profil de résistance des principales bactéries aux antibiotiques

**Tableau IX:** Profil de résistance aux antibiotiques des souches d'Ureaplasma urealyticum isolées des prélèvements génitaux des patients reçus au LRM de mars 2013 à février 2014

| Antibiotiques   | Sensible | Intermédiaire | Résistant           | TOTAL |
|-----------------|----------|---------------|---------------------|-------|
| Doxycycline     | 99       | 7             | 23 (17,8%)          | 129   |
| Josamycine      | 120      | 9             | 0 (0%)              | 129   |
| Ofloxacine      | 15       | 97            | 17 <b>(13,2%)</b>   | 129   |
| Erythromycine   | 45       | 50            | 34 <b>(26,4%)</b>   | 129   |
| Tétracycline    | 85       | 6             | 38 <b>(29,5%)</b>   | 129   |
| Ciprofloxacine  | 7        | 37            | 85 ( <b>65,9%</b> ) | 129   |
| Azithromycine   | 32       | 70            | 27 <b>(21%</b> )    | 129   |
| Clarythromycine | 56       | 43            | 30 <b>(23,3%)</b>   | 129   |
| Pristinamycine  | 126      | 3             | 0 (0%)              | 129   |

Les souches d'*Ureaplasma urealyticum* ont montré une résistance élevée à la Ciprofloxacine (65,9%), la Tétracycline (29,5 %) et l'Erythromycine (26,4%), moins marquée à l'Azithromycine (21%), la Doxycycline (17,8%) et l'Ofloxacine (13,2%). Aucune résistance des souches n'a été observée à la Pristinamycine et la Josamycine.

**Tableau X :** Profil de résistance aux antibiotiques des souches de *Mycoplasma hominis* isolées des prélèvements génitaux des patients reçus au LRM de mars 2013 à février 2014

| Antibiotiques   | Sensible | Intermédiaire | Résistant           | TOTAL |
|-----------------|----------|---------------|---------------------|-------|
| Doxycycline     | 23       | 0             | 9 (28,1%)           | 32    |
| Josamycine      | 26       | 6             | 0 (0%)              | 32    |
| Ofloxacine      | 1        | 22            | 9 (28,1%)           | 32    |
| Erythromycine   | 1        | 6             | 25 <b>(78,1%)</b>   | 32    |
| Tétracycline    | 11       | 4             | 17 <b>(53,1%</b> )  | 32    |
| Ciprofloxacine  | 1        | 1             | 30 ( <b>93,8%</b> ) | 32    |
| Azithromycine   | 0        | 12            | 20 ( <b>62,5%</b> ) | 32    |
| Clarythromycine | 4        | 6             | 22 ( <b>68,8%</b> ) | 32    |
| Pristinamycine  | 31       | 0             | 1 (3,1%)            | 32    |

Les résistances les plus élevées ont été observé à la Ciprofloxacine (93,8%), l'Erythromycine (78,1%), la Clarythromycine (68,8%), l'Azythromycine (62,5%), moins élevée à la Tétracycline (53,1%), l'Ofloxacine (28,1%) et la Doxycycline (28,1%), faible à la Pristinamycine (3,1%). Aucune résistance à la Josamycine.

**Tableau XI:** Profil de résistance aux antibiotiques des souches de *Streptococcus* agalactiae isolées des prélèvements génitaux des femmes enceintes reçus au LRM de mars 2013 à février 2014.

| Antibiotiques      | Sensible | Intermédiaire | Résistant      | Total |
|--------------------|----------|---------------|----------------|-------|
| Céfotaxime         | 3        | 0             | 0 (0%)         | 3     |
| Clindamycine       | 1        | 0             | 3 <b>(75%)</b> | 4     |
| Gentamycine        | 2        | 1             | 0 (0%)         | 3     |
| Lévofloxacine      | 5        | 1             | 1 (14%)        | 7     |
| Moxifloxacine      | 5        | 0             | 1 (17%)        | 6     |
| Vancomycine        | 6        | 0             | 1 (14%)        | 7     |
| Imipenème          | 2        | 0             | 0 (0%)         | 2     |
| Cotrimoxazole      | 3        | 0             | 1 (25%)        | 4     |
| Benzyl pénicilline | 4        | 0             | 2 (33%)        | 6     |
| Ampicilline        | 4        | 0             | 0 (0%)         | 4     |
| Tétracycline       | 0        | 0             | 7 (100%)       | 7     |
| Erythromycine      | 3        | 0             | 0 (0%)         | 3     |

On a noté des résistances élevées à la tétracycline (100%), à la Clindamycine (75%) et à la Benzyl pénicilline (33%), moins élevée à la Cotrimoxazole (25%), à la Moxifloxacine (17%), à la lévofloxacine et la Vancomycine (avec respectivement 14%).

Aucune résistance n'a été observée à la Céfotaxime, l'Imipenème, l'Ampicilline et l'Erythromycine.

**Tableau XII :** Profil de résistance aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli* isolées des prélèvements génitaux des patients reçus au LRM de mars 2013 à février 2014

| Antibiotiques      | Sensible | Intermédiaire | Résistant | TOTAL |
|--------------------|----------|---------------|-----------|-------|
| Ampicilline        | 0        | 0             | 3 (100%)  | 3     |
| Amoxicilline/Acide | 1        | 0             | 2 (66,7%) | 3     |
| clavulanique       |          |               |           |       |
| Ticarcilline       | 0        | 0             | 3 (100%)  | 3     |
| Céfalotine         | 1        | 1             | 1 (33,3%) | 3     |
| Céfoxitine         | 2        | 0             | 1 (33,3%) | 3     |
| Céfotaxime         | 2        | 0             | 1 (33,3%) | 3     |
| Céftazidime        | 2        | 0             | 1 (33,3%) | 3     |
| Ertapeneme         | 3        | 0             | 0 (0%)    | 3     |
| Imipenème          | 3        | 0             | 0 (0%)    | 3     |
| Gentamicine        | 2        | 0             | 1 (33,3%) | 3     |
| Acide nalidixique  | 1        | 0             | 2 (66,7%) | 3     |
| Ciprofloxacine     | 1        | 0             | 2 (66,7%) | 3     |
| Ofloxacine         | 1        | 0             | 2 (66,7%) | 3     |
| Cotrimoxazole      | 1        | 0             | 2 (66,7%) | 3     |

On a observé des résistances très élevées à l'Ampicilline (100%), Ticarcilline (100%), l'Amoxicilline+Acide clavulanique, l'Acide nalidixique, Ciprofloxacine, Ofloxacine, Cotrimoxazole (avec chacun 66,7%), Moins élevée à la Céfalotine, Céfoxitine, Céfotaxime, Céftazidine et la Gentamycine (avec chacun 33,3%), pas de résistance observée à l'Ertapenème et l'Imipenème.

# 6. COMMENTAIRES ET DISCUSSION

Notre étude s'est déroulée du 1<sup>er</sup> mars 2013 au 28 février 2014, période au cours de laquelle nous avons analysé 628 prélèvements génitaux constitués de prélèvements vaginaux et urétraux. Nous avons eu 351 prélèvements positifs avec en total neuf différents types de germes.

## 6.1. Respect des directives internationales pour le diagnostic des IST en laboratoire

Le LRM dispose de techniciens et biologistes qualifiés qui suivent des formations régulières indispensables pour améliorer la qualité des services de laboratoire.

En outre, le LRM utilise des modes opératoires normalisés, des instruments et produits consommables appropriés pour produire des données fiables visant à soutenir la surveillance de la pharmaco-résistance.

Le laboratoire est aussi engagé dans un processus d'évaluation externe de la qualité

#### 6.2. Données épidémiologiques

#### 6.2.1. Nature des résultats selon les prélèvements génitaux réalisés

Dans notre étude, nous avons observé une fréquence des IST de 56% chez les patients venus pour diagnostic et 44% présentaient des prélèvements négatifs. La grande prévalence des IST dans les pays en développement s'explique par de nombreux facteurs tels que le grand nombre de sujets jeunes, âgés de moins de 25ans, les difficultés d'accès aux soins, les traitements tardifs et inadaptés, le multi partenariat sexuel et les conséquences de migrations de populations et des conflits armés [2].

#### 6.2.2. Infections sexuellement transmissibles et âge :

Dans notre étude, la tranche d'âge la plus atteinte par les IST était celle de 21-30 ans avec 47,30%; les extrêmes étant de 3 et 74 ans avec une moyenne de 31,13 ans.

Ces résultats se rapprochent de ceux obtenus par **DIAWARA. SS** [26] et **MOUKRAD.N** and al. [27], selon lesquels respectivement les tranches d'âge 21-30 ans avec 47, 70% et 20-30 ans avec 38% étaient les plus représentées.

Ces résultats peuvent s'expliquer par le fait que ce sont les tranches d'âge les plus actives sexuellement et par conséquent les plus susceptibles de contracter des maladies vénériennes.

#### **6.2.3.** Infections sexuellement transmissibles et sexe:

Dans notre étude, la fréquence élevée des infections génitales chez les sujets de sexe féminin avec 99% par rapport à celle des hommes avec 1% est en concordance avec celle rapportée par DIARRA. L [28] qui a noté dans son échantillonnage que le sexe féminin était nettement plus représenté avec 94,24% contre 5,76% de sexe masculin.

Par ailleurs **DIAWARA.SS** [26] a également trouvé une prédominance féminine mais de 67,89% seulement contre 32,11% chez les hommes.

Les femmes ont beaucoup plus de risques d'infections basses que les hommes, du fait de leur nature anatomique et physiologique plus favorable aux infections génitales et urinaires.

#### **6.3.** Isolement des germes

#### 6.3.1. Fréquence d'isolement des germes

Candida albicans, Ureaplasma urealyticum, et Streptococcus agalactiae représentaient 73,40% des germes isolés dans les infections génitales au LRM.

Candida albicans est le germe le plus isolé avec 31% suivi de Ureaplasma urealyticum avec 25,80%; les Streptocoques bêta-hémolytique du groupe B avec 16,60%, Gardnerella vaginalis avec 9,40%, Candida non albicans avec 8,80%, Mycoplasma hominis avec 6,40%, Trichomonas vaginalis avec 1,20%, Escherichia coli avec 0,60%, Streptocoques bêta-hémolytique du groupe A avec 0,20%.

Cependant, nous n'avons détecté ni *Neisseria gonorrhoeae* ni *Chlamydia trachomatis* qui sont parmi les principales bactéries responsables d'IST.

Leur absence et la rareté de *Trichomonas vaginalis* pendant notre période d'étude pourrait s'expliquer par l'efficacité de la prise en charge syndromique des IST recommandé par l'OMS au Mali. Une autre explication pourrait être l'automédication rendant difficile l'isolement des germes au laboratoire.

Les résultats de notre étude se rapprochent de ceux obtenus par **TRAORE OA.** [21] qui a trouvé 34% de *Candida albicans*, 10% de *Gardnerella vaginalis* et 5% de *Trichomonas vaginalis*.

Par ailleurs, SISSOKO M. [29] a trouvé 44,40% de *Candida albicans*, 11,10% de *Gardnerella vaginalis* et de *Trichomonas vaginalis* et **DJIGMA WENDKUUNI F. [30]** a noté 47,80% de *Candida albicans* et 7,5% de Streptocoques bêta-hémolytique du groupe B.

Les proportions importantes de *Ureaplasma urealyticum* et de *Mycoplasma hominis* obtenues ne sont pas étonnantes vue que ces bactéries font partie de la flore commensale et leur fréquence d'isolement est directement lié à l'activité sexuelle.

Les streptocoques bêta-hémolytique du groupe B avec **16,60%** font également partie de la flore commensale « opportuniste » dont la prolifération anormale participe à l'instauration d'un syndrome clinique **[6]** particulièrement chez la femme enceinte.

#### 6.4. Résistance des principales bactéries aux antibiotiques

#### 6.4.1. Fréquence de la résistance :

#### **6.4.1.1.** Mycoplasmes uro-génitaux

Les souches d'*Ureaplasma urealyticum* ont affiché une résistance élevée à la Ciprofloxacine (65,9%) et à la Tétracycline (29,5%), suivi de l'Erythromycine (26,4%), Clarythromycine (23,3%), l'Azithromycine (20,9%), Doxycycline (17,8%), l'Ofloxacine (13,2%).On n'observe aucune résistance de ces souches à la Pristinamycine et Josamycine.

Les souches de *Mycoplasma hominis* ont montré une résistance marquée à la Ciprofloxacine (93,8%) et l'Erythromycine (78,1%) suivi de Clarythromycine (68,8%), l'Azithromycine (62,5%), Tétracycline (53,1%), l'Ofloxacine et Doxycycline avec 28,1%. On observe une faible résistance des souches à la Pristinamycine avec 3,12% et aucune résistance à la Josamycine.

AG BARIAKA M. [31]a obtenu dans son étude une résistance des souches d'*Ureaplasma urealyticum* de 71,90% à la Ciprofloxacine et 20,50% à l'Ofloxacine, ce qui se rapproche des taux de résistance obtenus dans notre étude sauf pour les souches de *Mycoplasma hominis* qui ont montré une résistance de 24,8% à la Ciprofloxacine et 11% à l'Ofloxacine.

Le pourcentage élevé de résistance aux fluoroquinolones des souches isolées, pourrait être lié aux prescriptions fréquentes de ces médicaments par les médecins dans le traitement des infections des voies urinaires, respiratoires et autres.

Nos souches d'*Ureaplasma urealyticum* et *Mycoplasma hominis* étaient sensibles respectivement à la Pristinamycine (97,8% et 96,9%) et à la Josamycine (93% et 81,3%).

#### 6.4.1.2. Streptocoques bêta-hémolytique du groupe B :

Les résistances les plus élevées ont été observées pour la Tétracycline (100%), Clindamycine (75%) et la Benzyl pénicilline (33%).

On a observé une activité limitée aux antibiotiques suivants : Le Cotrimoxazole (25%), la Moxifloxacine (17%), la Lévofloxacine et la Vancomycine (avec respectivement 14%).

Nos souches n'ont pas montré de résistance et étaient toutes sensibles à la Céfotaxime, l'Erythromycine, la Gentamycine, l'Imipenème et l'Ampicilline.

**FERJANI A and al.** [32] ont trouvé une résistance de 97,4%, à la Tétracycline, et la Céfotaxime était sensible. Ce résultat se rapproche des taux de résistance obtenus dans notre étude. Pour les autres antibiotiques, ils ont obtenu un taux de résistance de 51,30% à l'Erythromycine. Le Benzyl pénicilline, la Céfotaxime, la Vancomycine, le Lévofloxacine étaient sensibles.

Une autre étude [33] a montré que la prévalence de la résistance se situe entre 25% et 32% dans le cas de l'Erythromycine et entre 13% et 20% pour la Clindamycine contrairement à notre étude où on n'a pas noté de résistance à l'Erythromycine et le taux de résistance à la Clindamycine était supérieur avec 75%.

Des études japonaises réalisées par **KIMURA K. and al.** font état d'émergence de souche à sensibilité diminuée à la pénicilline et aux Céphalosporines de 3<sup>è</sup> génération [34], dans notre étude on n'a pas observé de perte de sensibilité aux C3G (Céfotaxime).

#### 6.4.1.3. Escherichia coli

Les trois souches isolées d'*Escherichia coli* dont une BMR isolé dans un PU (annexe 13) durant notre période d'étude, sont caractérisées par une sensibilité affaiblie aux antibiotiques, associée d'une multi-résistance élevée : 100% de taux de résistance pour l'Ampicilline et la Ticarcilline, 66,7% pour l'association Amoxicilline + acide clavulanique, l'Acide nalidixique, Ciprofloxacine, l'Ofloxacine et le Cotrimoxazole.

