

Caractéristiques de la population d'étude

1. Résultats

Durant la période de notre étude 1227 cultures de pathogènes ont été soumises au Vitek MS pour une identification d'éventuels pathogènes. Ces pathogènes ont été isolés à partir de 999 échantillons provenant des 835 patients inclus dans notre étude.

Caractéristiques de la population d'étude

1.1.1 Répartition selon le sexe

Plus de la moitié des patients inclus dans notre étude (496 patients soit 59 %) étaient des femmes tandis que 339 restant représentaient les hommes soit (41 % de la totalité des patients) soit un sex-ratio de 0,69 (Figure 12).

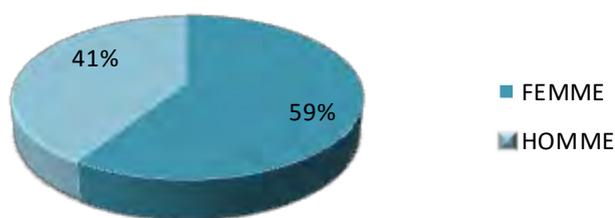


Figure 12 : Répartition des patients suivant le sexe

1.1.2 Répartition selon l'âge

La moyenne d'âge des patients sur qui les prélèvements cyto bactériologiques ont été effectués était de 42 ans et des extrêmes de 0 et 90 ans. La tranche d'âge majoritaire était comprise entre [30-45 ans] et [60-75 ans] (Figure 13).

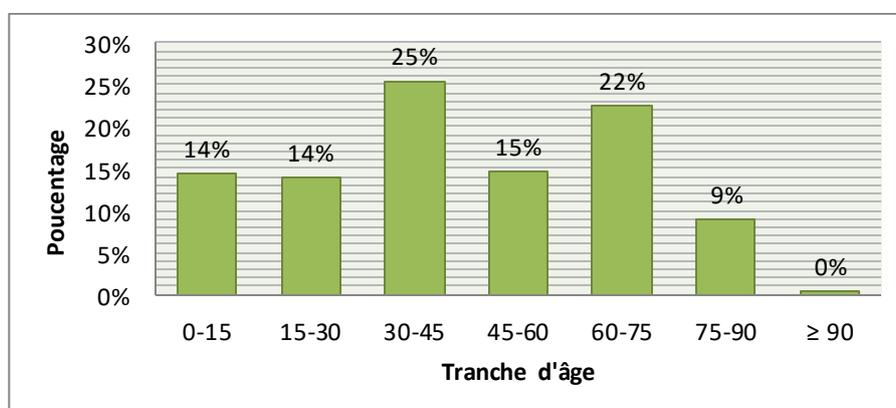


Figure 13 : Répartition des patients selon les tranches d'âge

1.1.3 Répartition des patients par département

Sur les 835 patients inclus dans notre étude, les 346 (41 %) venaient d'autres structures (externes) tandis que les 489 restants concernaient les malades hospitalisés (59 %) et étaient répartis dans quatre grands départements, par ordre d'importance du nombre de malades. Départements de médecine soit 179 cas (21 %), suivis du département de mère-enfant 128 patients (15%), chirurgie (102 soit 12 %) et d'Urgence-anesthésie-réanimation (78 soit 9 %) (Figure 14).

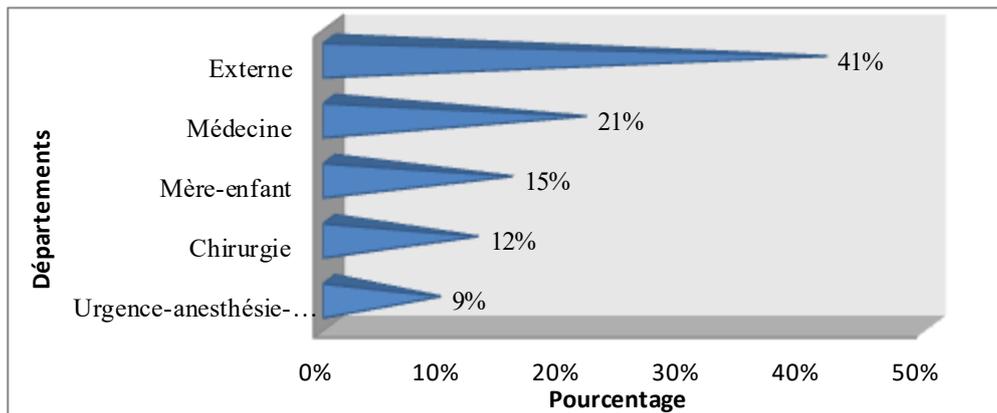


Figure 14 : Répartition des patients selon le département

1.2 Répartition par type de prélèvement

1.2.1 Nature des différents types d'échantillons

Au cours de notre étude 999 échantillons provenant des 835 patients inclus dans notre étude ont été reçus et traités pour d'éventuels examens cyto bactériologiques au sein du laboratoire (Tableau I).

Tableau I : Les différents types d'échantillons étudiés

NATURE DES ECHANTILLONS	NOMBRE D'ECHANTILLONS	POURCENTAGE
LIQUIDE D'ASPIRATION BROCHIQUE (BA)	5	0,50%
SELLES	8	0,80%
CRACHAT	38	3,80%
PRELEVEMENT DE GORGE	4	0,40%
BALLON D'HEMOCULTURE	88	8,81%
CATHETER	30	3,00%
LIQUIDE DE LAVAGE BRONCHOALVEOLAIRE(LBA)	7	0,70%
LIQUIDE CEPHALORACHIDIEN(LCR)	1	0,10%
LIQUIDE DE PONCTION (LPONC)	10	1,00%
PRELEVEMENT BROCHIQUE PROTEGE(PBP)	16	1,60%
PRELEVEMENT GASTRIQUE(PG)	28	2,80%
PRELEVEMENT URETRAL(PU)	2	0,20%
PUS	149	14,91%
PRELEVEMENT VAGINAL(PV)	218	21,82%
PRELEVEMENT VULVAIRE(PVUL)	3	0,30%
SONDE	21	2,10%
SPERME	2	0,20%
URINES	369	36,94%
TOTAL	999	100,00%

Les prélèvements les plus significatifs étaient les urines (36,94%), prélèvements vaginaux (21,82%), pus (14,91%) et hémoculture (8,81%) avec $p < 0,05$ (Figure 15).

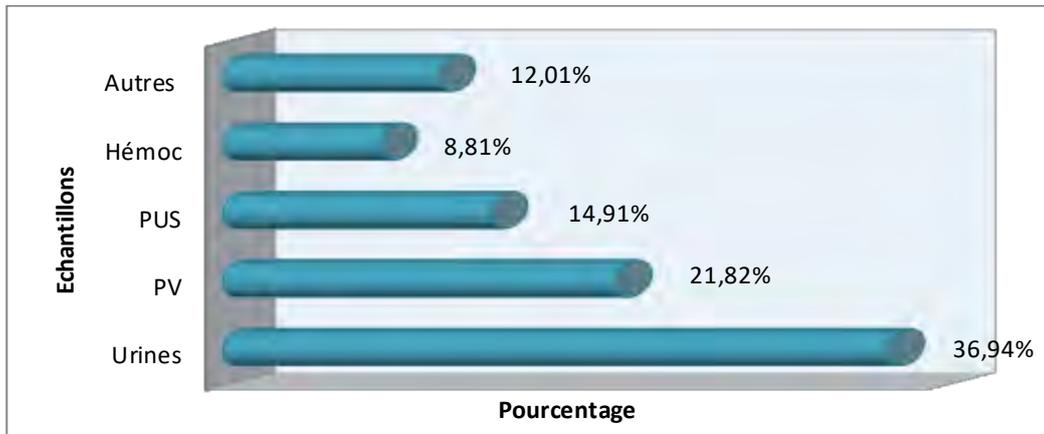


Figure 15 : Les échantillons reçus au laboratoire

1.2.2 Répartition des différents prélèvements en fonction des départements de provenance

Sur les 999 prélèvements reçus, les 214 provenaient de patients externes. Les 785 échantillons restants provenaient des services internes de l'Hôpital. Par ordre d'importance, les échantillons nous provenaient des départements de médecine (241 soit 30 %), mère-enfant (154 soit 18 %), chirurgie (122 soit 16 %) et urgence-anesthésie-réanimation (119 soit 15 %) (Figure 16).