On a obtenu une activité limitée avec 33,3% pour chacun de ces antibiotiques : Céfalotine, Céfoxitine, Céfoxaime et Céftazidine.

MOUKRAD N and al.[27] dans leur étude en 2010 ont trouvé 75% de taux de résistance pour l'Ampicilline, l'association Amoxicilline+ acide clavulanique avec 68%, Cotrimoxazole avec 60% et 26% pour la Gentamycine, ce qui est comparable à nos résultats sauf pour l'Imipenème (4%) et la Céftazidine (16%).

Nos souches n'ont pas montré de résistance à l'Imipenème et l'Ertapenème.

L'augmentation de la résistance d'*Escherichia coli* aux antibiotiques s'explique par l'usage inadéquat de ceux-ci qui favorise la sélection de souches résistantes et de plus en plus virulentes et incurables.

# 7. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

#### 7.1. Conclusion

Au terme de notre étude, nous avons isolé une souche multi-résistante et effectué la mise en place d'une souchothèque. Le Laboratoire Rodolphe Mérieux de Bamako dispose désormais d'un système de surveillance des résistances aux antibiotiques des bactéries associées aux infections sexuellement transmissibles au Mali conformément aux normes recommandés par le bureau régional de l'OMS pour l'Afrique.

#### 7.2. Recommandations

Nous formulons les recommandations suivantes :

#### A l'endroit du CICM:

Entretenir le système d'assurance de la qualité au laboratoire qui garantira une plus grande fiabilité et reproductibilité des résultats.

- ❖ A l'endroit des autorités sanitaires :
  - Mettre en place une politique nationale d'utilisation et de prescription des antibiotiques.
  - Renforcer les capacités en matière d'étude de la résistance.
  - Etablir la collaboration entre les hôpitaux et le LRM.

#### ❖ A l'endroit des prescripteurs :

Adopter une meilleure politique de prescription en se fondant sur les résultats des antibiogrammes mis à leur disposition.

#### ❖ A l'endroit des pharmaciens d'officine :

Ne délivrer les antibiotiques que sur prescription médicale.

#### A l'endroit des utilisateurs :

Respecter les modalités d'administration et éviter l'automédication.

# 8. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1. BUSZA J. Infections du tractus génital. The population Council; 2002 [Cited 2014 Apr 15]. Available from: http://www.popcouncil.org/uploads/pdfs/frontiers/RTIfactsheets\_fr/RTI\_fr.pdf
- 2. ADEHOSSI E, BA FALL K, PICHARD E, DELMONT J. e-Pilly TROP Maladies infectieuses tropicales. Web. Paris: CMIT et Alinéa Plus; 2012 [cited 2013 Oct 1]. 975 p. Available from: (http://www.infectiologie.com/site/livres.php).
- 3. (OMS. Stratégie mondiale de lutte contre les infections sexuellement transmissibles : 2006–2015.2007. Available from: http://whqlibdoc.who.int/publications/2007/9789242563474\_fre.pdf)
- 4. OMS | Infections sexuellement transmissibles. WHO. [Cited 2014 May 24]. Available from: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs110/fr/.
- 5. BOUTIBA I, GHOZZ R, JOUAIHIA W, MAHJOUBI F and al. Resistance bactérienne aux antibiotiques en Tunisie : données de 1999 a 2003. Tunis Infect. 2007 Sep;1(4) : 5 –11.
- 6. CATALAN F, MILOVANOVIC A, MINZ M, PETAVY-MAYNIER M-F. Cahier de Formation-Biologie médicale-Vaginites et Vaginoses. 19th ed. Paris: Bioforma; 2000. 120 p.
- 7. BERGOGNE-BEREZIN E. Flores vaginales normales, vaginites et vaginoses bactériennes:diagnostic et thérapeutiques.9th ed.2007 .139-144 p.
- 8. REDONTO-LOPEZ V, COOK R, SOBEL J. Emerging role of lactobacillii in the control and maintenance of vaginal bacterial microflora. Infect Dis. 1990; 12:856–72.
- 9. HILL G, ST CLAIRE K, GUTMAN L. Anaerobes predominate among the vaginal microflora of prepubertal girls. Clin Infect Dis. 1995; 20:269–70.
- 10. HILLIER SL, LAU RJ. Vaginal microflora in post menopausal women who have not received oestrogen replacement therapy. Clin Infect Dis. 1997; 27:123–6.
- 11. BRUNHAM RC, HOLMES KK, EMBREE JE. Sexually transmitted diseases in pregnancy. New york; 1990. 771-802 p.
- 12. VEXIAU-ROBERT D, VIRABEN R, JANIER M, DERANCOURT C. Leucorrhée. 2006;133(2):47–8.
- 13. LOULERGUE J, COUHE C, GRASMICK C, LAUDAT P. Sensibilité aux antibiotiques des souches de streptocoque du groupe B de portage vaginal en France. 2003;69–70.

- 14. KROHN MA, THWIN SS, RABE LK, BROWN Z. Vaginal colonization by *Escherichia coli* as a risk factor for very low birth weigh delivery and other perinatal complications. JInfect Dis. 1997;175:606–10.
- RAMANANTSOA C, CHATELLIER S, HARRIAU P, BERGER C. Use of DNA typing method to investigate a fatal perinatal infection due *Staphylococcus aureus*. Euro J Obstet Gynecol Rep Biol.1997; 74:15–7.
- 16. QUENTIN R, MUSSER JM, MELLOUET M, SIZARET P. Typing of urogenital, maternal, and neonatal isolates of *Haemophilus influenzae* and *Haemophilus parainfluenzae* in corelation with clinical source of isolation and evidence for genital specificity of *Haemophilus influenzae* biotype IV. JClin Microbiol. 1989;27:2286–94.
- Societé française de Microbiologie. REMIC: Référentiel en Microbiologie Médicale. 2nd ed. 2M2-Montmorency; 198 p.
- 18. FAUCHERE JL, AVRIL JL. Principales analyses pratiquées en biologie médicale. Bactériologie générale et médicale. Paris: Ellipses; 2002. p. 210.
- 19. DOLIVO M, HENRY-SUCHET J, ORFILA J. Maladies transmissibles par voies sexuelles. 2nd ed. Paris: Masson; 1997. 160 p.
- 20. ABEYEWICKREME Y, NDOWA F, SAMUELSON J, TOSKIN I. Stratégies et méthodes analytiques pour le renforcement de la surveillance des infections sexuellement transmissibles 2012. suisse: OMS; 2013. 108 p.
- 21. TRAORE OA. Infections génitales basses colligées à la consultation externe à l'hôpital Nianankoro-fomba de Ségou. Université de Bamako, Thèse de médecine N°249; 2009.
- 22. LATRILLE J. Les Mycoplasmes. Bactériologie médical Leon le Minor. Flammarion. Paris; 1982. p. 758–66.
- 23. WEINBRECK P, CHIDIAC C, CHOUTET P, DELMONT J. LE POPI: Maladies Infectieuses et Tropicales. 9th ed. paris: Vivactis Plus; 2007.
- 24. (TALBERT M, WILLOQUET G, GERVAIS R. Pharmaco clinique. Le guide. Paris: Le moniteur des pharmacies; 2009. 1063 p).
- 25. FAUCHERE JL, Avril JL. Bactériologie générale et médicale. Paris: Ellipses; 2002.

- 26. DIAWARA SS. Evaluation de l'efficacité du traitement des IST selon l'approche syndromique au CSCOM de Banconi à Bamako au mali a propos de 218 cas. Université de Bamako, Thèse de médecine N°441;2008.
- 27. MOUKRAD N, RHAZI FILALI F, MAKOUDI Y. Infections génitales et évolution dans le temps de la multi-résistance aux antibiotiques chez *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, dans la ville de Meknes (Maroc). Sci Ed Mersenne. 2013 Jun; 5 (130611): 1–16.
- 28. DIARRA L. Profils épidémio-cliniques des IST et évaluation de la prise en charge syndromique au CSRef de la commune V.Bamako-Mali. Université de Bamako, Thèse de médecine N°13, 2001.
- 29. SISSOKO M. Etude de la prise en charge du syndrome écoulement vaginal et/ou douleur abdominale basse au centre de sante de référence de la commune IV. université de Bamako, Thèse de Médecine N°324; 2008.
- 30. DJIGMA WENDKUUNI F. Caractérisation moléculaire des papillomavirus humains et leurs coinfections avec les mycoplasmes chez les femmes VIH-séropositives et négatives à Ouagadougou. École Doctorale Sciences et Technologies OUAGADOUGOU; 2011. Available from: http://www.cerbafaso.org/textes/DEA\_Tese/these\_Flo\_HPV\_VIH\_mycoplasma\_2011.pdf
- 31. AG BARIAKA M. Profils de résistance aux fluroquinolones des souches de *Mycoplasma hominis et Ureaplasma spp.* [Gabon]: Ecole doctoral régional Gabon N°0001; 2012.
- 32. FERJANI A, BEN ABDALLAH H, BEN SAIDA N, GOZZI C and al. Portage vaginal de *Streptococcus agalactiae* chez la femme enceinte en Tunisie : facteurs de risque et sensibilité aux antibiotiques des isolats. Bull Soc Pathol Exot. 2006;99(2):99–102.
- 33. MONEY D, ALLEN VM. Prévention de l'infection néonatale à streptocoques du groupe B d'apparition précoce. J Obstet Gynaecol Can. 2013;35(10 suppl. élec. B):e1-e11.
- 34. KIMURA K, SUZUKI S, WACHINO J. First molecular characterization of group B streptococci with reduced penicillin susceptibility. Antimicrob Agents Chemoth. 2008;52:2890–7.

Fiche signalétique

Nom: SOGODOGO

Prénom: Elisabeth

Adresse: Elisabethsogodogo@Yahoo.fr

Nationalité : Malienne

TITRE : Mise en place de la surveillance des résistances aux antibiotiques des bactéries

associées aux infections sexuellement transmissibles au Laboratoire Rodolphe Mérieux

de Bamako.

Année académique : 2013-2014

Ville de soutenance : Bamako

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la faculté de médecine, de pharmacie et

d'odonto-stomatologie, Bamako.

Secteur d'intérêt : Bactériologie, Gynécologie, Infectiologie.

Résumé

La présente étude avait pour objectif de mettre en place un système de surveillance des

résistances aux antibiotiques des bactéries associées aux infections sexuellement

transmissibles au Laboratoire Rodolphe Mérieux de Bamako (LRM).

L'étude prospective, réalisée au LRM, a porté sur les germes isolés des prélèvements

vaginaux et urétraux, de mars 2013 à février 2014.

La sensibilité aux antibiotiques a été déterminée avec les automates Vitek 2 Compact et le

Mini Api; on a aussi utilisé le Kit Mycoplasma IST2.

Nos résultats ont montré que sur 628 prélèvements effectués, 351 présentaient des IST soit

56% du total des prélèvements. Concernant l'âge, 47,30% des patients sont classés dans

l'intervalle compris entre 21-30 ans.

Neuf différents types de germes ont été identifiés ; *Candida albicans* (31%) est le plus fréquemment isolé suivi d'*Ureaplasma urealyticum* (25,80%) et les Streptocoques bêta-hémolytique du groupe B (16,60%).

La sensibilité aux antibiotiques a été déterminée pour les mycoplasmes uro-génitaux, les Streptocoques bêta-hémolytique du groupe B et les souches d'*Escherichia coli*.

Les souches d'*Ureaplasma urealyticum* et *Mycoplasma hominis* ont montré une résistance marquée aux Fluoroquinolones mais gardent une bonne sensibilité à la Pristinamycine et Josamycine.

Concernant les Streptocoques bêta-hémolytique du groupe B, les résistances les plus élevées ont été observées pour la Tétracycline, la Clindamycine et la Benzylpénicilline.

Les souches d'*Escherichia coli* ont montré une acquisition de résistances multiples affectant les Aminopénicillines, les Fluoroquinolones, le Cotrimoxazole et les Céphalosporines. Elles sont restées sensibles à l'Imipenème et l'Ertapenème.

La surveillance des résistances aux antibiotiques des principales bactéries impliquées dans les infections sexuellement transmissibles a permis d'identifier une bactérie multi-résistante parmi les souches d'*Escherichia coli*.

La surveillance des résistances aux antibiotiques au LRM doit être constante afin de limiter la progression de la multi-résistance bactérienne.

**Mots clés:** Infections sexuellement transmissibles, antibiotiques, Laboratoire Rodolphe Mérieux, Résistance.

**Descriptive card** 

Name: SOGODOGO

First name: Elisabeth

Address: Elisabethsogodogo@Yahoo.fr

**Nationality: Malian** 

TITLE: Establishment of antibiotic resistance monitoring system for bacteria associated with sexually transmitted infections in the Rodolphe Mérieux Laboratory Bamako

Academic year: 2013-2014

Place of deposit: Library of the faculty of medicine, pharmacy and odonto-stomatology.

Sector of interest: bacteriology, gynecology, Infectious Diseases.

**Abstract** 

This study aimed to establish a monitoring system of antibiotic resistance associated with sexually transmitted infections at the Rodolphe Mérieux Laboratory in Bamako (LRM).

We conducted a prospective study at LRM, focused on germs isolated from vaginal swabs and urethral specimens, from March 2013 to February 2014.

Antibiotic susceptibility was determined using the Vitek 2 Compact and the Mini Api; we also used the Mycoplasma kit IST2.

Our results showed that out of 628 samples collected, 351(56%) had STI. Forty seven percent of our patients were between 21 and 30 years old.

Nine different types of germs were identified; Candida albicans (31%) was the most frequently isolated followed by *Ureaplasma urealyticum* (25.80%) and beta-hemolytic streptococcus group B (16.60%).

Antibiotic susceptibility was determined for urogenital mycoplasmas; beta-hemolytic streptococci group B and Escherichia coli.

*Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* strains showed marked resistance to Fluoroquinolones but had a good sensitivity to Pristinamycin and Josamycin.

About group B beta-hemolytic streptococcus, the highest resistance was observed for Tetracycline, Clindamycin and Benzylpenicillin.

Strains of *Escherichia coli* showed multiple resistances affecting Aminopenicillins, fluoroquinolones, cephalosporins and Cotrimoxazol. They remained susceptible to Imipenem and Ertapenem.

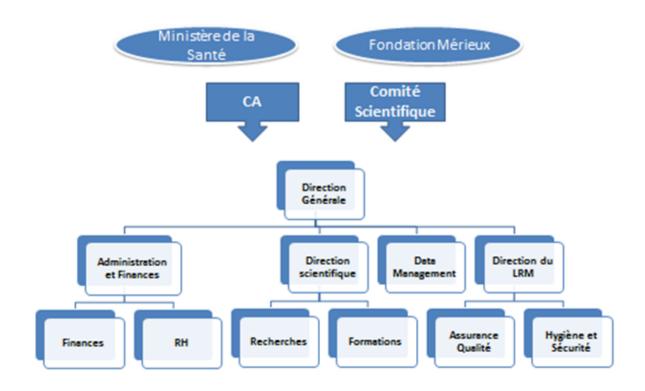
Surveillance of antibiotic resistance of the main bacteria involved in sexually transmitted infections identified multidrug-resistant bacteria among strains of Escherichia coli.

Surveillance of antibiotic resistance in LRM must be constant to limit the progression of multidrug resistance bacteria.

**Keywords:** Sexually Transmited Infections, antibiotics, Rodolphe Mérieux Laboratory, resistance

#### **ANNEXES**

### Annexe 1 : Organigramme du CICM



ORGANIGRAMME DU C.I.CM

Figure 6 : Organigramme du CICM



# Annexe 2: Mode opératoire de la technique du prélèvement vaginal, vulvaire, mycoplasme et chlamydia -Version n° 1

| Rédigé le:                | 25/07/2013 | Par : Elisabeth SOGODOGO | ES |       |
|---------------------------|------------|--------------------------|----|-------|
| Vérifié le:               | 26/07/2013 | Par : Nana Kadidia KEITA | NK | Visa: |
| Approuvé le:              |            | Par : Dr Daniel YALCOUYE | DY | Visa: |
| Modifié le:               |            | Par:                     |    |       |
| Vérifié le :              |            | Par:                     |    | Visa: |
| Approuvé le:              |            | Par:                     |    | Visa: |
| Diffusé le :              |            |                          |    |       |
| Objet de la modification: |            |                          |    |       |
| Archivé le :              |            |                          |    |       |

| Dagger   |            |
|----------|------------|
| Document | Drovisoire |

X Document opérationnel

## **Destinataires**

| D. YALCOUYE | N. KEITA  | A. MAIGA  | A. CISSE    | A. TOURE   |
|-------------|-----------|-----------|-------------|------------|
| O. HAIDARA  | L. SIDIBE | K. DIARRA | J.OUEDRAOGO | B. KANOUTE |

**Exemplaires:** - Classeur Assurance Qualité

- Classeur de Bactériologie

#### **Documents Qualité liés:**

MAQ: Manuel Assurance Qualité du LRM de Bamako

P: Procédure de la réalisation des analyses en bactériologie

MO:

D:

**E**:

#### I - Buts

Décrire le mode opératoire de la technique du prélèvement vaginal, vulvaire, mycoplasme et Chlamydia.

#### II- Domaines et personnels concernés

Secteur de Bactériologie. Tout le personnel susceptible d'utilisé ce prélèvement.

#### **III - Abréviations/Définitions**

LRM: Laboratoire Rodolphe Mérieux

#### IV – Références

#### V – Contenu

# MODE OPERATOIRE DE LA TECHNIQUE DU PRELEVEMENT VAGINAL, VULVAIRE, MYCOPLASME ET CHLAMYDIA

#### 1. Condition

- Le prélèvement sera de préférence réalisé au laboratoire.
- Avant le prélèvement, il est impératif de ne pas procéder à une toilette intime qui éliminerait la majeure partie de la flore vaginale que l'on se propose justement d'examiner.
- Ne pas avoir de rapport sexuel la veille de l'examen.
- Le prélèvement doit être effectué en dehors des règles.

#### 2. Prélèvement

Tous les prélèvements vulvo-vaginaux doivent se faire avec une bonne visualisation donc sur table gynécologique et avec un spéculum.

- Il est essentiel que la patiente soit détendue car, si elle est crispée, le col de l'utérus bascule vers l'arrière et il sera impossible de visualiser son orifice.
- Pour ce faire on laissera la patiente s'installer elle-même, tranquillement, sur la table d'examen
- Faire plier les genoux en écartant les cuisses
- Dégager le sphincter vaginal et engager délicatement le spéculum stérile fermé (à usage unique)
- Le spéculum sera doucement poussé en avant et progressivement ouvert
- Lorsqu'on aura dépassé la première moitié du vagin on le fera tourner d'un quart de tour
- Modifier l'enfoncement ou l'inclinaison jusqu'à ce que le col soit visible
- Bloquer le spéculum.
- On effectuera les écouvillonnages selon les recherches que l'on souhaite effectuer. Sont essentiellement recherchés :

- o au niveau de l'endocol, Chlamydia trachomatis
- o au niveau de l'exocol, Mycoplasme
- o au niveau des culs de sac pour rechercher les Neisseria gonorrhoeae
- o au niveau des parois vaginales pour rechercher *Trichomonas vaginalis*, entérobactéries, vaginites non spécifique

#### <u>NB</u>:

- Ne pas prélever au niveau de l'endocol chez la femme enceinte
- Il faudra dans tous les cas éviter le contact de l'écouvillon avec les parois vaginales.



# Annexe 3: MODE OPERATOIRE DE LA TECHNIQUE DE PRELEVEMENT URETRAL, MYCOPLASME ET CHLAMYDIAE -Version $N^{\circ}$ 1

| Rédigé le:    | 25/07/2013 | Par : Elisabeth SOGODOGO  | ES |             |
|---------------|------------|---------------------------|----|-------------|
| Redige le.    | 23/07/2013 | rai . Elisabetti SOGODOGO | ES |             |
| TT ( 10 ( 1   | 25/05/2012 | D 11 17 11 11 17 17 17 1  |    | ***         |
| Vérifié le:   | 26/07/2013 | Par : Nana Kadidia KEITA  | NK | Visa:       |
|               |            |                           |    |             |
| Approuvé le:  |            | Par : Dr Daniel YALCOUYE  | DY | Visa:       |
|               |            |                           |    |             |
| Modifié le:   |            | Par:                      |    |             |
|               |            |                           |    |             |
| Várifiá la :  |            | D <sub>ar</sub> .         |    | Vica ·      |
| verific ic.   |            | 1 ai .                    |    | Visa.       |
|               |            | 7                         |    | ***         |
| Approuvé le:  |            | Par :                     |    | Visa:       |
|               |            |                           |    |             |
| Diffusé le :  |            |                           |    |             |
|               |            |                           |    |             |
| Objet de la   |            |                           | 1  |             |
| · ·           |            |                           |    |             |
| modification: |            |                           |    |             |
|               |            |                           |    |             |
| Archivé le :  |            |                           |    |             |
|               |            |                           |    |             |
| modification: |            | Par:                      |    | Visa: Visa: |

| Document provisoire | $\overline{\mathbf{x}}$ | D |
|---------------------|-------------------------|---|

 $\overline{\mathbf{X}}$  Document opérationnel

### **Destinataires**

| D. YALCOUYE | N. KEITA  | A. MAIGA  | A. CISSE    | A. TOURE   |
|-------------|-----------|-----------|-------------|------------|
|             |           |           |             |            |
| O. HAIDARA  | L. SIDIBE | K. DIARRA | J.OUEDRAOGO | B. KANOUTE |
|             |           |           |             |            |
|             |           |           |             |            |

| Exemplaires : - Classeur Assurance Qualité :   |
|--|
| - Classeur de Bactériologie  |
| Documents Qualité liés:  |
| MAQ: Manuel Assurance Qualité du LRM de Bamako   |
| P: Procédure de la réalisation des analyses en bactériologie                               |
| MO:  |
| D:   |
| E:   |
|  |
| <u>I – Buts</u>  |
| Décrire le mode opératoire de la technique de prélèvement urétral, mycoplasme et Chlamydia |
| II- Domaines et personnel concernés  |

Secteur de Bactériologie. Tout le personnel susceptible d'utilisé ce prélèvement.

# **III - Abréviations/Définitions**

LRM : Laboratoire Rodolphe Mérieux

### IV – Références

### V – Contenu

# MODE OPERATOIRE DE LA TECHNIQUE DE PRELEVEMENT URETRAL, MYCOPLASME ET CHLAMYDIA

#### 1. Conditions de prélèvement

- Le prélèvement sera de préférence réalisé au laboratoire ;
- En dehors de toute antibiothérapie ;
- Pas de rapport sexuel la veille ;
- Ne pas uriner dans les 4 heures précédant le prélèvement ;
- Pas de toilette intime avant le prélèvement.

#### 2. Prélèvement

- Il se fait en position debout, ce qui favorisera l'écoulement purulent.
- On essaiera d'obtenir un écoulement, s'il n'est pas spontané par massage de l'urètre.
- Ce massage consiste à passer le pouce fermement sous la verge.
- Cette purulence sera recueillie sur deux écouvillons à bouchon orange.
- A l'absence d'écoulement faire un prélèvement endo urétral qui consistera à introduire dans l'urètre, sur 1 à 2cm, soit un écouvillon fin pour prélèvement urétraux, soit une curette ophtalmologique, soit un Bactopique.
- Pour la recherche de mycoplasme ou chlamydiae prélever avec un écouvillon spécifique pour cet examen puis effectuer le transfert aussitôt possible dans le milieu spécifique.
- Le délai de transport au labo doit être moins de 2h à température ambiante.



## Annexe 4 : Mode opératoire de la technique de coloration de GRAM

| Rédigé le:                | 25/02/2005     | Par : Al Hadji SIDIBE          | AS  |       |
|---------------------------|----------------|--------------------------------|-----|-------|
| Vérifié le:               | 25/02/2005     | Par : Louis DEWEERDT           | LD  | Visa: |
| Approuvé le:              | 02/03/2005     | Par : Fatou Traoré FAYE        | FTF | Visa: |
| Modifié le:               | 21/02/2013     | Par : Tony ZITTI               | TZ  |       |
| Vérifié le :              | 25/03/2013     | Par : Nana Kadidia KEITA       | NK  | Visa: |
| Approuvé le:              |                | Par : Dr Daniel YALCOUYE       | DY  | Visa: |
| Diffusé le :              |                |                                |     |       |
| Objet de la modification: | Mise à jour de | es documents assurance qualité |     |       |
| Archivé le :              |                |                                |     |       |

| Document | provisoire |
|----------|------------|
| Document | PIOTIDOILO |

X Document opérationnel

# **Destinataires**

| D. YALCOUYE | N. KEITA  | A. MAIGA  | A. CISSE    | A. TOURE   |
|-------------|-----------|-----------|-------------|------------|
|             |           |           |             |            |
|             |           |           |             |            |
| O. HAIDARA  | L. SIDIBE | K. DIARRA | J.OUEDRAOGO | B. KANOUTE |
|             |           |           |             |            |
|             |           |           |             |            |

- Classeur Assurance Qualité :

- Classeur de Bactériologie

| Documents Qualité liés:  |
|--|
| MAQ: Manuel Assurance Qualité du LRM de Bamako                                     |
| P: Procédure de la réalisation des analyses en bactériologie                       |
| MO:  |
| D:   |
| <b>E:</b>  |
|  |
| <u>I – Buts</u>  |
| Décrire le mode opératoire de la technique de coloration de GRAM                   |
| II Domaines et personnels concernés  |
| Secteur de bactériologie. Tout le personnel susceptible d'utilisé cette technique. |

**III - Abréviations/Définitions** 

LRM: Laboratoire Rodolphe Mérieux

IV – Références

V – Contenu

**Exemplaires:** 

# MODE OPERATOIRE DE LA TECHNIQUE DE COLORATION DE GRAM

#### 1. Principe

C'est la coloration de base en bactériologie et elle permet une classification des bactéries selon leur structure. Elle est l'une des caractères essentiels de la classification des bactéries. Plusieurs facteurs vont intervenir dans cette coloration :

- La différence de composition chimique de bactéries ;
- La différence de perméabilité de la paroi bactérienne à l'alcool-acétone.

#### 2. Matériel

- Microscope;
- Blouse;
- Bac de coloration ;
- Plaque chauffante ;
- Bec bunsen ;
- Centrifugeuse.

#### 3. Consommable

- Gants;
- Lames porte objet;
- Tube conique;
- Pipette pasteur.

#### 4. Réactif

- Colorants : violet de gentiane, le lugol, l'alcool-acétone, la fuchsine.
- L'huile d'immersion.

#### 5. Nature du prélèvement

Frottis d'un produit pathologique bien séché sur une lame.

#### 6. Contrôle de qualité

Les lames positives (frottis préparés avec une souche de bactérie connue) sont conservées et utilisées comme lames de référence.

#### 7. Technique

La coloration de Gram se déroule en plusieurs étapes qui se succède et consiste à :

- Fixer le frottis ;
- Recouvrir le frottis de la solution de cristal violet, laisser agir une minute (violet de gentiane);
- Rejeter le colorant puis laver à l'eau ;
- Recouvrir la préparation de lugol, laisser agir une minute ;
- Rejeter le colorant puis laver à l'eau ;
- Décolorer à l'alcool-acétone ;
- Rincer à l'eau de robinet et recouvrir la lame de solution de fuchsine diluée, laisser agir
   30secondes ;
- Rejeter la Fuchsine, laver à l'eau, égoutter, sécher entre deux feuilles de papier buvard propres;
- Lire le frottis coloré au microscope à l'objectif x100 à l'huile d'immersion.

#### 8. Résultat

A la coloration de Gram:

- Bactéries Gram négatif : coloration rose
- Bactéries Gram positif : coloration violette
- Levures : forme ovale coloration violet



# Annexe 5: Procédure de détection des chlamydiae par le kit Quick vue chlamydia test — Version $N^\circ\, 1$

| Rédigé le:                | 06/06/2013 | Par : Elisabeth SOGODOGO | ES |       |
|---------------------------|------------|--------------------------|----|-------|
| Vérifié le:               | 18/06/2013 | Par : Nana Kadidia KEITA | NK | Visa: |
| Approuvé le:              |            | Par : Dr Daniel YALCOUYE | DY | Visa: |
| Modifié le:               |            | Par:                     |    |       |
| Vérifié le :              |            | Par:                     |    | Visa: |
| Approuvé le:              |            | Par:                     |    | Visa: |
| Diffusé le :              |            |                          |    |       |
| Objet de la modification: |            |                          |    |       |
| Archivé le :              |            |                          |    |       |

| Document pr | rovic | oire |
|-------------|-------|------|

X Document opérationnel

## **Destinataires**

| D. YALCOUYE | N. KEITA  | A. MAIGA  | A. CISSE    | A. TOURE   |
|-------------|-----------|-----------|-------------|------------|
|             |           |           |             |            |
|             |           |           |             |            |
| O. HAIDARA  | L. SIDIBE | K. DIARRA | J.OUEDRAOGO | B. KANOUTE |
|             |           |           |             |            |
|             |           |           |             |            |
|             |           |           |             |            |

**Exemplaires : - Classeur Assurance Qualité :** 

- Classeur de Sérologie Manuelle

#### **Documents Qualité liés:**

MAQ: Manuel Assurance Qualité du LRM de Bamako

P: Procédure d'hygiène et sécurité

MO: Mode opératoire d'utilisation du VIDAS PC/mini VIDAS

D: Consignes pour les prélèvements vaginaux

**E**:

#### I - Buts

Décrire l'utilisation du matériel et réactif du coffret QUIKVUE chlamydia test pour la détection des chlamydiae.

#### II- Domaines et personnels concernés

Secteur de Bactériologie. Les Biologistes et tous les responsables techniques habilités à effectuer ce test.

#### **III - Abréviations/Définitions**

LRM: Laboratoire Rodolphe Mérieux

#### IV - Références

Notice du fabriquant

#### V – Contenu

# PROCEDURE DE DETECTION DES CHLAMYDIAE PAR LE KIT QUIKVUE CHLAMYDIA TEST

#### 1. Introduction

La chlamydia est une bactérie immobile Gram négatif à développement intracellulaire obligatoire. *Chlamydia trachomatis* est responsable d'une partie importante des MST rencontrée dans le monde.

Chez la femme, elle est responsable d'affection endocervicale pouvant être à l'origine d'une symptomatologie aspécifique (leucorrhée chronique) voire silencieuse

Chez l'homme, *Chlamydia trachomatis* est responsable de la majorité des cas d'urétrites non gonococciques

#### 2. Principe

Le principe du dosage associe la méthode immunoenzymatique à une détection finale en fluorescence(ELFA) voire en immunologie.