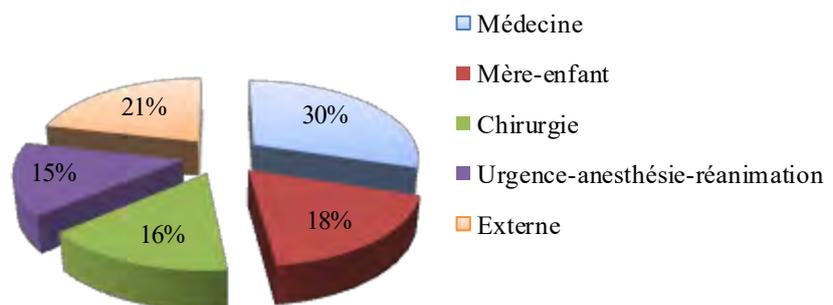


Figure 16 : Répartition des produits pathologiques en fonction du département de provenance

1.3 Principaux types de pathogènes identifiés :

Le MALDI-TOF a identifié 1111 germes dont 957 étaient des bactéries soit 86 % et 154 restantes étaient des levures soit 14%. Les différents germes identifiés par le MALDI-TOF sont représentés dans le Tableau II.

Tableau II : Répertoire des germes identifiés par le MALDI-TOF

GROUPE	GENRE	ES PECE	NOMBRE	
COCCIG+	Staphylococcus	Staphylococcus arlettae	2	
		Staphylococcus aureus	58	
		Staphylococcus capitis	1	
		Staphylococcus cohnii ssp cohnii	2	
		Staphylococcus epidermidis	20	
		Staphylococcus haemolyticus	52	
		Staphylococcus hominis	3	
		Staphylococcus lugdunensis	3	
		Staphylococcus saprophyticus	3	
		Staphylococcus sciuri	2	
		Staphylococcus simulans	1	
		Staphylococcus xylosus	1	
		Streptococcus	Streptococcus agalactiae	54
	Streptococcus anginosus		4	
	Streptococcus anginosus (S.milleri)		2	
	Streptococcus constellatus		1	
	Streptococcus gallolyticus ssp gallolyticus		1	
	Streptococcus gallolyticus ssp pasteurianus		2	
	Streptococcus infantarius ssp infantarius		1	
	Streptococcus mitis		17	
	Streptococcus oralis		1	
	Streptococcus paraHémocuinis		2	
	Streptococcus pneumoniae		1	
	Streptococcus pyogenes		3	
	Streptococcus salivarius		2	
	Streptococcus salivarius ssp salivarius	1		
	Enterococcus	Enterococcus avium	1	
		Enterococcus faecalis	57	
		Enterococcus faecium	8	
	Micrococcus	Micrococcus luteus	1	
	ENTEROBACTERIES	Citrobacter	Citrobacter braakii	1
			Citrobacter freundii	3
			Citrobacter koseri	2
Citrobacter werkmanii			1	
Citrobacter youngae			1	
Enterobacter		Enterobacter aerogenes	2	
		Enterobacter asburiae	6	
		Enterobacter cloacae	17	
		Enterobacter cloacae / Enterobacter asburiae	1	
		Enterobacter gergoviae	1	
		Enterobacter hormaechei	5	
		Enterobacter kobei	2	
Escherichia		Escherichia coli	215	
Klebsiella		Klebsiella oxytoca	5	
		Klebsiella pneumoniae	123	
Pantoea		Pantoea agglomerans	1	
Proteus		Proteus mirabilis	9	
		Proteus vulgaris	1	
		Proteus vulgaris/penneri	1	
Providencia		Providencia rettgeri	3	
		Providencia stuartii	7	
Salmonella		Salmonella group	2	
		Salmonella ser.Paratyphi A	1	
Serratia	Serratia marcescens	5		
Morganella	Morganella morganii	12		
LEVURES	Blastomyces	Blastomyces dermatitidis	1	
	Candida	Candida africana	3	
		Candida africana/albicans	9	
		Candida africana/albicans/dubliniensis	1	
		Candida albicans	92	
		Candida glabrata	16	
		Candida kefyr	2	
		Candida krusei	8	
		Candida tropicalis	19	
	Pichia	Pichia fabianii	1	
	Saprochaete	Saprochaete capitata	1	
	Aspergillus	Aspergillus niger complex	1	
	Alternaria	Alternaria alternata	1	

1.3.1 Bactéries identifiées par le MALDI

Sur les 957 bactéries identifiées par le MALDI-TOF, 594 sont réparties en BGN (soit 62 %), 313 C+ (33 %) et 50 BGP (5 %). Les différentes bactéries sont représentées dans la Figure 17.

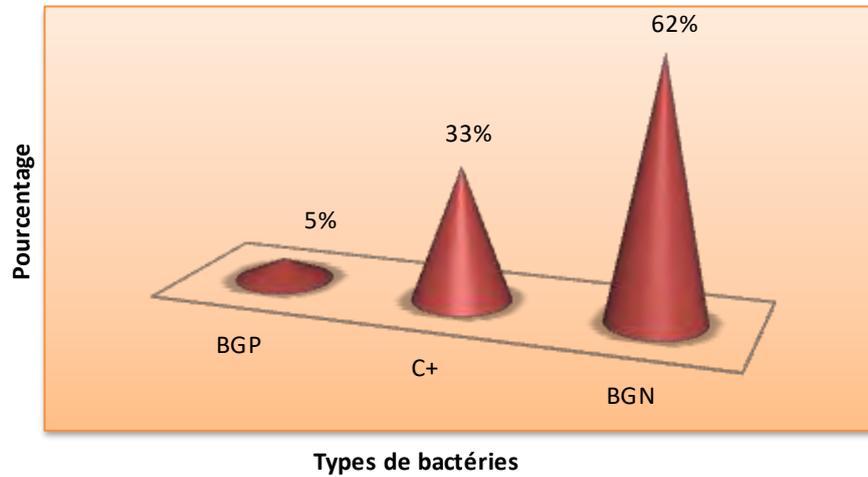


Figure 17 : Répartition de différentes bactéries suivant leur typologie

1.3.1.1 Principaux cocci identifiés

Les 313 cocci identifiés étaient essentiellement répartis en bactéries à Gram positif composés respectivement de *staphylocoques* (47%), de *streptocoques* (30 %), d'*entérocoques* (21 %) et de cocci appartenant à d'autres genres (2 %) (Figure 18).

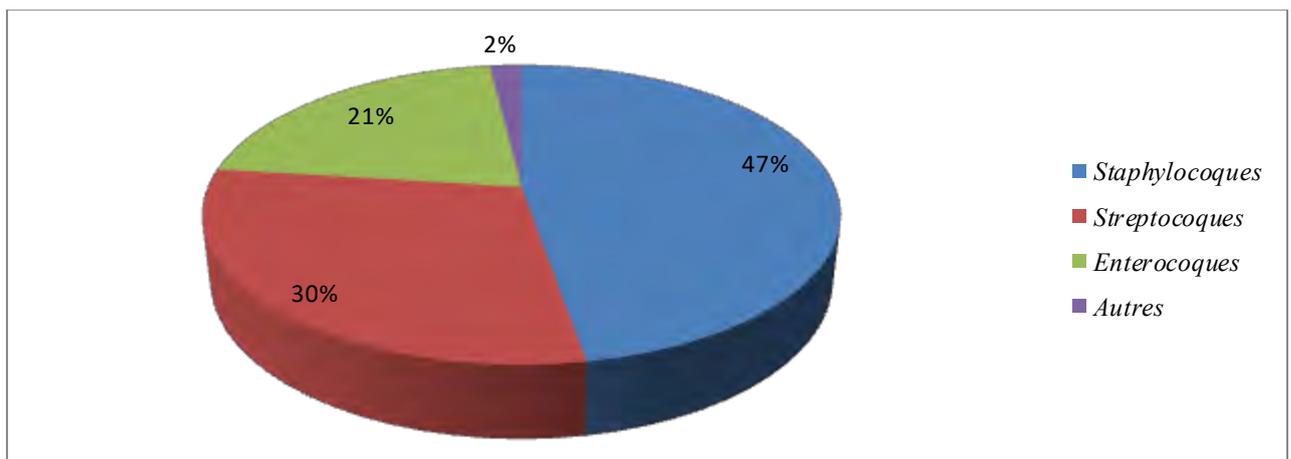


Figure 18 : Principaux types de cocci retrouvés

❖ Staphylocoques

Nous avons répertorié au total 148 bactéries du genre *Staphylococcus* (Tableau III).

Tableau III : L'ensemble des staphylocoques identifiés par le MALDI-TOF.