#### 3. <u>Matériel</u>

- Coffrets de prélèvement VIDAS chlamydia : réf .30 527 et 30 528 ;
- Bloc de chauffage à 95°-100°C permettant d'insérer des tubes de 12 à 16 mm de diamètre;
- VIDAS/ mini VIDAS.

#### 4. Consommable

- Gants non talqués à usage unique ;
- Tube à hémolyse ;
- Pipette à embout jetable permettant la distribution de 2ml.

#### 5. Réactif

- Cônes ;
- Cartouche ;
- Tampon d'extraction du prélèvement ;
- Les contrôles positifs et négatifs.

#### 6. Condition de stockage

- Conserver le coffret VIDAS Chlamydia à 2-8°C
- Ne pas congeler les réactifs.
- Laisser à 2-8°C les réactifs non utilisés.
- A l'ouverture du coffret, vérifier l'intégrité et la bonne fermeture du (des) sachet(s) de cônes. Dans le cas contraire, ne pas utiliser les cônes après chaque utilisation, bien refermer le sachet et replacer la totalité du coffret à 2-8° C.
- Tous les composants sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette étui, lorsqu'ils sont conservés dans les conditions préconisées.

#### 7. Pré- analytique

#### 7.1. Nature du prélèvement

Le prélèvement est effectué au laboratoire par écouvillonnage au niveau de l'endocol chez la femme et l'urètre chez l'homme et doivent être traité dans les heures qui suivent ou dans le cas contraire, le conserver au maximum 24 heures à 2-8°C.

#### (Cf. Consigne pour les prélèvements génitaux)

#### 8. Analytique

#### 8.1. Préparation de l'échantillon

- Les contrôles positif et négatif fournis dans le coffret sont prêts à l'emploi et ne doivent pas subir la phase de préparation;
- Préchauffer le bloc chauffant de façon à ce que la température à l'intérieur d'un tube témoin contenant 2ml d'eau soit de 95 à 100°C;
- Amener le tampon d'extraction à la température du laboratoire (environ 15min);

- Pipeter 2 ml de tampon d'extraction dans chaque tube contenant l'échantillon et boucher les tubes ;
- Incuber 15 à 30min à la température du laboratoire ;
- Agiter vigoureusement (agitateur type vortex) tous les tubes pendant 30 secondes ;
- Extraire les écouvillons et les éliminer ;
- Placer les tubes dans le bloc chauffant préchauffé pendant 15 à 30 min puis acheminé sur la paillasse d'immunologie pour le dosage sur le VIDAS;
- Si un échantillon ne peut pas être analysé dans les 24h, demander un nouveau prélèvement.

#### 8.2. Mode opératoire

Se référer au manuel d'utilisation du Vidas ou Mini Vidas.

#### 8.2.1. Calibration

La calibration s'effectue à l'ouverture de chaque nouveau lot, permet d'ajuster la calibration à chaque instrument, puis tous les 14 jours et à l'évolution éventuelle du réactif dans le temps. La calibration s'effectue à l'aide d'un standard, identifié par S1.

#### 8.2.2. Contrôle

Le contrôle s'effectue à l'ouverture de chaque nouveau coffret, afin de vérifier l'absence d'altération des réactifs. Le contrôle s'identifie par C1 et C2.

#### 8.2.3. <u>Réalisation du test</u>

1-Saisie des données de la carte MLE/ Calibration.

A l'ouverture d'un nouveau lot, les données usines doivent être entrées dans l'instrument à l'aide de la carte MLE.

La calibration est effectuée à l'ouverture de chaque lot, puis tous les 14 jours

#### Cf. MO4 UTIL VIDAS PC/ mini VIDAS.

2- Sortir uniquement les réactifs nécessaires, les laisser 30 mn à température ambiante.

- 3- Utiliser une cartouche CHL et un cône CHL pour chaque échantillon, contrôle, ou standard à tester.
- 4- Sélectionner CHL sur VIDAS PC (n°). Le standard S1 et les contrôles C1 et C2.
- 5- Homogénéiser à l'aide d'un agitateur de type vortex le standard S1, et les contrôles C1et C2.
- 6- Placer dans les compartiments du module analytique les cônes et cartouches.

Bien vérifier la concordance des codes (couleur et lettre) entre cône et cartouche.

- 7- Distribuer 350µl de standards, contrôles et d'échantillons dans le puits échantillon.
- 8- Fermer le compartiment du bloc cône et abaisser le couvercle du compartiment.
- 9-lancer chaque compartiment en cliquant sur l'icône verte situé à gauche de l'écran

#### Cf. MO4 UTIL VIDAS PC/ mini VIDAS.

10-Vérifier que la lumière verte s'allume au dessus du compartiment lancer.

La durée du test est de 1h 02 mn.

11- A la fin de l'analyse, retirer les cônes et cartouches du module, mettre à la poubelle.

#### 7.1.1. Conservation de l'échantillon

Les échantillons peuvent être conservés 5 jours à 2-8 °C Au delà, ils doivent être congelés à -25 °C. Eviter les congélations et décongélations successives

#### 8.3. <u>Validation technique</u>/ <u>Critères de repasse</u>

Si la valeur finale trouvée par la machine est > 400 U/ml doit être repassé après dilution dans le diluant CHL (R1). Multiplier le résultat par le facteur de dilution pour avoir le résultat de l'échantillon.

#### 8.4. Résultat

#### 8.5. Hygiène et sécurité

 Porter des gants non talqués à usage unique et des blouses, respecter les procédures de laboratoire validées pour tout travail sur du sérum ; du plasma ou du sang total humains.  Toute éclaboussure doit être nettoyée avec soin en utilisant un désinfectant approprié comme par exemple de l'hypochlorite de sodium.

Ne pas utiliser le réactif au-delà de sa date de péremption.

#### 9. Post analytique

#### 9.1. Validation biologique

Effectuer par le biologiste, consistant à interpréter les résultats du test en tenant compte du contexte clinique et éventuellement des résultats d'autres examens.

#### 9.2. Rendu des résultats

Les résultats sont rendus par le technicien responsable de l'analyse sur le système CODAT.

#### 9.3. Gestion des déchets

Eliminer les cônes et cartouches de l'instrument ainsi que le matériel à usage unique contaminés en suivant les procédures relatives aux produits infectieux ou potentiellement infectieux.

### 9.4. Archivage

Les imprimés des résultats doivent être mis dans un carton où est inscrite la période d'utilisation et une fois rempli, ils sont transférés au magasin où une étagère est prévue pour les archives.



# Annexe 6: Mode opératoire de la recherche des mycoplasmes urogénitaux avec le kit mycoplasme IST 2 – Version $N^{\circ}$ 1

| 06/06/2013 | Par : Elisabeth SOGODOGO | ES  |   |
|------------|--------------------------|---|---|
| 18/06/2013 | Par : Nana Kadidia KEITA | NK  | Visa:   |
|            | Par : Dr Daniel YALCOUYE | DY  | Visa:   |
|            | Par :                    |   |   |
|            | Par :                    |   | Visa:   |
|            | Par :                    |   | Visa:   |
|            |                          |   |   |
|            |                          |   |   |
|            |                          |   |   |
|            |                          | 18/06/2013 Par : Nana Kadidia KEITA  Par : Dr Daniel YALCOUYE  Par :  Par : | 18/06/2013 Par : Nana Kadidia KEITA NK  Par : Dr Daniel YALCOUYE DY  Par :  Par : |

| <b>Document provisoire</b> |  |
|----------------------------|--|
|----------------------------|--|

X Document opérationnel

### **Destinataires**

| D. YALCOUYE | N. KEITA  | A. MAIGA  | A. CISSE    | A. TOURE   |
|-------------|-----------|-----------|-------------|------------|
|             |           |           |             |            |
|             |           |           |             |            |
| O. HAIDARA  | L. SIDIBE | K. DIARRA | J.OUEDRAOGO | B. KANOUTE |
|             |           |           |             |            |
|             |           |           |             |            |

#### **Exemplaires : - Classeur Assurance Qualité :**

- Classeur de Bactériologie

#### **Documents Qualité liés:**

MAQ: Manuel Assurance Qualité du LRM de Bamako

P: Procédure de la réalisation des examens bactériologiques

Procédure d'hygiène et sécurité

MO: Mode opératoire d'utilisation du Vitek 2 Compact / mini Api

D: Consignes pour les prélèvements urétral, mycoplasme et chlamydiae

**E**:

#### I - Buts

Décrire la technique de recherche des mycoplasmes urogénitaux avec le kit mycoplasme IST

#### II- <u>Domaines et personnels concernés</u>

Secteur de Bactériologie. Les Biologistes et tous les responsables techniques habilités à effectuer cette recherche.

#### **III - Abréviations/Définitions**

LRM: Laboratoire Rodolphe Mérieux

#### IV – Références

Notice du fabriquant

#### V – Contenu

# MODE OPERATOIRE DE LA RECHERCHE DES MYCOPLASMES UROGENITAUX AVEC LE KIT MYCOPLASMA IST 2

#### 1. Principe

Mycoplasme IST 2 est un kit complet destiné au diagnostic des mycoplasmes urogénitaux.

Il permet la culture, l'identification, la numération indicative et la détermination de sensibilité aux antibiotiques d'*Ureaplasma spp* et de *Mycoplasma hominis*. Mycoplasme IST 2 associe un bouillon de culture sélectif et une galerie comprenant 22 tests. Le bouillon est adapté à la croissance optimale des mycoplasmes (pH, substrats, association de plusieurs facteurs de croissance). La présence de substrats spécifiques (urée pour *Ureaplasma spp*. et arginine pour *M.hominis*) et d'un indicateur (rouge de phénol) permet, en cas de culture positive, de visualiser un changement de couleur du bouillon lié à une augmentation du pH. La sélectivité vis-à-vis de la flore de contamination éventuellement présente dans le prélèvement est apportée par l'association de 3 antibiotiques et d'un antifongique. Le bouillon est réparti, après ensemencement, dans la galerie.

Cette galerie permet d'obtenir simultanément :

- L'identification
- La numération
- La sensibilité vis-à-vis de 9 antibiotiques

#### 2. Matériel

- Ecouvillons;
- Pipettes et micropipettes (pour ensemencer la galerie);
- Etuve bactériologique ;
- Vortex.

#### 3. Consommable

- Huile de paraffine ;
- Embouts.

#### 4. Réactif

- Mycoplasma R1 (Bouillon : 25 flacons de 3,1ml)
- Mycoplasma R2 (Lyophilisat : 25 flacons de 1ml)
- Mycoplasma IST 2 : 25 galeries de 22 tests
- Couvercle d'incubation

#### 5. Conditions de stockage

Les galeries et flacons sont conservés entre 2 - 8°C dans leur coffret jusqu'à la date de péremption.

#### 6. Etape pré- analytique

#### 6.1. Nature du prélèvement

Le prélèvement est généralement effectué au laboratoire par écouvillonnage au niveau de l'exocol et est traité dans les heures qui suivent.

#### (Cf. Consigne pour les prélèvements génitaux)

#### 7. Analytique

#### 7.1. <u>Mode opératoire</u>

#### 7.1.1. Introduction de l'échantillon

Laisser le flacon Mycoplasme R1 revenir à température ambiante. Après prélèvement, placer immédiatement l'écouvillon ou le prélèvement liquide (200µl) dans le Mycoplasma R1.

#### 7.1.2. <u>Traitement des flacons au laboratoire</u>

Acheminer le flacon Mycoplasma R1 ensemencé au laboratoire, à l'abri de la lumière, le plus rapidement possible dès la réalisation du prélèvement. Veiller à respecter le délai maximum suivant en fonction de la température :

| Température              | 18-25°C  | 2-8°C     |
|--------------------------|----------|-----------|
| Durée de conservation du | 5 heures | 48 heures |
| Mycoplasme R1 ensemencé  |          |           |

**NB** : Un non respect de ces conditions peut engendrer des faux résultats.

#### 7.1.3. Préparation de l'inoculum

Après homogénéisation, transférer 3ml du Mycoplasma R1ensemencé dans le Mycoplasma R2. Agiter au vortex jusqu'à dissolution complète du lyophilisat

#### 7.1.4. Préparation de la galerie

- Laisser la galerie revenir à température ambiante ;
- Sortir la galerie de son emballage
- Jeter le sachet de déshydratation
- Mettre le couvercle
- Inscrire la référence de l'échantillon prélevé sur la languette latérale de la galerie.
- (Ne pas inscrire la référence sur le couvercle, celui-ci pouvant être déplacé lors de la manipulation)

#### 7.1.5. Incubation

- Répartir immédiatement le bouillon dans les 22 cupules tests de la galerie Mycoplasme
   IST 2 à raison de 55 μl par cupule avec la pipette Electronique ATB<sup>TM</sup> (ou pipette de Accumax de 100μl)
- Ajouter ensuite 2 gouttes d'huile de paraffine dans chaque cupule
- Placer le couvercle sur la galerie
- Incuber la galerie et le reste du flacon pendant 24 et 48 heures à 36°C +/- 2°C.

#### 7.2. <u>Lecture</u>

Urée-Arginine LYO 2(Mycoplasma R1 + Mycoplasma R2) :

Lire la coloration du bouillon Urée-Arginine LYO 2 après 24 heures et 48 heures d'incubation.

|            | Négatif | Positif                                      |
|------------|---------|--|
|            |         | (Ureaplasma spp et /ou M.hominis)            |
| Coloration |         | Orange à rouge                               |
| du         | Jaune   | Uu: Bouillon limpide (Une légère             |
| bouillon   |         | opalescence due au relargage de l'écouvillon |
|            |         | est possible)                                |
|            |         |  |
|            |         |  |
|            |         | Mh : Bouillon légèrement opalescent          |
|            |         |  |

**NB**: Un bouillon trouble rend le test ininterprétable

Galerie Mycoplasme IST 2:

La lecture des cupules doit être effectuée :

- A 24heures uniquement pour la cupule  $n^{\circ}4(Uu \ge 10^4)$
- A 24 et 48 heures pour les autres cupules
- Noter les résultats de lecture de la galerie sur la fiche de résultats.

|          |                | Identif | ficatio | on  |    | Numération       | on          | Test de sensibilité (mg /l) |      |        |          |       |        |      |         |   |    |   |  |     |   |      |   |     |    |               |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |     |  |     |  |     |  |      |  |      |  |     |  |     |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |      |  |     |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |       |  |  |  |  |  |   |  |     |  |      |  |   |  |  |
|----------|----------------|---------|---------|-----|----|------------------|-------------|-----------------------------|------|--------|----------|-------|--------|------|---------|---|----|---|--|-----|---|------|---|-----|----|---------------|--|------|--|------|--|--|--|--|--|--|--|-----|--|-----|--|-----|--|------|--|------|--|-----|--|-----|--|------|--|------|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|------|--|-----|--|-----|--|--|--|--|--|--|--|--|--|-------|--|--|--|--|--|---|--|-----|--|------|--|---|--|--|
|          |                | 0       |         |     |    | Uu               | Mh          | DO                          | г    | JOS    | <u> </u> | OI    | 7      | F    | ERY     | 1 | TE | Г |  | CIP | , | AZI  |   | C   | ĽL | PRI           |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |     |  |     |  |     |  |      |  |      |  |     |  |     |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |      |  |     |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |       |  |  |  |  |  |   |  |     |  |      |  |   |  |  |
|          | Cupule         | (Co     | Uu      |     | Mh | $\geq 10^4$      | ≥ 10        | ВО                          |      | 301    |          | L     |        | 2111 |         |   |    |   |  |     |   |      |   | Ext |    | Litt          |  | Litt |  | Litt |  |  |  |  |  |  |  | LKI |  | EKI |  | EKI |  | LICI |  | LICI |  | EKI |  | ZKI |  | DICI |  | DICI |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  | ZICI |  | ERT |  | ERT |  |  |  |  |  |  |  |  |  | DICT. |  |  |  |  |  | • |  | CII |  | 7121 |  | A |  |  |
|          |                | ntro    |         |     |    |                  |             | 4                           | 8    | 2      | 8        | 1     | 4      | 1    | 1       | 4 | 4  | 8 |  | 1   | 2 | 0,12 | 4 | 1   | 4  | 2             |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |     |  |     |  |     |  |      |  |      |  |     |  |     |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |      |  |     |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |       |  |  |  |  |  |   |  |     |  |      |  |   |  |  |
|          |                | 1)      |         |     |    |                  |             |                             |      |        |          |       |        |      |         |   |    |   |  |     |   |      |   |     |    |               |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |     |  |     |  |     |  |      |  |      |  |     |  |     |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |      |  |     |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |       |  |  |  |  |  |   |  |     |  |      |  |   |  |  |
| Pos      | Lec            |         |         |     |    |                  |             |                             |      |        |          |       |        |      | Orange  |   |    |   |  |     |   |      |   |     |    |               |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |     |  |     |  |     |  |      |  |      |  |     |  |     |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |      |  |     |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |       |  |  |  |  |  |   |  |     |  |      |  |   |  |  |
| Positive | Lecture        |         |         |     |    |                  |             |                             |      |        |          |       |        |      | à rouge |   |    |   |  |     |   |      |   |     |    |               |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |     |  |     |  |     |  |      |  |      |  |     |  |     |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |      |  |     |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |       |  |  |  |  |  |   |  |     |  |      |  |   |  |  |
|          |                | Orang   | ge à ro | oug | (e | Rouge            |             | Orange à rouge              |      |        |          |       |        |      |         |   |    |   |  |     |   |      |   |     |    |               |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |     |  |     |  |     |  |      |  |      |  |     |  |     |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |      |  |     |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |       |  |  |  |  |  |   |  |     |  |      |  |   |  |  |
|          |                |         |         | Ü   |    |                  |             |                             | Ü    |        | Ü        |       |        |      |         |   |    |   |  |     |   |      |   |     |    |               |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |     |  |     |  |     |  |      |  |      |  |     |  |     |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |      |  |     |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |       |  |  |  |  |  |   |  |     |  |      |  |   |  |  |
|          |                |         |         |     |    |                  |             |                             |      |        |          |       |        |      |         |   |    |   |  |     |   |      |   |     |    |               |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |     |  |     |  |     |  |      |  |      |  |     |  |     |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |      |  |     |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |       |  |  |  |  |  |   |  |     |  |      |  |   |  |  |
|          |                |         |         |     |    |                  |             |                             |      |        |          |       |        |      |         |   |    |   |  |     |   |      |   |     |    |               |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |     |  |     |  |     |  |      |  |      |  |     |  |     |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |      |  |     |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |       |  |  |  |  |  |   |  |     |  |      |  |   |  |  |
| Nég      | Lecture        |         |         |     |    |                  |             |                             |      |        |          |       |        |      |         |   |    |   |  |     |   |      |   |     |    |               |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |     |  |     |  |     |  |      |  |      |  |     |  |     |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |      |  |     |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |       |  |  |  |  |  |   |  |     |  |      |  |   |  |  |
| Négative | ture           |         |         |     |    |                  |             |                             |      |        |          |       |        |      |         |   |    |   |  |     |   |      |   |     |    |               |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |     |  |     |  |     |  |      |  |      |  |     |  |     |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |      |  |     |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |       |  |  |  |  |  |   |  |     |  |      |  |   |  |  |
|          |                | Jaune   | *       |     |    | Jaune à or       | ange        | Jaun                        | e    |        |          |       |        |      |         |   |    |   |  |     |   |      |   |     |    | jaune         |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |     |  |     |  |     |  |      |  |      |  |     |  |     |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |      |  |     |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |       |  |  |  |  |  |   |  |     |  |      |  |   |  |  |
|          | Inte           |         |         |     |    |                  |             |                             |      |        |          |       |        |      |         |   |    |   |  |     |   |      |   |     |    |               |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |     |  |     |  |     |  |      |  |      |  |     |  |     |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |      |  |     |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |       |  |  |  |  |  |   |  |     |  |      |  |   |  |  |
|          | Interprétation | Préser  | ice de  | •   |    |                  |             | La s                        | oucl | he es  | t        |       |        |      |         |   |    |   |  |     |   |      |   |     |    | La            |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |     |  |     |  |     |  |      |  |      |  |     |  |     |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |      |  |     |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |       |  |  |  |  |  |   |  |     |  |      |  |   |  |  |
|          | tion           |         |         |     |    |                  |             |                             |      |        |          |       |        |      |         |   |    |   |  |     |   |      |   |     |    | souche est:   |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |     |  |     |  |     |  |      |  |      |  |     |  |     |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |      |  |     |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |       |  |  |  |  |  |   |  |     |  |      |  |   |  |  |
|          |                | Uu      | Į       | Ju  | Mh | Uu               | Mh          |                             |      | sensi  | ible     | (S)   |        |      |         |   |    |   |  |     |   |      |   |     |    | CSt.          |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |     |  |     |  |     |  |      |  |      |  |     |  |     |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |      |  |     |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |       |  |  |  |  |  |   |  |     |  |      |  |   |  |  |
|          |                |         |         |     |    | ≥10 <sup>4</sup> | $\geq 10^4$ |                             |      | - inte |          |       | ino (1 | T/   |         |   |    |   |  |     |   |      |   |     |    | -<br>Sensible |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |     |  |     |  |     |  |      |  |      |  |     |  |     |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |      |  |     |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |       |  |  |  |  |  |   |  |     |  |      |  |   |  |  |
|          |                | Et /ou  |         |     |    | ≥10              | ≥ 10        |                             |      |        |          |       |        | 1)   |         |   |    |   |  |     |   |      |   |     |    | (S)           |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |     |  |     |  |     |  |      |  |      |  |     |  |     |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |      |  |     |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |       |  |  |  |  |  |   |  |     |  |      |  |   |  |  |
|          |                | Mh      |         |     |    |                  |             |                             | +    | + Ré   | sista    | ant(] | R)     |      |         |   |    |   |  |     |   |      |   |     |    | +Résista      |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |     |  |     |  |     |  |      |  |      |  |     |  |     |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |      |  |     |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |       |  |  |  |  |  |   |  |     |  |      |  |   |  |  |
|          |                |         |         |     |    | UFC /pr          | UFC/Pre     |                             |      |        |          |       |        |      |         |   |    |   |  |     |   |      |   |     |    | nte(R))       |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |     |  |     |  |     |  |      |  |      |  |     |  |     |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |      |  |     |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |       |  |  |  |  |  |   |  |     |  |      |  |   |  |  |
|          |                |         |         |     |    | el               |             |                             |      |        |          |       |        |      |         |   |    |   |  |     |   |      |   |     |    |               |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |     |  |     |  |     |  |      |  |      |  |     |  |     |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |      |  |     |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |       |  |  |  |  |  |   |  |     |  |      |  |   |  |  |
|          |                |         |         |     |    |                  |             |                             |      |        |          |       |        |      |         |   |    |   |  |     |   |      |   |     |    |               |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |     |  |     |  |     |  |      |  |      |  |     |  |     |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |      |  |     |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |       |  |  |  |  |  |   |  |     |  |      |  |   |  |  |
|          |                |         |         |     |    |                  |             |                             |      |        |          |       |        |      |         |   |    |   |  |     |   |      |   |     |    |               |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |     |  |     |  |     |  |      |  |      |  |     |  |     |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |      |  |     |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |       |  |  |  |  |  |   |  |     |  |      |  |   |  |  |
|          |                |         |         |     |    |                  |             |                             |      |        |          |       |        |      |         |   |    |   |  |     |   |      |   |     |    |               |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |     |  |     |  |     |  |      |  |      |  |     |  |     |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |      |  |     |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |       |  |  |  |  |  |   |  |     |  |      |  |   |  |  |
|          |                |         |         |     |    |                  |             |                             |      |        |          |       |        |      |         |   |    |   |  |     |   |      |   |     |    |               |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |     |  |     |  |     |  |      |  |      |  |     |  |     |  |      |  |      |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |      |  |     |  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |       |  |  |  |  |  |   |  |     |  |      |  |   |  |  |

Si la lecture du témoin est (-), ne pas lire les autres cupules. En cas de titres faibles, le virage peut avoir lieu uniquement dans le flacon et non dans la cupule témoin de la galerie (le titre du prélèvement est trop faible pour permettre le virage).

#### 7.3. Hygiène et sécurité

- Avant et après les manipulations, nettoyer la paillasse avec de l'eau de Javel à 10%.
- Faire toujours les manipulations en présence d'une flamme ;
- Toujours porter des gants, des chaussures fermées et si possible un masque de protection ;
- Eviter de toucher les portails, les appareils et les microscopes avec les gants ;
- Ne jamais manger, ni boire lors des manipulations en laboratoire.

#### 8. Post analytique

#### 8.1. Validation biologique

Effectuer par le biologiste, consistant à interpréter les résultats du test en tenant compte du contexte clinique et éventuellement des résultats d'autres examens.

#### 8.2. Rendu des résultats

Les résultats sont saisis par le technicien responsable de la recherche sur le système CODAT.

#### 8.3. Gestion des déchets

Vider à chaque fin de journée les sachets poubelle qui doivent être bien scotchés et déportées à l'arrière du laboratoire dans les grands fûts déposés pour la circonstance.

#### 8.4. <u>Archivage</u>

Les dossiers en fin d'étude doivent être mis dans un carton où est inscrite la période d'utilisation et une fois rempli, ils sont transférés au magasin où une étagère est prévue pour les archives.



# Annexe 7: Mode opératoire du $\,$ test de SLIDEX STREPTO PLUS-Version $\,N^{\circ}\,2\,$

| Rédigé le:                | 24/02/2005     | Par : Al Hadji SIDIBE          | AS  |        |
|---------------------------|----------------|--------------------------------|-----|--------|
| Vérifié le:               | 04/03/2005     | Par : Louis DEWEERDT           | LD  | Visa:  |
| Approuvé le:              | 07/03/2005     | Par : Fatou Traoré FAYE        | FTF | Visa:  |
| Modifié le:               | 21/02/2013     | Par : Boula KANOUTE            | BK  |        |
| Vérifié le :              | 25/03/2013     | Par : Judicaël OUEDRAOGA       | JO  | Visa:  |
|                           |                | Nana K KEITA                   | NK  |        |
| Approuvé le:              | 29/08/2013     | Par : Dr Daniel YALCOUYE       | DY  | Visa : |
| Diffusé le :              | 30/08/2013     | Par : Abderrhamane MAIGA       | AMA |        |
| Objet de la modification: | Mise à jour de | es documents assurance qualité |     |        |
| Archivé le :              |                |                                |     |        |

X Document opérationnel

#### **Destinataires**

| D. YALCOUYE | N. KEITA  | A. MAIGA  | A. CISSE    | A. TOURE   |
|-------------|-----------|-----------|-------------|------------|
| O. HAIDARA  | L. SIDIBE | K. DIARRA | J.OUEDRAOGO | B. KANOUTE |

# Exemplaires : - Classeur Assurance Qualité : - Classeur de Bactériologie

#### **Documents Qualité liés:**

MAQ: Manuel Assurance Qualité du LRM de Bamako

P: Procédure de la réalisation des analyses en bactériologie

MO:

D:

**E**:

#### I - Buts

Décrire le mode opératoire du test Slidex Strepto Plus

#### II- Domaines et personnels concernés

Secteur de bactériologie. Tout le personnel susceptible d'utiliser ce test.

#### **III - Abréviations/Définitions**

LRM: Laboratoire Rodolphe Mérieux

#### IV – Références

#### V – Contenu

# MODE OPERATOIRE DU TEST DE SLIDEX STREPTO PLUS

# 1. Principe

Après culture, les colonies isolées de streptocoques sont prélevées et placées dans un tube contenant le réactif d'extraction. L'antigène spécifique du groupe contenu dans la paroi est extrait par une enzyme. Si l'antigène est présent, le réactif latex correspondant est agglutiné.

# 2. Matériel

- Tubes à hémolyse ;
- Oeses;
- Enzyme d'extraction ;
- Agitateur type vortex ;
- Etuve bactériologique ;
- Minuteur;
- Plaque strepto.

## 3. Réactifs

- Latex de Streptococcus groupes (A, B, C, D, G, F.);
- Eau distillée.

## 4. Conservation des réactifs

- Conserver les réactifs à 2 8°C
- Ne pas congeler les réactifs

# 5. Nature du prélèvement

Le test est réalisé à partir des colonies hémolytique de type *Streptococcus* sur milieu solide.

# 6. Contrôle de qualité

Vérifier à chaque série du test :

- La réactivité des suspensions de latex, en utilisant le contrôle positif à la place de l'extrait.
   Une agglutination doit apparaître pour chaque suspension de latex en 2mn;
- La spécificité du test d'agglutination, en utilisant du Na Cl 0,15mol/l, pH=7 à la place de l'extrait. Aucune agglutination ne doit apparaître avec les suspensions de latex à 2 mn.

## 7. Technique

- Reconstitution
- o Reconstituer l'enzyme d'extraction avec 10ml d'eau distillée stérile.
- Préparation de l'extrait

Dans un tube sec, mettre 0,4 ml d'enzyme d'extraction. A partir de cultures sur milieu solide prélever selon leur taille 3 à 5 colonies caractéristiques et les émulsionner dans 0,4 ml d'enzyme d'extraction, puis incuber 10 mn à 37°C.

- Groupage
- Laisser les réactifs à température ambiante (18 25°C) avant utilisation au moins 10mn;
- Bien remettre en suspension les réactifs latex. Chasser les bulles retenues dans les comptegouttes;
- Noter la référence de la souche sur une carte (en dehors de la zone réactionnelle);
- Bien homogénéiser les suspensions de latex ;
- Déposer sur une carte une goutte de chacun des latex dans les emplacements correspondants. Veiller à tenir les flacons compte-gouttes verticalement lors de la distribution des gouttes;
- Déposer 15ul d'extrait à côté de chaque goutte de latex ;
- A l'aide d'un bâtonnet, mélanger les deux gouttes en utilisant toute la surface de chaque zone réactionnelle;

O Donner à la carte un mouvement de rotation pendant 2 mn maximum et lire sous éclairage normale sans de loupe.

# 8. Résultat

- Lecture et interprétation :
- Un résultat positif est indiqué par l'apparition d'une agglutination nette avec un réactif latex en 2mn maximum;
- o Un résultat négatif est indiqué par une absence d'agglutination ;
- Un résultat est non interprétable si on observe une agglutination dans plusieurs suspensions de latex. Ceci peut correspondre à un mélange de souche. Dans ce cas refaire l'isolement et le test.

# 9. Gestion des déchets

Eliminer les réactifs utilisés, la carte usagée, ainsi que les matériels à usage unique contaminés dans la poubelle jaune destinée à cet égard.