GROUPE	ESPECE	NOMBRE	POURCENTAGE
Staphylocoque à coagulase positive	<i>Staphylococcus aureus</i>	58	39,2 %
	<i>Staphylococcus arlettae</i>	2	1,4 %
staphylocoque à coagulase négative	<i>Staphylococcus capitis</i>	1	0,7 %
	<i>Staphylococcus cohnii ssp cohnii</i>	2	1,4 %
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	20	13,5 %
	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	52	35,1 %
	<i>Staphylococcus hominis</i>	3	2,0 %
	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	3	2,0 %
	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	3	2,0 %
	<i>Staphylococcus sciuri</i>	2	1,4 %
	<i>Staphylococcus simulans</i>	1	0,7 %
	<i>Staphylococcus xylosus</i>	1	0,7 %
Total		148	100 %

Le MALDI-TOF n'a eu aucune difficulté à identifier ces dernières car les ayant tous identifié avec une certitude de 99,9 % correspondant au score maximal de l'appareil. Ces bactéries, étaient composées pour 61% (90) de *staphylocoques* à coagulase négative et pour 39 % (58) de *Staphylococcus aureus* (Figure 19). Parmi toutes les espèces identifiées, le *staphylococcus aureus* est la plus répandue (39%) suivis du *Staphylococcus haemolyticus* (35,1%) et *Staphylococcus epidermidis* (13,5%) (Figure 20).

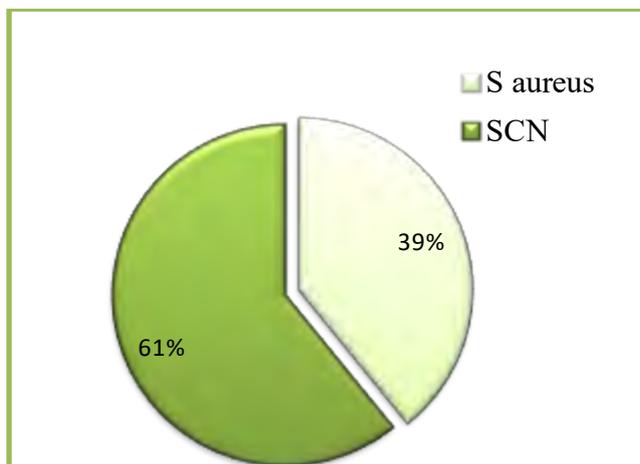


Figure 19 : Les différents types de staphylocoques identifiés

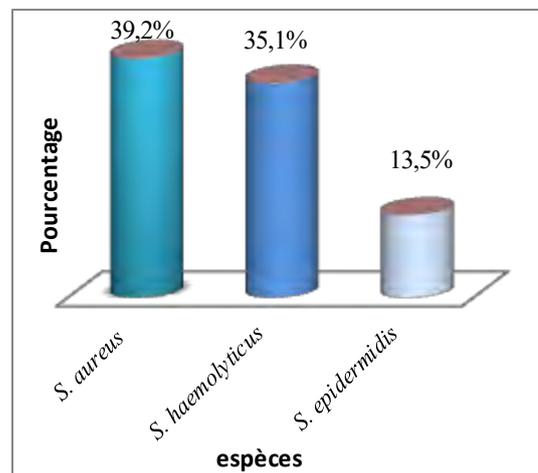


Figure 20 : Les différentes espèces de staphylocoques identifiées.

❖ Streptocoques

Le MALDI-TOF a identifié au total 92 bactéries du genre *Streptococcus* (Tableau IV).

Tableau IV : Les différents streptocoques identifiés:

LES STREPTOCOQUES	NOMBRE	POURCENTAGE
<i>Streptococcus agalactiae</i>	54	59 %
<i>Streptococcus anginosus</i>	4	4 %
<i>Streptococcus anginosus (S.milleri)</i>	2	2 %
<i>Streptococcus constellatus</i>	1	1 %
<i>Streptococcus gallolyticus ssp gallolyticus</i>	1	1 %
<i>Streptococcus gallolyticus ssp pasteurianus</i>	2	2 %
<i>Streptococcus infantarius ssp infantarius</i>	1	1 %
<i>Streptococcus mitis</i>	17	18 %
<i>Streptococcus oralis</i>	1	1 %
<i>Streptococcus paraHémocuinis</i>	2	2 %
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1	1 %
<i>Streptococcus pyogenes</i>	3	3 %
<i>Streptococcus salivarius</i>	2	2 %
<i>Streptococcus salivarius ssp salivarius</i>	1	1 %
TOTAL	92	100 %

Cette population bactérienne était essentiellement composée de bactéries appartenant à l'espèce *S. agalactiae* (58%) qui sont en fait des streptocoques du groupe B. Seulement (3 %) bactéries appartenant à l'espèce *Streptococcus pyogenes* (groupe A) avaient été identifiées. Le reste des streptocoques identifiés étaient pour l'essentiel des streptocoques oraux (39%) (Figure 21).

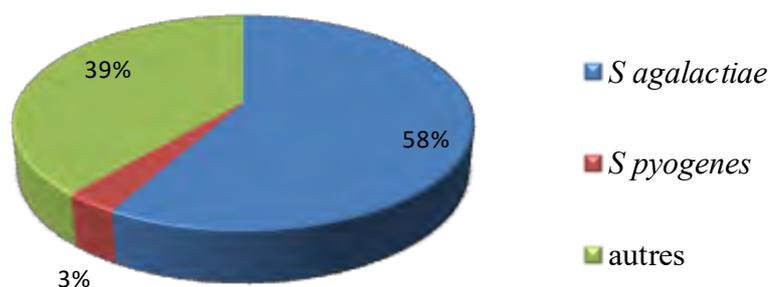


Figure 21 : Les différents types de streptocoques identifiés

1.3.1.2 Principales bactéries à Gram négatif

Les bacilles à Gram négatif sont constitués principalement par les entérobactéries (les bactéries les plus fréquemment isolées en microbiologie médicale) et les bactéries non fermentaires.

❖ Entérobactéries

Une grande variété de genre d'entérobactéries a été identifiée par le MALDI-TOF (Tableau V).

Tableau V : Récapitulatif des principales entérobactéries identifiées

GENRE	ESPECE	NOMBRE	TOTAL
Citrobacter	<i>Citrobacter braakii</i>	1	8
	<i>Citrobacter freundii</i>	3	
	<i>Citrobacter koseri</i>	2	
	<i>Citrobacter werkmanii</i>	1	
	<i>Citrobacter youngae</i>	1	
Enterobacter	<i>Enterobacter aerogenes</i>	2	34
	<i>Enterobacter asburiae</i>	6	
	<i>Enterobacter cloacae</i>	17	
	<i>Enterobacter cloacae / Enterobacter asburiae</i>	1	
	<i>Enterobacter gergoviae</i>	1	
	<i>Enterobacter hormaechei</i>	5	
	<i>Enterobacter kobei</i>	2	
	<i>Escherichia coli</i>	215	
Klebsiella	<i>Klebsiella oxytoca</i>	5	128
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	123	
Morganella	<i>Morganella morganii</i>	12	12
PROTEUS	<i>Proteus mirabilis</i>	9	11
	<i>Proteus vulgaris</i>	1	
	<i>Proteus vulgaris/penneri</i>	1	
Providencia	<i>Providencia rettgeri</i>	3	10
	<i>Providencia stuartii</i>	7	
Salmonella	<i>Salmonella group</i>	2	3
	<i>Salmonella ser. Paratyphi A</i>	1	
Serratia	<i>Serratia marcescens</i>	5	5
TOTAL			426

Dans ce groupe les genres les plus représentés sont *Escherichia* (50%) et *Klebsiella* (30%).

De manière générale le MALDI-TOF n'a pas rencontré de grandes difficultés à identifier le genre et l'espèce d'appartenance des entérobactéries. Seulement quelques cas de confusions :

- pour les *Enterobacter*, le Vitek MS n'arrive pas à différencier *Enterobacter cloacae* d'*Enterobacter asburiae* dans certains cas ;
- pour les 3 souches de *Salmonella* isolées seule la souche paratyphi A a pu bénéficier d'une identification complète avec détermination du genre, de l'espèce et même du serovar. Par contre pour les 2 autres souches seul le genre pouvait être identifié ;
- les *Proteus vulgaris* et *Proteus penneri* étaient souvent confondues.

❖ Non entérobactéries

Pour les non fermentaires (Tableau VI), la grande majorité des bactéries identifiées par le MALDI-TOF était constituée d'*Acinetobacter baumannii* (46 %) et de *Pseudomonas aeruginosa* (36 %). Il n'a pas été constaté de confusion dans l'identification des bactéries appartenant à ce groupe, que ce soit au niveau de la détermination du genre ou de l'espèce.