# Annexe 8 : Mode opératoire du test de la coagulase- version $N^{\circ}\mathbf{1}$

| Rédigé le:                | 23/02/2013 | Par : Doussou COULIBALY  | DC |       |
|---------------------------|------------|--------------------------|----|-------|
| Vérifié le:               | 25/03/2013 | Par : Judicaël OUEDRAOGO | JO | Visa: |
| Approuvé le:              |            | Par : Dr Daniel YALCOUYE | DY | Visa: |
| Modifié le:               |            | Par:                     |    |       |
| Vérifié le :              |            | Par:                     |    | Visa: |
| Approuvé le:              |            | Par:                     |    | Visa: |
| Diffusé le :              |            |                          |    |       |
| Objet de la modification: |            | ,                        | 1  |       |
| Archivé le :              |            |                          |    |       |

| Document | provisoire |
|----------|------------|
| Document | PIOTISOILE |

X Document opérationnel

# **Destinataires**

| D. YALCOUYE | N. KEITA  | A. MAIGA  | A. CISSE    | A. TOURE   |
|-------------|-----------|-----------|-------------|------------|
| O. HAIDARA  | L. SIDIBE | K. DIARRA | J.OUEDRAOGO | B. KANOUTE |

# **Exemplaires : - Classeur Assurance Qualité :**

- Classeur de Bactériologie

# **Documents Qualité liés:**

MAQ: Manuel Assurance Qualité du LRM de Bamako

P: Procédure de la réalisation des examens Bactériologique

MO:

D:

**E**:

# I - Buts

Décrire la technique du test de la coagulase en microbiologie.

# II- Domaines et personnels concernés

Le secteur de Bactériologie. Tout le personnel susceptible d'utilisé cette technique.

# **III - Abréviations/Définitions**

LRM: Laboratoire Rodolphe Mérieux

## <u>IV – Références</u>

# V – Contenu

# MODE OPERATOIRE DU TEST DE LA COAGULASE

# 1. Principe

Le BBL Coagulase Plasma, Rabbit (Plasma de lapin pour test de la coagulase BBL) servent à déterminer qualitativement la pathogénicité des staphylocoques par la méthode directe en tube.

Cette méthode consiste à mélanger une culture en bouillon de la veille ou des colonies prélevées sur une boîte de gélose non inhibitrice dans un tube de coagulase plasma réhydraté. Le tube est incubé à 37°C, la formation d'un caillot dans le plasma indique une production de coagulase.

# 2. Matériel

- Tube sec;
- L'œse;
- Souche pure ;
- Bec bunsen ;
- Portoir tube ;
- Etuve ;
- Chronomètre.

# 3. Réactif

Le coagulase Rabbit est un plasma de lapin lyophilisé contenant environ 0,85% de citrate de sodium et 0,85% de chlorure de sodium.

# 4. Conservation du réactif

Le BBL coagulase plasma, Rabbit non ouvert se conserve entre 2-8 °C

Le Plasma reconstitué se conserve à  $2-8^{\circ}$ C jusqu'à 14jours, ou aliquoter et congeler immédiatement à  $-20^{\circ}$ C jusqu'à 30jours, ne pas recongeler une fois décongeler.

# 5. Nature du prélèvement

Les colonies pures sur une souche gélosé ou en bouillon

# 6. Contrôle de qualité

Les contrôles positifs et négatifs sont testés aux souches de références pour vérifier la conformité des performances du coagulase Plasma avec les spécifications.

| Microorganisme             | ATCC  | Réaction                        |
|----------------------------|-------|---------------------------------|
| Staphylococcus aureus      | 25923 | Caillot dans le tube            |
| Staphylococcus epidermidis | 12228 | Absence de caillot dans le tube |

# 7. Réalisation du test

- Préparation des réactifs
- Réhydrater le BBL Coagulase Plasma en ajoutant de l'eau purifiée dans le flacon comme indiqué ci-dessous puis mélanger en retournant alternativement le flacon.

| Volume de produit | Eau purifiée stérile | Nombre approximatif de |
|-------------------|----------------------|------------------------|
|                   |                      | test                   |
| 3 ml              | 3 ml                 | 6                      |
| 15 ml             | 15 ml                | 30                     |
| 25 ml             | 25 ml                | 50                     |

- Réalisation du test de BBL Coagulase
- A l'aide d'une micropipette de 1 ml, ajouter 0,5 ml de BBL Coagulase Plasma, Rabbit réhydraté à un tube à culture sur un portoir;
- Ajouter environ 0,05 ml de culture en bouillon de la veille du microorganisme à tester dans le tube de plasma. Il est également possible, à l'aide d'un ensemenceur à anse plastique stérile, d'émulsifier complètement dans le tube de plasma 2 – 4 colonies prélevées sur une boîte de gélose;
- Mélanger doucement ;
- o Incuber au bain-marie ou à l'étuve à 37°C pendant 4heures ;
- Examiner périodiquement les tubes en les inclinant doucement. Ne pas agiter le tube pour ne pas risquer de désagréger le caillot et par conséquent, d'entrainer des résultats de test douteux ou faussement négatifs. **Tout degré de coagulation dans un délai de 3 4 heures doit être interprété comme un résultat positif.** De nombreuses souches productrices d'enzymes ne coaguleront le plasma qu'au bout de 24heures d'incubation.

# 8. Résultat

- Si la coagulase est négative : absence de formation de caillot, laisser jusqu'à 24heures sur la paillasse ;
- Si la coagulase est positive : le caillot ne se détache pas lorsque le tube est retourné.
   Suspicion de Staphylococcus aureus.

Aspect avant



# Aspect du test positif





# Aspect du test négatif



# 9. Gestion des déchets

Les objets tranchants sont jetés dans une boite de sécurité et les objets souillés non tranchants dans la poubelle jaune (contaminant).



# Annexe 9 : Mode opératoire de l'utilisation du Vitek 2 Compact-Version $N^{\circ}1$

| Rédigé le:                | 22/02/2013 | Par : Sandrine           | S  |       |
|---------------------------|------------|--------------------------|----|-------|
| Vérifié le:               | 25/03/2013 | Par : Nana Kadidia KEITA | NK | Visa: |
| Approuvé le:              |            | Par : Dr Daniel YALCOUYE | DY | Visa: |
| Modifié le:               |            | Par:                     |    |       |
| Vérifié le :              |            | Par:                     |    | Visa: |
| Approuvé le:              |            | Par:                     |    | Visa: |
| Diffusé le :              |            |                          |    |       |
| Objet de la modification: |            |                          |    |       |
| Archivé le :              |            |                          |    |       |

| <b>Document</b> | providajra |
|-----------------|------------|
| Document        | DIOMSOILE  |

X Document opérationnel

# **Destinataires**

| D. YALCOUYE | N. KEITA  | A. MAIGA  | A. CISSE    | A. TOURE   |
|-------------|-----------|-----------|-------------|------------|
|             |           |           |             |            |
|             |           |           |             |            |
|             |           |           |             |            |
| O. HAIDARA  | L. SIDIBE | K. DIARRA | J.OUEDRAOGO | B. KANOUTE |
|             |           |           |             |            |
|             |           |           |             |            |
|             |           |           |             |            |

| •  |
|--|
| - Classeur de Bactériologie                                  |
| Documents Qualité liés:                                      |
| MAQ: Manuel Assurance Qualité du LRM de Bamako               |
| P: Procédure de la réalisation des analyses en bactériologie |
| Procédure de gestion des déchets                             |
| MO:  |
| D:   |

- Classeur Assurance Qualité :

## I - Buts

**E**:

**Exemplaires:** 

Décrire le mode d'utilisation du Vitek 2 Compact

# II- Domaines et personnels concernés

Secteur de bactériologie. Tout le personnel susceptible d'utilisé cet appareil.

# **III - Abréviations/Définitions**

LRM: Laboratoire Rodolphe Mérieux

# IV – Références

Manuel d'utilisation du Vitek 2 Compact

## V – Contenu

# MODE D'UTILISATION DU VITEK 2 COMPACT

# 1. Principe

Le système Vitek 2 Compact est destiné à l'identification des bactéries et levures, ainsi qu'à la réalisation d'antibiogrammes pour les bactéries significatives au plan clinique. Le système comprend l'instrument Vitek 2 Compact, un ordinateur et une imprimante.

Le logiciel fourni par le système Vitek 2 Compact inclut des programmes d'analyses, de gestion de données et un système de contrôle de qualité afin de valider le kit test du Vitek 2 Compact.

# 2. <u>Mode opératoire</u>

- Prendre le flacon eau saline Vitek 2, introduire la dispensette ;
- Prendre des tubes secs pour Vitek 2, y introduire dans les puits de la cassette ;
- La cassette peut prendre jusqu'à 10 tubes soit 2x5 (identification+ antibiogramme);
- Mettre dans chaque tube, 3ml de la solution saline du Vitek 2 à l'aide de la dispensette préalablement réglée à 3 ml.

<u>N.B</u>: Pour un germe, deux tubes secs seront utilisés dont l'un servira à l'identification et l'autre à l'antibiogramme ;

- Sur une feuille vierge, porter la date et le numéro de l'échantillon ainsi que le nom approximatif du germe à identifier;
- A partir de la culture pure sur gélose (culture jeune 24 h), à l'aide d'une oese, prélever quelques colonies et les introduire dans le tube sec contenant la solution saline ;
- Homogénéiser la suspension et bien vortexer ;
- A l'aide du densitomètre, mesurer la concentration bactérienne à **0,5 McFarland**;
- Poser le tube contenant la suspension bactérienne en première position et faire suivre celui prévu pour l'antibiogramme;

- Préparer la solution pour antibiogramme :
- Si la bactérie à identifier est à : Gram positif, utiliser la micropipette calibrée à 280μl
   (bleue), Gram négatif, utiliser la micropipette calibrée à 145μl (rouge);
- o A partir de la suspension bactérienne, pipeter en fonction de la nature du germe suspecté (BGN ou BGP) et diluer dans 3ml d'eau saline contenu dans le tube voisin. On aurait ainsi préparé la suspension pour 1'antibiogramme.
- Placer la carte d'identification (soit GN, soit GP ou YST) et la carte pour l'antibiogramme (soit AST- N, soit SST- P ou AST- Y) en fonction de la nature du germe sur la cassette.

#### NB: différentes cartes utilisables:

- O Streptocoques et entérocoques : ID : GP 67, réf 22226 ; ATB : AST-P 586, réf 22276
- o Staphylocoques: ID GP: réf 21342. ATB: AST-P 580, réf 22233
- ID GN: réf 21341; ATB: non entérobactéries: AST- 222, réf 413083; entérobactéries:
   AST-N 233, réf 413117
- Levures : ID : YST, réf 21343 ; ATB : AST-YS01, réf 22108
- Au niveau de l'ordinateur de l'automate, à l'apparition de la page principale;
- Cliquer sur Vitek 2
- o Mettre Identifiant : labsuper, le mot de passe : labsuper
- Cliquer sur gérer la cassette virtuelle
- Créer une cassette virtuelle
- o Identification de la cassette 1,2,...
- Lecture du code à barre de chaque carte à partir de la douchette
- Saisir les données de l'isolat ;
- Entrer les informations de l'isolat (numéro attribué au laboratoire, nom du germe si déjà identifié par d'autres techniques)
- Puis enregistrer les données de la cassette virtuelle

- Au niveau de l'automate Vitek 2 Compact,
- Ouvrir le capot de remplissage et insérer la cassette à l'intérieur de la chambre ;
- Fermer le capot de remplissage ;
- Appuyer sur la touche Lancer remplissage, un bip indique que le cycle de remplissage est terminé;
- Retirer la cassette du capot de remplissage et l'introduire dans la chambre de lecture où s'effectue le scellage. le processus de chargement/déchargement permet la lecture du code à barre des cartes et le code à barre de la cassette;
- Lorsque le message retiré s'affiche dans la chambre de lecture, cela indique que le Vitek
   2 a terminé le traitement des cartes contenues sur la cassette. On peut la retirer en ouvrant
   le capot chargement puis le refermer ;
- On attend le jour suivant où les résultats seront imprimés.

#### 3. Résultats

Le Vitek 2 Compact est un appareil qui permet d'identifier les germes et de réaliser l'antibiogramme puis d'interpréter les phénotypes de résistances acquise et naturelle puis la sensibilité naturelle du germe.

<u>Exemple</u>: les bétalactamases des entérobactéries (*Klebsiella*, *E. coli*), *S.aureus* résistant à méthicyline et vancomycine, *Pseudomonas* résistant à l'imipenème...et les phénotypes des souches sauvages (le germe sensible à tous les antibiotiques testés excepté les sensibilités naturelles).

# 4. Gestion des déchets

#### Retrait des cartes éjectées :

Pour éjecter une carte, le Vitek 2 Compact la retire du carrousel/incubateur, la présente au lecteur de cartes et la dépose dans le récipient collecteur de déchets. Le réceptacle collecteur de déchet peut contenir jusqu'à 60 cartes, il est recommandé de contrôler régulièrement le niveau du réceptacle collecteur de déchet et le vider.

#### Retrait du réceptacle collecteur de déchet :

- Ouvrir le capot du récipient collecteur de déchets. Noter que les cartes usagées sont stockées à l'intérieur du réceptacle;
- Retirer le réceptacle collecteur de déchet de la station de travail en tirant sur le bord avant, vers soi;
- o Jeter les cartes usagées dans la poubelle de déchets contaminés ;
- O Remettre en place le réceptacle collecteur de déchets en le faisant glisser vers l'intérieur ;
- o Fermer le capot du récipient collecteur de déchets.

Le Vitek 2 Compact réinitialise le compteur de déchets si le réceptacle est entièrement vidé.



# Annexe 10: Mode opératoire d'utilisation du MINI API - Version $N^{\circ}$ 1

| Rédigé le:                | 24/05/2005 | Par: | Lala SIDIBE    |       |
|---------------------------|------------|------|----------------|-------|
| Vérifié le:               | 14/09/2005 | Par: | Louis DEWEERDT | Visa: |
| Approuvé le:              | 15/09/2005 | Par: | Fatou .T. FAYE | Visa: |
| Modifié le:               |            | Par: |                |       |
| Vérifié le :              |            | Par: |                | Visa: |
| Approuvé le:              |            | Par: |                | Visa: |
| Diffusé le :              |            |      |                |       |
| Objet de la modification: |            | 1    | 1              |       |
| Archivé le :              |            |      |                |       |

# **Document provisoire**

# X Document opérationnel

| L. Deweerdt | J. P. Lombart | Al. Sidibé | Aïssata Sidibé |
|-------------|---------------|------------|----------------|
|             |               |            |                |
| S. Traoré   | M. Maïga      | L. Sidibé  |                |
|             |               |            |                |
|             |               |            |                |

**Exemplaires:** - Classeur Mini Api

- Classeur de Diffusion des documents du Laboratoire

| Documents Qualité liés:   |
|---|
| MAQ:  |
| P:  |
| MO:   |
| D:  |
| E:  |
| <u>I – Buts</u>   |
| Décrire l'utilisation en routine du mini API  |
| II - Domaines et personnels concernés   |
| Secteur bactériologie. Les responsables techniques et plus particulièrement, le responsables de l'automate. |
| III - Abréviations/Définitions  |
| ID 32 GN  |
| ID 32 C   |
| ATB UR  |
| IV - Références   |
| <u>V – Contenu</u>  |

## UTILISATION DU MINI API

## 1. Principe de fonctionnement

Le Mini API permet deux types de lecture.

# 1.1. <u>La lecture turbinéphélémétrique</u>

Elle est destinée aux galeries turbinéphélémétrique.

#### **Exemple:**

**ID 32 GN** 

ID 32 C

ATB UR

**Turbidimétrie** : mesure de l'intensité de la lumière transmise (T) inversement proportionnelle à la croissance bactérienne.