Tableau VI : Récapitulatif des différentes bactéries non fermentaires

NON FERMENTAIRE	NOMBRE	POURCENTAGE
<i>Acinetobacter baumannii</i>	11	7 %
<i>Acinetobacter baumannii complex</i>	58	39 %
<i>Acinetobacter haemolyticus</i>	3	2 %
<i>Acinetobacter junii</i>	3	2 %
<i>Acinetobacter radioresistens</i>	1	1 %
<i>Acinetobacter schindleri</i>	1	1 %
<i>Acinetobacter ursingii</i>	1	1 %
<i>Alcaligenes faecalis ssp faecalis</i>	1	1 %
<i>Burkholderia cenocepacia</i>	4	3 %
<i>Burkholderia cepacia</i>	1	1 %
<i>Burkholderia lata</i>	1	1 %
<i>Burkholderia sp.</i>	1	1 %
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	54	36 %
<i>Pseudomonas putida</i>	3	2 %
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	2	1 %
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	3	2 %
<i>Pandoraea sputorum</i>	1	1 %
TOTAL	149	100 %

1.3.1.3 Bacilles à Gram positif

Les principaux bacilles à Gram positif identifiés par le MALDI-TOF étaient les *Bacillus* (soit 44 %), des corynebactéries qui représentaient (34%), des *Lactobacillus* (18%), et des *Lysinibacillus* (4 %) (Figure 22).



Figure 22 : Les différents bacilles Gram positif identifiés

1.3.2 Levures identifiées par le MALDI-TOF

Au total 154 souches de levures ont été identifiées par le MALDI TOF (Tableau VII).

Tableau VII : Les différentes levures identifiées par le MALDI-TOF

LES LEVURES	NOMBRE	POURCENTAGE
<i>Blastomyces dermatitidis</i>	1	1 %
<i>Candida africana</i>	3	2 %
<i>Candida africana/albicans</i>	9	6 %
<i>Candida africana/albicans/dublinsiensis</i>	1	1 %
<i>Candida albicans</i>	92	59 %
<i>Candida glabrata</i>	16	10 %
<i>Candida kefyr</i>	2	1 %
<i>Candida krusei</i>	8	5 %
<i>Candida tropicalis</i>	19	12 %
<i>Pichia fabianii</i>	1	1 %
<i>Saprochaete capitata</i>	1	1 %
<i>Aspergillus niger complex</i>	1	1 %
<i>Alternaria alternata</i>	1	1 %
Total	154	100 %

Ces dernières étaient principalement des *Candida* avec une nette prédominance de *Candida albicans* (93 germes ; 60 % des germes). Il a été observé 9 cas de confusions dans lesquels le MALDI-TOF n'était pas parvenu à dissocier *Candida albicans* et *Candida africana*. A cela s'ajoute un cas de confusion entre *Candida albicans*, *Candida africana* et *Candida dubliniensis*.

En dehors des candidoses le MALDI-TOF avait identifié des levures appartenant aux espèces *Blastomyces dermatidis*, *Pichia fabianii* et *Saprochaeta capitata*.

1.4 Taux de contributivité du MALDI-TOF

Au total 1227 germes avaient été soumis au MALDI-TOF pour identification. Cet analyse avait conduit à l'identification de 1111 germes et 116 germes pour lesquels le MALDI-TOF n'avait pas pu déterminer le genre et l'espèce d'appartenance découlant ainsi sur une contributivité globale de 91 % et un $p < 0,05$ donc ces résultats sont statistiquement significatifs (Figure 23).

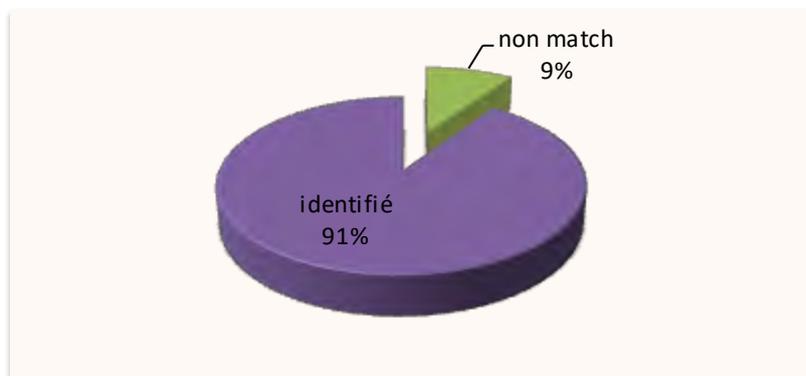


Figure 23 : Taux de contributivité du MALDI-TOF

2. Discussion

2.1 Caractéristiques de la population d'étude

2.1.1 Age

La moyenne d'âge dans notre population d'étude était de 42 ans avec des extrêmes de 0 et 90 ans. Cette hétérogénéité des patients est surtout liée à la polyvalence de l'hôpital qui reçoit tout type de patient à toutes les tranches d'âges, ainsi que les nombreux services dont il dispose.

2.1.2 Sexe

Notre population d'étude était composée pour 41 % d'hommes et pour 59 % de femmes, laissant ainsi apparaître une nette prédominance féminine matérialisée par un sex-ratio de 0,69. Ces résultats pourraient s'expliquer par le fait que les femmes soient beaucoup plus vulnérables face aux infections. Et ceci pourrait être lié à leur anatomie qui les prédispose face à de nombreuses infections à l'occurrence des infections urinaires et vaginales.

C'est sur cette lancée que KENKOUO (2008) dans son rapport de stage rapporte que les femmes faisaient plus d'infections urinaires que les hommes et que le risque d'infection augmente de 44,5 % lorsque le patient est une femme. Il est également retenu que certaines infections sont spécifiques aux femmes comme les candidoses vulvo-vaginales (KAUFFMAN *et al.*, 2011).

2.1.3 Répartition de la population d'étude

Nos résultats ont montré que, notre population d'étude était composée essentiellement des patients hospitalisés avec un pourcentage de 59% et la majorité provenaient du département de médecine. Cette prédominance des patients notée dans ce département pourrait être expliquée par le fait que ce département hébergeait en son sein le service de Boufflers en l'occurrence le service d'inféctiologie de l'HPD où était prise en charge la quasi-totalité des patients victimes d'infections. De plus le département de médecine avait une plus grande capacité d'accueil avec 125 lits comparé aux départements Mère-enfant, Chirurgie et réanimation qui n'en disposaient que de 121, 98, 24 respectivement.

2.2 Produits pathologiques

Le MALDI TOF avait identifié tous les germes en provenance de l'ensemble des produits pathologiques qui lui ont été soumis. Ces derniers étaient essentiellement constitués d'urines (36,94 %) de prélèvements vaginaux (21,82 %), de pus (14,91%) et de sang (hémoculture) (8,81%). L'étude cyto bactériologique des autres types de prélèvements reçus au laboratoire, aboutissait le plus souvent sur des cultures stériles ou non contributives qui n'étaient pas pris

en compte dans notre étude (voir critères d'inclusion), d'où leur faible taux de contribution sur l'ensemble des produits pathologiques. Nos résultats corroborent les résultats de nombreuses études qui ont eu à démontrer que la plupart des bactéries isolées en pratique courante au laboratoire le sont à partir des produits pathologiques mentionnés plus haut (AMAZIAN *et al.*, 2010 ; NOCON, 2013).

2.3 Apport du MALDI-TOF MS dans l'identification en routine des germes :

Durant cette période 957 bactéries avaient été identifiées par le MALDI-TOF sur les 1227 cultures de pathogènes qui ont été soumis au Vitek MS. Ces résultats témoignent l'efficacité du MALDI-TOF MS à identifier sans aucune confusion de genre ou d'espèce d'appartenance, à 91 % des germes qui lui ont été soumis. Ces résultats sont similaires à ceux de MARTINY *et al.*, 2012 qui confirment la performance du MALDI TOF à identifier jusqu'au niveau de l'espèce par le système Vitek MS à 93,2% pour 986 isolats soit un seuil de 90%. De même que les travaux de SENG *et al.*, (2009) qui sur 1 660 isolats bactériens analysés, 95,4% ont été correctement identifiés par MALDI-TOF MS; 84,1% ont été identifiés au niveau de l'espèce et 11,3% au niveau du genre.

2.3.1 Apport du Vitek MS dans l'identification des staphylocoques

Le système MALDI-TOF a été évalué par sa capacité d'identifier Cent quarante-huit (148) isolats cliniques de staphylocoque comportant 12 espèces précédemment scindées en deux groupes représentés par les espèces *Staphylococcus aureus* soient 39% et SCN (61%). Toutes ces espèces sont facilement reconnues par le MALDI TOF avec une large précision du genre et d'espèce sans aucune forme de confusion soit un score d'identification de 100%. Ces résultats sont similaires à ceux de DUBOIS *et al.*, 2010 ; ZHU *et al.*, 2015 qui ont démontré que le Biotyper peut sûrement identifier les espèces de Staphylocoques avec une plus grande exactitude que les produits biochimiques conventionnels. Le MALDI TOF nous a permis d'identifier toutes les espèces de staphylocoque et de distinguer les *Staphylococcus aureus* et celles non aureus (SCN) avec un délai de rendu en moins de 24h, alors que pour l'identification phénotypique des tests DNase et le Slidex Staph étaient nécessaires. Ainsi le MALDI a pu identifier 11 espèces de *Staphylococcus* appartenant aux SCN y compris *Staphylococcus epidermidis* qui est une bactérie résistante à tous les antibiotiques, et serait en train de se répandre dans les hôpitaux du monde entier sans être détectée par les méthodes conventionnelles (DUBOIS *et al.*, 2010).

2.3.2 Apport du Vitek MS dans l'identification des streptocoques

Le MALDI TOF a finalement permis d'identifier 92 germes appartenant au genre *Streptococcus*. L'identification ne s'est pas limitée au genre mais a également donné une nette précision de l'espèce. Ainsi *Streptococcus agalactiae* (58 %), *Streptococcus pyogenes* (3%) et les *Streptococcus* oraux (39 %) avaient été identifiés. Dans notre cas précis, comme en témoigne le score d'identification qui était de 99,9 %, le MALDI-TOF a identifié tous les *Streptocoques* appartenant aux groupes A et B sans aucune ambiguïté et avec une très haute précision et ceci en un temps record. Cependant, ce niveau de précision atteint avec les streptocoques des groupes A et B, n'était pas reproductible quand il s'agissait de l'identification des streptocoques oraux. A plusieurs reprises, l'appareil était incapable de différencier le *Streptococcus mitis* du *Streptococcus oralis* (12 fois) ou du *Streptococcus pneumoniae* (2 fois). Ces confusions répétitives pourraient avoir une explication d'après les arguments de Risch *et al.* (2010) qui montraient que les problèmes d'identification dans les laboratoires de microbiologie clinique entre *Streptococcus pneumoniae* sont remarquablement similaires aux trois espèces commensales *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis* et *Streptococcus infantis*. D'autres auteurs stipulent également d'après leurs études que la distinction entre *Streptococcus pneumoniae* et *Streptococcus mitis* est difficile par définition, car les deux espèces sont génotypiquement proches, sauf si un test de solubilité de la bile est utilisé pour le diagnostic différentiel pneumococci dissous, streptocoques résistants (SENG *et al.*, 2009 ; VAN VEEN *et al.*, 2010; BLONDIAUX *et al.*, 2010 ; IKRYANNIKOVA *et al.*, 2012).

Curieusement, aucune souche de bactérie de l'espèce *Streptococcus pneumoniae* n'avait été identifiée par le MALDI-TOF durant notre période d'étude. Cette mauvaise performance pour l'identification de *Streptococcus pneumoniae* par le MALDI-TOF pourrait être expliquée par le fait que le *Streptococcus pneumoniae* donne des colonies muqueuses qui sont difficiles à manipuler pour réussir des dépôts analysables par le MALDI-TOF (BLONDIAUX *et al.*, 2010; CARIELLO, 2012 ; LAVIGNE et RIEGEL, 2015). S'ajoute également l'absence du traitement à l'acide pour les bactéries qui devait permettre la lyse de la capsule afin de rendre accessible les protéines nécessaires à l'identification. Ainsi les pneumocoques devraient être traités comme des levures pour avoir de meilleurs résultats. De plus la méthode d'extraction qui devait permettre un rendement accru en protéine, n'était pas systématiquement effectuée au laboratoire de l'HPD, alors que CLARCK *et al.* (2013) proposaient l'ajout d'une étape d'extraction pour de meilleurs résultats.

2.3.3 Apport du Vitek MS dans identification des entérobactéries

Les entérobactéries ont été identifiées avec succès par le MALDI-TOF avec un score d'identifications estimé à 99 %, dans sa globalité. Ces résultats corroborent avec ceux de VAN VEEN *et al.* (2010) qui avaient obtenu une identification correcte des entérobactéries avec un score de 97,7%. Les entérobactéries représentent un groupe dynamique d'organismes rencontrés dans le laboratoire de l'HPD et sont responsables d'un large éventail de pathologies, d'où l'importance d'utiliser cet appareil pour assurer une nette précision des identifications à un temps minimal pour le rendu des résultats. Cependant, ces avantages n'empêchent que le MALDI était parfois entaché d'imperfections à type de confusions entre espèces appartenant au même genre. De manière plus précise, il ne pouvait pas dissocier *Enterobacter cloacae* de *Enterobacter asburiae*. Cette absence de discrimination entre espèces phylogénétiquement proches était aussi retrouvée lors de l'identification des salmonelles. En effet, pour les 3 souches de *Salmonella* isolées seule la souche paratyphi A avait pu bénéficier d'une identification complète avec détermination du genre, l'espèce et même du serovar alors que pour les 2 autres souches seul le genre pouvait être identifié découlant sur une conclusion de l'analyse par le MALDI-TOF de type *Salmonella* spp. C'est également le cas dans le genre *Proteus* où *Proteus vulgaris* et *Proteus penneri* étaient souvent confondues. Ces mêmes types de confusions ont aussi été relatées dans les travaux de CARIELLO (2012) et LAVIGNE et RIEGE (2015). Comme pour les bactéries susmentionnées, la similarité entre les séquences protéiques qui composent les espèces confondues par le MALDI-TOF, demeurent la seule explication probable face à ces confusions inter-espèces au sein du même genre.

2.3.4 Apport du Vitek MS dans identification des bactéries non fermentaires :

Dans ce groupe le MALDI-TOF avait essentiellement identifié *Acinetobacter baumannii* (46 %) et *Pseudomonas aeruginosa* (36 %). Ces résultats concernant ces espèces donnent une grande satisfaction dans la mesure où leur détermination a abouti sans aucune confusion d'autant plus qu'elles sont reconnues comme étant des bactéries non fermentaires les plus fréquemment rencontrées en pratique courante en bactériologie médicale comme en infectiologie. Dans la littérature plusieurs auteurs rapportent que *Acinetobacter baumannii* est une bactérie appartenant au complexe Acb responsable d'infections nosocomiales évoluant sous forme de bouffées épidémiques et sa prévalence n'a cessé d'augmenter ces dernières années, notamment en réanimation, où elle est aujourd'hui reconnue comme l'un des principaux agents d'infections nosocomiales (PELEG *et al.*, 2008; TOWNER, 2009; DETTORI *et al.*,

2014). Le MALDI-TOF vient ainsi de régler un problème sans précédent associé à l'identification des bactéries non fermentaires.

2.3.5 Apport du Vitek MS dans l'identification des bacilles à Gram positif

L'identification par les méthodes conventionnelles en bactériologie ne permettait pas d'avoir une orientation vers le diagnostic d'un bacille à Gram positif sans qu'il y ait des doutes sur l'interprétation des résultats. Ainsi à plusieurs reprises ces microorganismes sont passés inaperçus car ils étaient considérés comme des contaminants. Mais avec l'acquisition du MALDI TOF ces germes ont été bien identifiés avec une discrimination précise des genres et des espèces. Par conséquent leur présence pourrait constituer un marqueur d'efficacité de la technique pour mettre en évidence les bactéries à partir des surfaces en milieu hospitalier (BERTROU *et al.*, 2000 ; MEUNIER *et al.*, 2005). Grace à la rapidité et la précision de cette technique, ces bactéries ne poseront plus un retard dans les analyses au laboratoire car il permet ainsi aux biologistes de décider d'arrêter l'analyse à chaque fois qu'une bactérie à Gram positif non pathogène (un contaminant) est identifiée par ce dernier. Ceci permet d'économiser non seulement sur le temps d'analyse mais également sur les ressources mis en œuvre pour l'identification de ces contaminants probables.

2.3.6 Apport du Vitek MS dans identification des levures

Les levures identifiées par le MALDI-TOF étaient principalement des *Candida* avec une nette prédominance de *Candida albicans* (60 %). Ces résultats corroborent à ceux de KECHRID (2018) qui lors de sa spécialisation, avait travaillé sur CVV chez les femmes. Et ces résultats ont confirmé l'identification précise des *Candida albicans* par le MALDI-TOF avec des proportions de 47.67 soit 70%. Même si l'identification de ces germes par le MALDI-TOF a été contributive dans la majeure partie des cas, de confusions (9 cas) ont été relevées lors de la différenciation de *Candida albicans* et *Candida africana* ou encore *Candida albicans*, *Candida africana* et *Candida dubliniensis*. Ainsi le MALDI-TOF se dresse comme une alternative au test de filamentation qui de nos jours est très contesté par certains spécialistes car ce dernier peut conduire à des résultats faussement positifs du moment que d'autres espèces de candida n'appartenant pas à l'espèce *Candida albicans* peuvent aussi filamenté dans les mêmes conditions en moins de 3 heures (HEELAN *et al.*, 1996).