**Néphélémétrie** : mesure de l'intensité de la lumière diffusée (D) à 30°C directement proportionnelle à la croissance bactérienne.

Ces deux mesures permettent d'évaluer la densité bactérienne dans chaque cupule.

Le cycle d'une lecture turbinéphélémétrique se fait en deux étapes :

#### 1ère étape :

Entrée du chariot porte galerie et détection du code de la galerie

#### 2ème étape :

Mesure sous la position sans filtre puis sortie du chariot porte galerie

Lorsque le cycle de lecture est terminé, le logiciel traite les mesures effectuées.

#### 1.2. La lecture colorimétrique

Elle est destinée aux galeries colorimétriques.

Exemple: ID 32 STAPH

ID 32 E

Rapid ID 32 A

Rapid ID 32 STREP

Le Mini API effectue pour chaque cupule une mesure de transmission de la lumière dans 4 régions du spectre visible.

Le cycle d'une lecture colorimétrique se fait en 4 étapes :

#### 1ère étape :

- 1ère entrée du chariot porte galerie
- Détection du code de la galerie
- Mesure sous filtre K60

#### 2ème étape :

- 1ère sortie du chariot porte galerie
- Mesure sous filtre K40

#### 3ème étape :

- 2ème entrée du chariot porte galerie
- Mesure sous le filtre DT bleu

#### 4ème étape :

- 2ème sortie du chariot porte galerie
- Mesure sous le filtre DT vert

Lorsque le cycle de lecture est terminé, le logiciel traite les mesures effectuées.

#### Mise en route

Il faut:

Mettre le Mini API sous tension, l'interrupteur d'alimentation (marche/arrêt) est à l'arrière de l'appareil.

A la mise sous tension, la configuration interne du système est testée (identification du microprocesseur, taille de la mémoire).

Deux signaux sonores retentissent. Le Mini API a effectué avec succès les tests internes.

L'écran affiche brièvement la page de présentation du logiciel Mini API puis le menu principal apparaît.

# 2. Procédure d'utilisation.

# 2.1. Description du logiciel

Le logiciel Mini API est composé de 6 modules :

# SAISIE.

Ce module permet à l'utilisateur de créer les dossiers patients gérés par le Mini API.

Un dossier patient est identifié par une référence unique.

L'examen d'un dossier patient contient les informations relatives à un prélèvement.

Les résultats d'identification et d'antibiogramme concernant un prélèvement sont affectés d'un numéro d'ordre géré automatiquement.

L'examen d'un dossier patient peut contenir jusqu'à 5 germes.

## CONSULT.

Ce module permet de visualiser les données patient et de vérifier l'examen et les résultats associés.

## COMM.

Ce module permet l'échange d'information entre le Mini API et le système informatique du laboratoire.

## EXPERT.

Ce module intègre la gestion d'un système EXPERT permettant l'interprétation des résultats bruts des antibiogrammes enregistrés.

# OUTILS.

Ce module regroupe tous les utilitaires du logiciel : Création et Mise à jour des Thésaurus, Sauvegarde/ Restauration / Extraction, Destruction des données.

# Api /ATB.

Ce module permet d'effectuer des lectures de galeries d'identification ou d'antibiogramme sans créer un dossier patient et d'examen associé. Les résultats pour l'identification et l'antibiogramme ne sont pas enregistrés. Les résultats de l'antibiogramme ne sont pas expertisés.

#### 2.2. Réalisation d'un test

Avant d'effectuer la lecture des galeries, il faut :

#### 1ère étape :

- Mettre en marche Mini API
- Attendre au moins 15 minutes (préchauffage) avant de commencer la lecture des galeries
- Création d'un dossier patient

## 2ème étape:

- Préparation des galeries pour la lecture
- Enlever le couvercle des galeries
- Ajouter les réactifs nécessaires pour la révélation de certains tests (se reporter à la notice d'utilisation des galeries).

#### 3ème étape :

Tirer l'arceau de protection

**Attention:** 

Il est impératif de tirer complètement l'arceau de protection pour procéder à la sortie du

chariot porte galerie.

L'arceau de protection délimite la surface pour le libre déplacement du chariot porte galerie.

Il ne doit pas être utilisé comme poignet pour déplacer l'instrument.

Ne rien poser sur l'arceau de protection lorsque celui-ci est tiré.

La sortie du chariot porte galerie est effectuée automatiquement par le logiciel Mini API au

moment de la lecture automatique des galeries.

**Important:** 

Ne pas toucher le chariot porte galerie durant le mouvement de celui-ci.

4ème étape

Positionner la galerie sur le chariot porte galerie

5ème étape : lecture des galeries

La lecture des galeries est déclenchée par le logiciel Mini API

La lecture des galeries est automatique

• Le code de la galerie est lu et les résultats interprétés générant ainsi le traitement de la

galerie correspondante: lecture turbinéphélémétrique ou colorimétrique.

Arrêt Mini Api

Lorsque le menu principal de mini Api est affiché, sortir de l'application

Appuyer sur <SUPPR>

Eteindre l'appareil

Rentrer l'arceau de protection

# **Gestion des documents**

| Type de document   | Contenant            | Lieu          | Durée de               |
|--------------------|----------------------|---------------|------------------------|
|                    |                      |               | conservation           |
| Document qualité   | Classeur Assurance   | Laboratoire   | 3 ans après la fin de  |
|                    | qualité Mini Api     | Bactériologie | leur utilisation       |
| Traçabilité AQ     | Registre de          | Laboratoire   | Pendant la durée de    |
|                    | maintenance          | Bactériologie | vie de l'appareil et 3 |
|                    |                      |               | ans après              |
| Document fabricant | Manuel d'utilisation | Laboratoire   | Pendant la durée de    |
|                    | et Manuel Instrument | Bactériologie | vie de l'appareil et 3 |
|                    | Mini Api             |               | ans après              |



# Annexe 11: Mode opératoire de la technique de SOUCHOTHEQUE - Version $N^\circ$ 1

| Rédigé le:                | 22/02/2013 | Par : Fatoumata Maïga    | FM |       |
|---------------------------|------------|--------------------------|----|-------|
| Vérifié le:               | 25/03/2013 | Par : Judicaël OUEDRAOGO | JO | Visa: |
| Approuvé le:              |            | Par : Dr Daniel YACOUYE  | DY | Visa: |
| Modifié le:               |            | Par:                     |    |       |
| Vérifié le :              |            | Par:                     |    | Visa: |
| Approuvé le:              |            | Par:                     |    | Visa: |
| Diffusé le :              |            |                          |    |       |
| Objet de la modification: |            |                          |    |       |
| Archivé le :              |            |                          |    |       |

| <b>Document</b> | providaira |
|-----------------|------------|
| Document        | DIOMSOILE  |

X Document opérationnel

# **Destinataires**

| D. YALCOUYE | N. KEITA  | A. MAIGA  | A. CISSE    | A. TOURE   |
|-------------|-----------|-----------|-------------|------------|
| O. HAIDARA  | L. SIDIBE | K. DIARRA | J.OUEDRAOGO | B. KANOUTE |

# **Exemplaires :** - Classeur Assurance Qualité :

- Classeur de Bactériologie

# **Documents Qualité liés:**

MAQ: Manuel Assurance Qualité du LRM de Bamako

P: Procédure de la réalisation des examens Bactériologique

MO:

D:

**E**:

# I - Buts

Décrire le mode opératoire de la technique de souchothèque

# II- Domaines et personnels concernés

Le secteur de Bactériologie. Tout le personnel susceptible d'utilisé cette technique.

# **III - Abréviations/Définitions**

LRM: Laboratoire Rodolphe Mérieux

## <u>IV – Références</u>

# V – Contenu

# MODE OPERATOIRE DE LA TECHNIQUE DE SOUCHOTHEQUE

# 1. Principe

| Il | permet | de | conserver | les | bactéries | multi-résistantes | à | -80°C en | présence | de | glycérol | à |
|----|--------|----|-----------|-----|-----------|-------------------|---|----------|----------|----|----------|---|
| sa | voir : |    |           |     |           |                   |   |          |          |    |          |   |

| sav | on.                                       |
|-----|---|
| •   | Staphylococcus aureus (Met-R et Vanco-R); |
| •   | Pseudomonas aeroginosa ;                  |
| •   | Salmonelles;                              |
| •   | Escherichia coli ;                        |
| •   | Klebsiella pneumoniae ;                   |
| •   | Streptococcus pneumoniae.                 |
| 2.  | <u>Matériel</u>                           |
| •   | Tube à hémolyse ;                         |
| •   | Portoir tube;                             |
| •   | Micropipettes;                            |
| •   | Embouts;                                  |
| •   | Cryotubes;                                |
| •   | Tubes à vis ;                             |

Marqueur;

Congélateur (-80°C).

# 3. Réactif

- Glycérol;
- ATB Médium.

# 4. Nature du prélèvement

Souche pure des bactéries multi-résistantes.

# 5. Enregistrement

Sur le cahier de souchothèque

## 6. <u>Technique</u>

A partir d'une souche pure de BMR:

- Prendre un tube à hémolyse sur lequel on portera le numéro d'identification du patient et le nom de la bactérie à soucher;
- Prendre de l'ATB médium et remplir le tube à hémolyse jusqu'à moitié;
- Prélever à l'aide d'une oese quelques colonies isolées à partir de la purification qu'on introduira dans l'ATB médium, bien mélanger
- Mettre cette suspension à 37° C pendant 24h à l'étuve ;
- Prendre deux tubes de souchage (cryotubes) ;
- Mettre une étiquette portant le numéro de la souche correspondant aux trois premières lettres et chiffres du CODAT plus deux lettres de la souche plus le numéro d'ordre;
- Ex: W04ECO001 (premier *E. coli* souche en Avril 2012)
- Prendre soin de porter l'enregistrement dans un classeur prévu à cet effet ;
- Ensuite mesurer 800 μl de la suspension déjà préparée, mélanger avec 200 μl de glycérol puis vortexer et conserver le tout à -80° C;
- Faire le même pour les deux cryotubes.

# 7. Conservation des échantillons

Les souchothèques sont conservées au congélateur à -80 °C.

# 8. Gestion des déchets

Les objets souillés sont éliminés dans la poubelle jaune (contaminant).



# Annexe 12 : Mode opératoire de la recherche de la catalase - Version $N^\circ$ 2

| Rédigé le:                | 24/02/2005     | Par : Al Hadji SIDIBE          | AS  |       |
|---------------------------|----------------|--------------------------------|-----|-------|
| Vérifié le:               | 036/03/2005    | Par : Louis DEWEERDT           | LD  | Visa: |
| Approuvé le:              | 04/03/2005     | Par : Fatou Traoré FAYE        | FTF | Visa: |
| Modifié le:               | 21/02/2013     | Par : AHANOGBE Lem K. A        | AL  |       |
| Vérifié le :              | 22/02/2013     | Par : Judicaël OUEDRAOGO       | JO  | Visa: |
| Approuvé le:              | 27/08/2013     | Par : Dr Daniel YALCOUYE       | DY  | Visa: |
| Diffusé le :              | 30/08/2013     | Par : Abderrhamane MAIGA       | AMA |       |
| Objet de la modification: | Mise à jour de | es documents assurance qualité |     |       |
| Archivé le :              |                |                                |     |       |

X Document opérationnel

# **Destinataires**

| D. YALCOUYE | N. KEITA  | A. MAIGA  | A. CISSE    | A. TOURE   |
|-------------|-----------|-----------|-------------|------------|
| O. HAIDARA  | L. SIDIBE | K. DIARRA | J.OUEDRAOGO | B. KANOUTE |

**Exemplaires : - Classeur Assurance Qualité :** 

- Classeur de Bactériologie

# **Documents Qualité liés:**

MAQ: Manuel Assurance Qualité du LRM de Bamako

P: Procédure de la réalisation des examens Bactériologique

MO:

D:

**E**:

# I - Buts

Décrire la technique du test de la catalase en microbiologie.

# II - Domaines et personnels concernés

Le secteur de Bactériologie. Tout le personnel susceptible d'utiliser cette technique.

# **III - Abréviations/Définitions**

LRM: Laboratoire Rodolphe Mérieux

## <u>IV – Références</u>

# V – Contenu

# MODE OPERATOIRE DE LA RECHERCHE DE LA CATALASE

# 1. **But**:

La recherche de la catalase est réalisée pour différencier le genre :

- Streptococcus (catalase négative) du genre Staphylococcus (catalase positive)
- Bacillus (catalase positive) du genre Clostridium (catalase négative)
- Listeria (catalase positive) et/ou Corynebacterium (catalase positive) du genre Erysipelothrix (catalase négative)

## 2. Principe

La catalase est une enzyme qui hydrolyse le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène. La présence de catalase est détectée chez les micro-organismes par une libération d'oxygène à partir d'eau oxygénée.

La présence d'un agent épaississant et d'un colorant facilitent l'observation du dégagement gazeux.

# 3. Matériel

- Le réactif de catalase
- La lame porte-objet ;
- Le bâtonnet ;
- La souche pure.

# 4. Contrôle de qualité

L'activité du réactif peut être testée vis à vis des souches suivantes :

- Staphylococcus aureus ATCC 25923, la catalase est positive
- Enterococcus faecalis ATCC 29212, la catalase est négative

## 5. Réalisation du test

Laisser les flacons revenir à température ambiante

#### Test sur lame

- O Déposer sur la lame une goutte d'ID color catalase ;
- Disperser 1 à 2 colonies dans la goutte ;
- A l'aide d'un bâtonnet, bien triturer.

#### Test direct sur le milieu de culture

o Déposer une goutte d'ID color catalase directement sur la colonie.

## 6. Résultat

Le test doit être réalisé sur des colonies de 18 à 24 heures après incubation.

Les colonies plus âgées pourraient perdre leur catalase et donner des faux négatifs.

La présence de catalase se matérialise par une production de bulles ;

Les entérobactéries sont toutes des bactéries catalase positive, à l'exception de Shigella dysenteriae;

Les bacilles à Gram négatif non fermentaires sont en général, catalase positive telles que **Pseudomonas**, **Acinetobacter**...;

Quelques cocci à Gram positif son catalase positive comme les Staphylocoques.

## 7. Gestion des déchets

Les objets tranchants sont jetés dans une boite de sécurité et les objets souillés non tranchants dans la poubelle jaune.



# Annexe 13: Mode opératoire de la recherche de l'oxydase $\,$ - version $n^\circ$ 2

| Rédigé le:                | 25/02/2005                                  | Par : Al Hadji SIDIBE    | AS  |       |  |
|---------------------------|---|--------------------------|-----|-------|--|
| Vérifié le:               | 25/02/2005                                  | Par : Louis DEWEERDT     | LD  | Visa: |  |
| Approuvé le:              | 28/02/2005                                  | Par : Fatou Traoré FAYE  | FTF | Visa: |  |
| Modifié le:               | 21/02/2013                                  | Par : Fatoumata MAIGA    | FM  |       |  |
| Vérifié le :              | 25/03/2013                                  | Par : Boula KANOUTE      | BK  | Visa: |  |
| Approuvé le:              | 28/08/2013                                  | Par : Dr Daniel YALCOUYE | DY  | Visa: |  |
| Diffusé le :              | 30/08/2013                                  | Par : Abderrhamane MAIGA | AMA |       |  |
| Objet de la modification: | Mise à jour des documents assurance qualité |                          |     |       |  |
| Archivé le :              |   |                          |     |       |  |

| <b>Document</b> | provisoire |
|-----------------|------------|
|                 | 920120220  |

# **Destinataires**

| D. YALCOUYE | N. KEITA  | A. MAIGA  | A. CISSE    | A. TOURE   |
|-------------|-----------|-----------|-------------|------------|
|             |           |           |             |            |
| O. HAIDARA  | L. SIDIBE | K. DIARRA | J.OUEDRAOGO | B. KANOUTE |
|             |           |           |             |            |
|             |           |           |             |            |

**Exemplaires : - Classeur Assurance Qualité :** 

- Classeur de Bactériologie

# Documents Qualité liés:

MAQ: Manuel Assurance Qualité du LRM de Bamako

P: Procédure de la réalisation des examens Bactériologique

MO:

D:

**E**:

# I – Buts

Décrire la technique du test de l'oxydase en microbiologie.