2.4 Contributivité du MALDI-TOF

Même si la contributivité a été estimée dans l'ensemble à 91 %, nous avons rencontré 116 cas de germes isolés pour lesquels le MALDI-TOF n'a pas pu déterminer le genre et l'espèce d'appartenance. Ces cas pouvaient s'expliquer par différentes raisons :

- ✓ une mauvaise qualité du dépôt de l'échantillon (spot) ;
- ✓ une insuffisance du nombre de pics d'intégration ;
- ✓ un échec de calibration ou une absence de l'espèce dans la base de données du Vitek MS ;
- ✓ une colonie est difficile à prélever ou trop muqueuse ;
- ✓ un dépôt non homogène sur la cible peut créer des spectres de mauvaise qualité.

Il est cependant important de noter qu'un séquençage des germes ayant échappé au MALDI-TOF pourrait conduire à une découverte de nouvelles espèces jusque-là inconnues, c'est le cas d'*Haemophilus massiliensis* (LÔ *et al.*, 2016) découverte à l'HPD.

CONCLUSION

En 2012, le spectromètre de masse MALDI-TOF Biotyper de Bruker a été mis en service au laboratoire de microbiologie médicale de l'HPD pour l'identification des pathogènes. Du 1^{er} février au 31 juillet 2018, sur six mois d'utilisation en routine, une évaluation des performances du MALDI est réalisée sur 1227 isolats dont 957 bactéries et 154 levures avaient été identifiées par le MALDI-TOF avec un score d'identification équivalent à 91 %. Cette étude a porté sur des prélèvements issus de patients âgés de 0 à 90 ans avec une moyenne d'âge de 42 ans et un sex-ratio de 0,69. Durant cette période d'étude, aucune espèce nouvelle ne fut décelée par le MALDI. Par contre il est parvenu à identifier les espèces les plus fréquemment retrouvées en milieu hospitalier, qui causent de nombreuses infections nosocomiales, ainsi que les pathogènes liés aux infections communautaires. Par ailleurs notre étude a permis de ressortir quelques limites du MALDI-TOF à travers les germes non identifiés par le MALDI. Elles sont liées à un défaut technique où une base de données incomplète, ainsi que les quelques cas de confusions observés pour certaines espèces, à cause d'une similarité génotypique. En effet, les bases de données de ce système sont plus exhaustives que celles disponibles avec les méthodes d'identification traditionnelles. Néanmoins, ces méthodes classiques restent les méthodes de référence, notamment pour la détection de germes faciles à cultiver et qui nécessitent une détermination rapide de leur sensibilité aux antibiotiques. En fin, le MALDI-TOF serait plus intéressant avec une base de données précise, adaptée, et régulièrement mise à jour.

En perspective,

Le MALDI-TOF serait plus efficace avec :

- la création de nouvelles bases de données pour faciliter la détection de facteurs de virulence de certaines bactéries multi résistantes ;
- l'identification d'insectes vecteurs de pathologie (IRD) ;
- l'identification des colonies mycobactéries (Tuberculose) ;
- l'identification directe des pathogènes dans des urines et des flacons d'hémoculture.

REFERENCES

1. BIBLIOGRAPHIE :

- 1) **AMAZIAN, K., ROSSELLO, J., CASTELLA, A., SEKKAT S., TERZAKI, S., DHIDAH, L., ABDELMOUMENE, T., FABRY, J.,** et les membres du réseau Noso Med (2010). Prévalence des infections nosocomiales dans 27 hôpitaux de la région méditerranéenne. *EMHJ*, **16** (10). 1070-1078
- 2) **AUBRY, P., GAÜZERE, BA.** (2018). Tests de diagnostic rapide par immunochromatographie en zones tropicales. Diplôme de médecine tropical des pays de l'océan indien. Centre René Labusquière, Institut de Médecine Tropicale, Université de Bordeaux, p12.
- 3) **BERTROU, A., CHAPUIS, C., HAJJAR, J.** (2000). Relation entre contamination et environnement hospitalier. En vigilance environnementale : Contrôles microbiologiques de l'environnement hospitalier. *Hygiène*, **8** (3) : 143-146.
- 4) **BLONDIAUX, N., GAILLOT, O., COURCOL, R J.** (2010). MALDI-TOF mass spectrometry to identify clinical bacterial isolates : evaluation in a teaching hospital in Lille. *Pathol Biol* (Paris), **58**(1) : 55-7.
- 5) **CARBONNELLE, éE., Nassif, X.** (2011). Applications of MALDI-TOF-MS in clinical microbiology laboratory. *Med Sci (Paris)*, **27**(10) : 882–888.
- 6) **CARIELLO, C.** (2012). La spectrométrie de masse maldi-tof et le diagnostic microbiologique. Travail de diplôme à l'ICH, Laboratoire de microbiologie, Sion, 75p.
- 7) **CLARK, A E., KALETA, E J., ARORA, A., M. WOLKD, D.** (2013). Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry : A Fundamental Shift in the Routine Practice of Clinical Microbiology. *Clinical Microbiology Reviews*, **26**(3) : 547– 603.
- 8) **D'ACREMONT, V., GENTON, B., GREUB, G.** (2011). Tests diagnostiques rapides (TDR) : la panacée pour le praticien. *Rev Med Suisse*, **7**: 984-990.
- 9) **DESCY, J., MEEUX C., MELIN, P., HAYETTE, M.P., HUYNEN, P., DE MOL, P.** (2010). Spectrométrie de masse maldi-tof en bactériologie clinique ou comment identifier une bactérie en une minute. *Rev Med Liège*, **65** : 29-34.
- 10) **.DETTORI, M., PIANA, A., DERIU, M G., LO CURTO, P., COSSU, A., MUSUMECI, R., COCUZZA, C., ASTONE, V., CONTU, MA., SOTGIU, G.** (2014) Outbreak of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in an intensive care unit. *New Microbiol.* **37**(2) :185-191.
- 11) **DUBOIS, D., LEYSSENE, D., CHACORNAC, J P., KOSTRZEWA, M., SCHMIT, P O., TALON, R., BONNET, R., DELMAS, J.** (2010). Identification of a Variety of *Staphylococcus* Species by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry, *J Clin Microbiol*, **48**(3) : 941–945.
- 12) **FADIGA, A G.** (2008). Tableau de bord prospectif de l'hôpital principal de Dakar. Mémoire de DESS, ISMS, Dakar, Centre Africain D'étude Supérieur en Gestion, Sénégal, 72p.
- 13) **FALL ,B., BA,S., DIAWARA, S., GUEYE,W., NDIAYE, K., SOKHNA ,C., FENNOLAR, F., DIEME, Y., MBAYE ,E., WADE, B., RAOULT, R.** (2013). La Spectrométrie de masse Maldi tof MS : Intérêt dans l'identification bactérienne au service de Microbiologie de l'Hôpital Principal (HPD). En ligne sur <https://spe-smanf-2013.sciencesconf.org/24646/document> consulté le 15 mars 2019.
- 14) **FALL, B., LO, C I., SAMB-BA B., PERROT, N., DIAWARA, S., GUEYE, M W., SOW, K., AUBADIE-LADRIX, M., MEDIANNIKOV, O., SOKHNA, C., DIEME, Y., CHATELLIER, S., WADE, B., RAOULT, D., FENOLLAR, F.** (2015). The Ongoing Revolution of MALDI-TOF Mass Spectrometry for Microbiology Reaches Tropical Africa Am. *J. Trop. Med. Hyg*, **92**(3) : 641-647.
- 15) **FERRARINI, A., JACQUEMONT, S., BECKPOPOVIC, M., BONAFE, L., MARTINET, D.** (2010). Puce à ADN : pourquoi et pour qui. *Revue Médicale Suisse* **6** : 390-6.

- 16) **GLASER, P.** (2005). Les puces à ADN vont-elles révolutionner l'identification des bactéries ? *M/S : Médecine sciences*, **21**(5) : 539–544.
- 17) **HEELAN, J S., SILIEZAR D., COON, K.** (1996). Comparaison of rapid testing methods for enzyme production with the germ tube method for presumptive identification of *Candida albicans*. *J.Clin Microbiol*, **34**: 2847-2849.
- 18) **HILLENKAMP, F., KARAS, M., BEAVIS, R C., CHAIT, B T.** (1991). Matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry of biopolymers. *Anal Chem*, **63**(24) : 1193A-1203A.
- 19) **HOLLAND, R D., WILKES, J G., RAFII, F., SUTHERLAND, J B., PERSONS, C C., VOORHEES, K J., LAY JO JR.** (1996). Rapid identification of intact whole bacteria based on spectral patterns using matrix-assisted laser desorption/ionization with time-of-flight mass spectrometry. *Pub Med*, **10**(10) : 1227-32.
- 20) **IKRYANNIKOVA, L N., FILIMONOVA, A V., MALAKHOVA, M V., SAVINOVA, T., FILIMONOVA, O., ILINA, E N., DUBOVICKAYA, V A., SIDORENKOAND, S V., GOVORUN, V M.** (2012). Discrimination between *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus mitis* based on sorting of their MALDI mass spectra. *Clin Microbiol*, **19**: 1066–1071.
- 21) **JATON, K., GREUB, G.** (2007). PCR en microbiologie : de l'amplification de l'ADN à l'interprétation du résultat. *Rev Med Suisse*, **3** : 32-181.
- 22) **Karas M, Hillenkamp F.** (1988). Laser desorption ionization of proteins with molecular masses exceeding 10,000 daltons. *Anal Chem*, **60**(20) : 2299-301.
- 23) **KAUFFMAN, C A., PAPPAS P G., SOBEL, J D., DISMUKES, W E.** (2011). Essentials of clinical Mycology, 2^e édition Springer. **3** : p176.
- 24) **KECHRID, A.** (2018). Contribution du MALDI-TOF MS dans l'identification des espèces de candida responsable candidoses vulvo-vaginales. Mémoire fin d'étude du DES de biologie clinique, FMPO, UCAD, Dakar, p59.
- 25) **KENKOUO, G A.** (2008). Etude bactériologique des infections urinaires au centre pasteur du cameroun. Rapport de stage. Élève Ingénieur d'Application de la Statistique. Centre Pasteur du Cameroun (CPC). *Mémoire Online*. Consulté le 18/06/19.
- 26) **Krishnamurthy, T., Ross, P.L., Rajamani, U.** (1996). Detection of pathogenic and nonpathogenic bacteria by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Rapid communications in mass spectrometry : RCM*. **10** : 883-888.
- 27) **LAVIGNE, J P., RIEGEL, P.** (2015). Place de la spectrométrie de masse en bactériologie. *Ann Biol Clin*, **73** (1) : 113-25.
- 28) **Lo, Cl., Sankar, SA., Fall, B., Sambe-Ba, B., Diawara, S., Gueye, MW., Mediannikov, O., Blanc-Taille, C., Wade, B., Raoult, D., Fournier, PE., Fenollar, F.** (2016). High-quality draft genome sequence and description of *Haemophilus massiliensis* sp. nov. *Pubmed*, **14** :11-31.
- 29) **MARTINY, D., BUSSON, L., WYBO, I., AIT EL HAJ, R., DEDISTE A., VANDENBERG, O.** (2012). Comparaison des systèmes Microflex LT et Vitek MS pour l'identification de routine de bactéries par ionisation par désorption laser assistée par matrice - Spectrométrie de masse à temps de vol. *J Clin Microbiol*. **50** (4) : 1313-1325.
- 30) **MEUNIER, O., HERNANDEZ, C., PIROIRD, M., HEILIG, R., STEINBACH, D., FREYD, A.** (2005). Prélèvements bactériologiques des surfaces : importance de l'étape d'enrichissement et du choix des milieux de culture. *Ann Biol Clin*, **63** (5) : 481-6.
- 31) **MOUSSAOUI, L.** (2012). Applications de la spectrométrie de masse type MALDI-TOF à la bactériologie et à la distinction de variantes génétiques. Thèse doctoral en sciences de la vie et de la sante Université de Strasbourg, 279p.

- 32) **NOCON, C.** (2013). Evaluation des performances du spectromètre de masse MALDI TOF Microflex LT Bruker comparées à celles du spectromètre Vitek MS Biomérieux et démarche d'accréditation. Thèse doctoral en médecine Université du Droit et de la Santé - Lille 2, 141p.
- 33) **PELEG, A Y., SEIFERT, H., PATERSON, D L.** (2008). *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a Successful Pathogen. *Clin Microbiol Rev*, **21**(3) : 538-582.
- 34) **Polet, M., Botteldoorn, N., Dierick, K.** (2013). MALDI-TOF MS comme outil d'identification de pathogènes alimentaires .LNR Microbiologie alimentaire / NRL. En ligne sur <https://studylibr.com/doc/2133150/maldi-tof-ms-comme-outil-d-identification-de-pathog%C3%A8nes> consulté le 03 février 2019.
- 35) **RIEGELA, P., BRIELB, D., DAUWALDERC, O.** (2016). Automatisation de l'identification bactérienne. *Elsevier Masson SAS*, **482** : 39-42.
- 36) **RISCH, M., RADJENOVIC, D., NAM, H., WYDLER, M., NYDEGGER, U., RISCH, L.** (2010). Comparaison de MALDI TOF avec l'identification conventionnelle de bactéries cliniquement pertinentes. *Swiss Med Wkly*. **140**: 130-95.
- 37) **ROUX, V., ROLAIN, J-M.** (2014). Identification bactéries par biologie moléculaire. EMC-Maladies infectieuses *Elsevier Masson SAS*, **11** (1) :1-11.
- 38) **SAUGET, M.** (2016). Identification de marqueurs épidémiologiques par spectrométrie de masse de type MALDI-TOF : application aux principales espèces bactériennes responsables d'infections nosocomiales. Thèse pour obtenir le grade de Docteur de l'Université de Franche-Comté en Sciences de la Vie et de la Santé, 135p.
- 39) **SENG, P., DRANCOURT, M., GOURIET, F., LA SCOLA, B., FOURNIER, P E., ROLAIN, J M., RAOULT, D.** (2009). Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clin Infect Dis*, **49**(4) :543-51.
- 40) **SUAREZ, S.** (2013). Microbiologie clinique et spectrométrie de masse. THÈSE pour l'obtention du grade de docteur en Sciences de la Vie et de la Santé, Université Paris Descartes Ecole doctorale : GC2ID, 115p.
- 41) **TOWNER, K J.** (2009). *Acinetobacter*: an old friend, but a new enemy. *J Hosp Infect*, **73**(4) :355-363.
- 42) **VAN VEEN, S Q., CLAAS, E C., KUIJPER, E J.** (2010). Identification à haut débit de bactéries et de levures par spectrométrie de masse par ionisation avec temps de vol et par désorption laser assistée par matrice, dans des laboratoires de microbiologie médicale conventionnels. *J Clin Microbiol*, **48**(3) :900-7.
- 43) **VERGNE, A.** (2014). Place des helcococcus en clinique humaine revue sur une série de 42 patients du chu de cahors, chu de toulouse et chu de caen. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en médecine spécialité biologie médicale, p126.
- 44) **ZHU, W., SIERADZKI, K., ALBRECHT, V., MCALLISTER, S., LIN, W., STUHLIK, O., LIMBAGO, B., POHL, J., KAMILE RASHEED, J.** (2015). Evaluation of the Biotyper MALDI-TOF MS system for identification of *Staphylococcus* species. *J Microbiol Methods*, **117** :14-17.