# II - Domaines et personnels concernés

Le secteur de Bactériologie. Tout le personnel susceptible d'utiliser cette technique.

## **III - Abréviations/Définitions**

LRM: Laboratoire Rodolphe Mérieux

# IV – Références

# V – Contenu

# MODE OPERATOIRE DE LA RECHERCHE DE L'OXYDASE

# 1. But du test:

La recherche de l'oxydase permet :

- D'identifier le genre Neisseria spp (positif)
- De séparer les Entérobactéries (négatif) des espèces du genre Pseudomonas (positifs pour la plupart)
- De différencier *Moraxella* (positif) et *Neisseira* (positif) d'*Acinetobacter* (négatif)
- De différencier *Pseudomonas maltophilia* (négatif) des autres Pseudomonas sp (positif)
- D'aider à l'identification d'*Aeromonas* (positif), *Alcaligenes* (positif), *Branhamella* (positif) et *Yersinia* (négatif).

# 2. Principe

Le test de l'oxydase est basé sur la production bactérienne d'une enzyme oxydase intracellulaire.

En présence d'oxygène atmosphérique et de cytochrome C, cette enzyme oxyde le réactif phénylènediamine, pour former un composé coloré en violet, l'indophénol.

L'acide ascorbique, incorporé dans le réactif, agit en tant qu'agent réducteur pour limiter l'auto-oxydation et améliorer la stabilité du réactif. Cette formulation est basée sur la formule de la réactive oxydase de Kovac.

## 3. Matériel

- Oese (en platine, plastique).
- Disques non imprégnés de diamètre 6 mm.

### 4. Condition de stockage

- Les réactifs se conservent entre 18°C et 25°C dans leur coffret jusqu'à la date de péremption.
- Ne pas congeler.

- Conserver à l'abri de la lumière.
- Le réactif oxydase s'auto-oxyde rapidement et perd sa sensibilité. Tout réactif partiellement utilisé doit être éliminé au bout de 24 heures.

# 5. Nature de l'échantillon

L'échantillon est constitué d'une colonie isolée pour laquelle on veut détecter l'enzyme cytochrome oxydase. Cette colonie doit être issue d'une culture de 18 à 24 heures sur milieux de culture gélosés solides.

# 6. Contrôle de qualité

L'activité du réactif peut être testée à l'aide des souches suivantes cultivées sur géloses Trypcase-Soja (ou Drigalski) :

| • | Pseudomonas aeruginosa | ATCC 27853 |
|---|------------------------|------------|
| • | Escherichia coli       | ATCC 25922 |

| Souche                 | Résultats                    |
|------------------------|------------------------------|
| Pseudomonas aeruginosa | Positif: coloration violette |
| ATCC 27853             |                              |
| Escherichia coli       | Négatif : pas de coloration  |
| ATCC 25922             |                              |

# 7. Réalisation du test

- Placer le flacon compte-gouttes dans le briseur d'ampoule.
- Tapoter le fond du flacon pour éliminer les bulles qui auraient pu s'y former.
- Saisir le milieu de l'ensemble flacon/briseur et appuyer doucement pour briser l'ampoule.
- Distribuer précisément une goutte de réactif sur un disque non imprégné de diamètre 6 mm.
- Etaler la colonie sur le disque.

## 8. Résultat

## Lecture et interprétation

- L'apparition en 10 à 30 secondes d'une coloration allant de violet à pourpre indique un test positif.
- O Des réactions tardives ou l'absence de couleur indiquent un test négatif.

#### NB:

- La réaction d'oxydase ne doit pas être réalisée sur des colonies obtenues sur gélose EMB ou CHAPMAN 2, ni sur des colonies issues d'une culture de 48 heures sur des milieux gélosés solides.
- La recherche de l'oxydase ne doit pas être effectuée sur des colonies isolées présentant une coloration spontanée (couleur violette, rose, noire...). Dans ce cas, la lecture du test est impossible.
- L'utilisation d'un volume de réactif trop important peut entraîner des résultats faussement négatifs. N'utiliser qu'une seule goutte de réactif comme indiqué dans le mode opératoire.
- Il est conseillée d'utiliser une oese ou une aiguille en platine ou en plastique pour le test de l'oxydase. Toute trace de fer (nichrome) peut catalyser la réaction de l'oxydase et conduire à une réaction faussement positive.
- Tout réactif partiellement utilisé doit être éliminé au bout de 12 heures.
- Les genres faiblement producteurs d'oxydase comme les *Pasteurella*, peuvent donner des résultats négatifs.
- Des résultats faussement négatifs peuvent survenir en cas de cultures mixtes de Pseudomonas et Neisseria. Une substance inhibitrice est produite par Pseudomonas spp. interférant avec la production d'oxydase de Neisseria spp.

# 9. Gestion des déchets

Les réactifs non utilisés peuvent être éliminés comme déchets non dangereux.

Eliminer les réactifs utilisés ainsi que les matériels à usage unique contaminés en suivant les procédures relatives aux produits infectieux ou potentiellement infectieux.

Il incombe à chaque laboratoire de gérer les déchets et les effluents qu'il produit selon leur nature et leur dangerosité, et d'en assurer (ou faire assurer) le traitement et l'élimination selon les réglementations applicables.

# Annexe 14 : Exemple de fiche de rangement des bactéries multi résistantes

BOITE 3 / MICROORGANISME: E. coli

| POSITION    | N° SOUCHE | N° CODAT | AGE   | SEXE | DATE RANGE | ORIGINE (HOSPI,COMMU) | PRELEVEMENT | Identification (espèce) | MECANISME (BLSE |
|-------------|-----------|----------|-------|------|------------|-----------------------|-------------|-------------------------|-----------------|
| POSITION 32 | 16        | Y0107306 | 60    | M    | 13/01/2014 | HGT                   | LIQ ASCITE  | E coli                  | BLSE/Vitek      |
| 32          | 17        | Y0107056 | 84    | M    | 13/01/2014 | HGT                   | URINE       | E coli                  | BLSE/Vitek      |
|             |           | Y0107056 | 84    | M    | 13/01/2014 | HGT                   | URINE       | E coli                  | BLSE/Vitek      |
| 34          | 17        |          | 36    | F    | 15/01/2014 | ,,,,,                 | URINE       | E coli                  | BLSE/Vitek      |
| 35          | 18        | Y0110014 | 36    | F    | 15/01/2014 |                       | URINE       | E coli                  | BLSE/Vitek      |
| 36          | 18        | Y0110014 | 64    | F    | 22/01/2014 | COMMUNAUTAIRE         | URINE       | E coli                  | BLSE/Vitek      |
| 37          | 19        | Y0117081 | 64    | F    | 22/01/2014 | COMMUNAUTAIRE         | URINE       | E coli                  | BLSE/Vitek      |
| 38          | 19        | Y0117081 |       | M    | 28/01/2014 | H DU PT G             | URINE       | E coli                  | BLSE/Vitek      |
| 39          | 20        | Y0124013 | 74    | M    | 28/01/2014 | H DU PT G             | URINE       | E coli                  | BLSE/Vitek      |
| 40          | 20        | Y0124013 | 74    | M    | 28/01/2014 | COMMUNAUTAIRE         | PUS         | E coli                  | BLSE/Vitek      |
| 41          | 21        | Y0124051 | 65    |      | 28/01/2014 | COMMUNAUTAIRE         | PUS         | E coli                  | BLSE/Vitek      |
| 42          | 21        | Y0124051 | 65    | M    |            | CLINIQUE PASTEUR      | URINE       | E coli                  | BLSE/Vitek      |
| 43          | 22        | Y0127083 | 80    | M    | 30/01/2014 | CLINIQUE PASTEUR      | URINE       | E coli                  | BLSE/Vitek      |
| 44          | 22        | Y0127083 | 80    | М    | 30/01/2014 | H DU PT G             | URINE       | E coli                  | BLSE/Vitek      |
| 45          | 23        | Y0130027 | 70    | М    | 03/02/2014 | H DU PT G             | URINE       | E coli                  | BLSE/Vitek      |
| 46          | 23        | Y0130027 | 70    | М    | 03/02/2014 |                       | URINE       | E coli                  | BLSE/Vitek      |
| 47          | 24        | Y0204006 | 71    | М    | 07/02/2014 | H DU PT G             | URINE       | E coli                  | BLSE/Vitek      |
| 48          | 24        | Y0204006 | 71    | М    | 07/02/2014 | H DU PT G             |             | E coli                  | BLSE/Vitek      |
| 49          | 25        | Y0206019 | 66    | М    | 10/02/2014 | H DU PT G             | PU<br>PU    | E coli                  | BLSE/Vitek      |
| 50          | 25        | Y0206019 | 66    | М    | 10/02/2014 | H DU PT G             |             | E coli                  | BLSE/Vitek      |
| 51          | 26        | Y0211015 | 33    | F    | 14/02/2014 | HGT                   | URINE       | E coli                  | BLSE/Vitek      |
| 52          | 26        | Y0211015 | 33    | F    | 14/02/2014 | HGT                   | URINE       |                         | BLSE/Vitek      |
| 53          | 27        | Y0214006 | 60    | М    | 18/02/2014 | H MERE-ENFANT         | EXP         | E coli                  | BLSE/Vitek      |
| 54          | 27        | Y0214003 | 60    | М    | 18/02/2014 | H MERE-ENFANT         | EXP         | E coli                  | BLSE/Vitek      |
| 55          | 28        | Y0214060 | 55    | F    | 18/02/2014 | H DU PT G             | URINE       | E coli                  |                 |
| 56          | 28        | Y0214060 | 55    | F    | 18/02/2014 | H DU PT G             | URINE       | E coli                  | BLSE/Vitek      |
| 57          | 29        | Y0214069 | 30    | F    | 18/02/2014 | H DU PT G             | URINE       | E coli                  | BLSE/Vitek      |
| 58          | 29        | Y0214069 | 30    | F    | 18/02/2014 | H DU PT G             | URINE       | E coli                  | BLSE/Vitek      |
| 59          |           | Y0219065 | 22    | М    | 24/02/2014 | H DE KATI             | PUS         | E coli                  | BLSE/Vitek      |
| 60          |           | Y0219065 | 22    | M    | 24/02/2014 | H DE KATI             | PUS         | E coli                  | BLSE/Vitek      |
| 61          | _         | Y0220014 | 24    | F    | 24/02/2014 | H DU PT G             | URINE       | E coli                  | BLSE/Vitek      |
| 62          |           | Y0220014 | 24    | F    | 24/02/2014 | H DU PT G             | URINE       | E coli                  | BLSE/Vitek      |
| 63          |           | Y0221024 | 6MOIS | F    | 25/02/2014 | COMMUNAUTAIRE         | URINE       | E coli                  | BLSE/Vitek      |

Le nº de la souche correspond au 3 premiers lettres et chiffres de CODAT +2 lettres de la souche + le numero d'ordre. Ex: W12ECO20 (20ème E. coli isolé en Dec,2012)

# Annexe 15 : Antibiogramme du BMR

Laboratoire Rodolphe Merieux

ient bioMérieux ; léférence du système ; v2c Rapport du laboratoire

Imprime 8 févr. 2014 08:54 GMT

Imprimé par : labsuper

Groupe d'isolats : y0206019 pu-1

Profil biochimique : 0405611150524611 Germe sélectionné : Escherichia coll

| TO THE RESERVE OF THE |  |
|--|--|
| Commentaires :   |  |
|  |  |

| Informations sur<br>l'identification |                | Carte : GN Terminée le : 7 févr. 2014 15:01 GMT |                    | État : Einal |          | Péremption :            | 30 sept. 2014<br>12:00 GMT<br>4,75 heures |  |
|--------------------------------------|----------------|---|--------------------|--------------|----------|-------------------------|---|--|
|                                      |                |   |                    |              |          | Heure de<br>l'analyse : |   |  |
| Germe sélectionné                    |                | 95% de probabilité Escherichia coli             |                    |              | nia coli |                         |   |  |
|                                      |                | Profil blochimique : 0405611150524611           |                    |              |          | Fiabilité :             | Très bonne<br>identification              |  |
| Germe SRF                            |                |   |                    |              |          |                         |   |  |
| Germes identi                        | liés et tests  | discriminants :                                 |                    |              |          |                         |   |  |
| Commentaire :                        | sur l'ident. : |   |                    |              |          |                         |   |  |
| ANT/BIOTIQUE<br>Pipëracilline/taz    |                | Croissance insuffisa                            | inte dans le puits | de contrôle. |          |                         |   |  |
| Tests à l'encor                      | ntre           |   |                    |              |          |                         |   |  |
| Escherichia coli                     |                | dSOR(90),PHO5                                   |                    |              |          |                         |   |  |

|                                 | Carte: AST-N233  Terminé 8 févr. 2014 e le: 04:16 GMT |                | N° de lot : 633299810<br>État : Final |          | Péremptio<br>n :                  | 28 févr. 2015<br>12:00 GMT |
|---------------------------------|---|----------------|---------------------------------------|----------|-----------------------------------|----------------------------|
| Résultats Antibiogramme         |   |                |                                       |          | Heure de l'analyse : 18,00 heures |                            |
| Antibiotique                    | CMI   | Interprétation | Antib                                 | piotique | CMI                               | Interprétation             |
| Ampicilline                     | >= 32   | R              | Imipénème                             |          | <= 0,25                           | S                          |
| Amoxicilline/acide clavulanique | 16  | R              | Amikacine                             |          | <= 2                              | S                          |
| Ticarcilline                    | >= 128  | R              | Gentamicine                           |          | >= 16                             | R                          |
| Pipéracilline/tazobactam        | TRM   |                | Tobramycine                           |          | <= 1                              | S                          |
| Céfalotine                      | >= 64   | R              | Acide natidixique                     |          | >= 32                             | R                          |
| Céfoxitine                      | >= 64   | R              | Ciprofloxacine                        |          | >= 4                              | R                          |
| Céfotaxime                      | >= 64   | R              | Ofloxacine                            |          | >= 8                              | R                          |
| Ceftazidime                     | >= 64   | R              | Nitrofurantoïne                       |          | 128                               | R                          |
| Ertapénème                      | <= 0,5  | S              | Triméthoprime/sulfaméthoxazole        |          | >= 320                            | R                          |

<sup>+=</sup> Antibiotique déduit \*= Modification AES \*\*= Modification Utilisateur

Version de VITEK 2 Systems installée : 05.04 Norme d'interprétation des CMI : Global European-based Nom du jeu de paramètres AES ; Global European-based+Phenotypic

Politique d'interprétation thérapeutique : PHENOTYPIC Dernière modification du paramètre AES : 11 sept. 2012 : 11:45 GMT

Page 1/2

#### 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 des actes criminels.

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

Que je sois couverte d'opprobre et méprisée de mes confrères si j'y manque.

Je le jure