ANNEXES

ANNEXE 1 : Classification des principales bactéries d'intérêt médical

MORPHOLOGIE	GENRE	ESPECE	NOM COURANT	HABITAT	POUVOIR PATHOGENE
COQUES A GRAM POSITIF					
en amas	<i>Staphylococcus</i>	<i>aureus epidermidis, autres</i>	Staphylocoque doré Staphylocoque blanc	ubiquitaire, peau, muqueuses	Suppurations
en chaînettes	<i>Streptococcus</i>	groupe A, C, G, L, ... <i>agalactiae (groupe B) groupe D</i>	Strepto β hémolytique Strepto B non entérocoque	pharynx voies génitales	streptococcies synd. post streptococcique infections néonatales
en diplocoques	<i>Streptococcus</i>	<i>pneumoniae</i>	pneumocoque	voies respiratoires	otites, pneumonies, méningites
en courtes chaînes	<i>Enterococcus</i>	<i>faecalis faecium</i>	entérocoques	intestin	infections urinaires, digestives, endocardites.
COQUES A GRAM NEGATIF					
en diplocoques	<i>Neisseria</i>	<i>gonorrhoeae meningitidis</i>	gonocoque ménigocoque	voies génitales pharynx	blénnorragie, MST méningite cérébrospinale
BACILLES A GRAM POSITIF					
"petits"	<i>Listeria</i>	<i>monocytogenes</i>		ubiquitaire	méningites infections néonatales
	<i>Erysipelothryx</i>	<i>rhusiopathiae</i>	bacille du rouget du porc animaux	animaux	lésions cutanées endocardites
"grands"	<i>Corynebacterium</i>	<i>diphtheriae autres</i>	bacille de Loeffler coryneformes	gorge	diphthérie, croup infections respiratoires, cutanées, urinaires
BACTERIES A GRAM NEGATIF					
coloration bipolaire	<u>Famille :</u> <i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Escherichia coli</i> <i>Citrobacter</i> <i>Enterobacter</i> <i>Klebsiella</i> <i>Samonella</i> <i>Shigella</i> <i>Proteus</i>	colibacille bacille de Friedländer bacille de Shiga	intestin	infect. digestives, urinaires biliaires, méningées, pulm. infections néonatales fièvre typhoïde, toxii infections alimentaires dysenterie infections urinaires
Coccobacilles		<i>Brucella melitensis</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Pasteurella multocida</i> <i>Pasteurella pestis</i> <i>Bordetella pertussis</i> <i>Legionella pneumoniae</i>		animaux gorge, pharynx, animaux rats, puces rhinopharynx eau	fièvre de Malte, brucelloses otites, sinusites, méningites infections après morsures peste coqueluche infections respiratoires
aérobies stricts	<u>Famille :</u> <i>Pseudomonaceae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	bacille pyocyanique	eaux, sols	surinfections de plaies, ulcères, suppurations
Vibrions	<u>Famille :</u> <i>Vibrionaceae</i>	<i>Vibrio cholerae</i> <i>Vibrions autres</i> <i>Campylobacter</i> <i>Helicobacter</i>	bcille du choléra	eaux intestin estomac	choléra rarement pathogènes diarrhée ulcère gastroduodéal
BACTERIES DE FORME SPIRALEE					
	<i>Treponema</i> <i>Leptospira</i> <i>Borrelia</i> <i>Sprillum</i>	<i>pallidum</i> <i>icterohémorragiae</i> <i>recurrentis</i> <i>burgdorferi minus</i>	téponème	homme rats, eaux poux, tiques rat	syphilis leptospirose fièvres récurrentes maladie de Lyme sodoku
MYCOPLASMES					
sans paroi	<i>Mycoplasma</i>	<i>pneumoniae hominis</i> <i>autres</i>			infections respiratoires infections génitales
	<i>Ureaplasma</i>	<i>urealyticum</i>			Infections génitales
MYCOBACTERIES					
Bacilles alcool-acido résistants	<i>Mycobacterium</i>	<i>tuberculosis bovis</i> "atypiques" BCG <i>leprae</i>	bacille de Koch (BK)	Bacilles alcool-acido résistants	Mycobacterium
BACTERIES ANAEROBIES STRICTES					
Coques à Gram positif Coques à Gram négatif Bacilles à Gram positif Bacilles à Gram négatif	<i>Peptostreptococcus</i> <i>Veillonella</i> <i>Clostridium</i> <i>Bacteroides</i> <i>Prevotella</i> <i>Actinomyces</i>	<i>tetani</i> <i>perfringens</i> <i>botulinum</i>		spores dans les sols intestin et sols aliments intestin	tétanos gangrène gazeuse botulisme suppurations

ANNEXE 2 : Mode opératoire de la calibration

La calibration se fait à l'aide d'une souche d'*Escherichia coli* ATCC 8739. Cette souche est stockée au congélateur à une température de -80°C . Une subculture S1 est effectuée sur gélose au sang et conservée au réfrigérateur durant un maximum de quatre semaines. La souche calibrante est obtenue en repiquant la souche S1 sur gélose au sang. Celle-ci est repiquée tous les jours afin d'avoir une souche fraîche pour la calibration. Une fois par semaine, la souche calibrante est repiquée à partir de la souche S1.

Après quatre semaines, la souche S1 est repiquée sur gélose au sang pour obtenir la souche S2, conservée également à son tour au frais pendant quatre semaines et repiquée 1 fois par semaine pour la souche calibrante. On procède ainsi de suite jusqu'à la souche S7, après laquelle, on repart à partir de la souche stockée au congélateur.

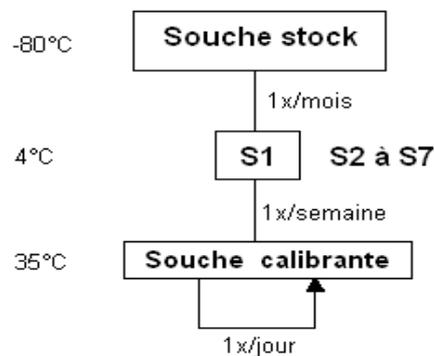


Figure 24 : Schéma de conservation de la souche calibrant.

Le dépôt de la souche calibrant se fait sur la lame DS, sur un puits prévu à cet effet. Le puits est légèrement plus petit que les autres et est situé au milieu de chaque série de 16 échantillons (Figure 24). Le calibre est lu avant et après chaque série et le résultat doit être bon pour pouvoir valider les résultats des échantillons. Si le MS n'arrive pas à intégrer les pics et à identifier la souche calibrant, il n'analyse pas les échantillons.

Titre : *L'apport du MALDI-TOF dans l'identification des bactéries et levures à l'Hôpital Principal de Dakar : Bilan sur six mois.*

Nature du mémoire : Mémoire de Diplôme de Master en Biologie Animale

Nom de l'auteur : Souadou NDOYE

Membres du Jury :

<u>Président</u> :	M. Moustapha DIAGNE	Maitre de conférences FST/UCAD
<u>Membres</u> :	M. Malick FALL	Maitre de conférences FST/UCAD
	M. Cheikhna DIEBAKATE	Maitre-assistant FST/UCAD
	M. Bécaye FALL	Professeur du Val de Grâce de HPD
	M. Arfang DIAMANKA	Maitre-assistant FST/UCAD

Présenté et soutenu, le 02 novembre 2019 à 09h00 au département de Biologie Animale de la Faculté des Sciences et Techniques.

RESUME :

La gravité des pathologies infectieuses observées en milieu hospitalier et communautaire fait que l'identification des bactéries est une priorité absolue. Cependant la description phénotypique seule ne suffit plus, à cadrer le germe en question. D'où l'importance de développer d'autres outils récents pour la résolution de ces facteurs limitants dans l'identification de routine. Notre étude s'est portée sur l'identification de germes (bactéries et levures) poussant sur des milieux de culture solides par la spectrométrie de masse MALDI-TOF dont dispose l'HPD. L'objectif de cet étude était d'évaluer l'apport du MALDI-TOF dans l'identification de routine à l'HPD. Il s'agit d'une étude prospective transversale s'effectuant sur une durée de 6 mois s'étalant de la période du 1^{er} février au 31 juillet 2018. L'âge moyen de nos patients inclus dans cette étude était de 42 ans avec des extrêmes de 0 et 90 ans et un sex-ratio de 0,69. Nous avons travaillé sur 1227 isolats de cultures, isolés à partir de 999 échantillons provenant des 835 patients inclus dans notre étude. Durant cette période, 1111 germes furent identifiés correctement par MALDI-TOF dont 957 étaient des bactéries soit 86 % et 154 restantes étaient des levures soit 14% avec un taux de contributivité estimé à 91%. Le MALDI-TOF a estimé 116 germes non identifiés. Ainsi la performance du MALDI-TOF s'avère être vraie car des germes pathogènes furent identifiés avec succès et la plus grande précision du genre et de l'espèce et même dans quelques cas du serovar.

Mots clés : identification de routine, MALDI-TOF, HPD, contributivité.

Title : *The contribution of Maldi-tof in the identification of the bacteria and yeasts at the Principal Hospital of Dakar: Assessment over six months.*

ABSTRACT :

The gravity of the infectious pathologies observed in hospital and Community medium makes that the identification of the bacteria is an absolute priority. However phenotypical description only is not enough any more, to tally the germ in question. From where importance to develop other recent tools for the resolution of these factors limiting in the identification of routine. Our study went on the identification of germs (bacteria and yeasts) pushing on solid culture media by spectrometry Maldi-tof the mass available to the HPD. the objective of this study was to evaluate the contribution of Maldi-tof in the identification of routine to the HPD. It is about a transverse exploratory study being carried out over one 6 months duration being spread out period of February 1 at July 31, 2018. The average age of our patients included in this study was of 42 years with extremes of 0 and 90 years and a sex-ratio of 0,69. We worked on 1227 isolates of cultures, isolated starting from 999 samples coming from the 835 patients included in our study. During this period, 1111 germs was identified correctly by Maldi-tof of which 957 were bacteria either 86 % and 154 remaining was yeasts or 14% with a rate of contributivity estimated at 91%. Maldi-tof considered 116 germs not identified. Thus the performance of Maldi-tof proves to be true bus of the pathogenic germs were identified successfully and the highest degree of accuracy of the genus and the species and even in some cases of the serovar.

Key words: identification of routine, Maldi-tof, HPD, contributivity.