

REPUBLIQUE DU MALI
Un Peuple-Un But-Une Foi

UNIVERSITE DES SCIENCES, DES TECHNIQUES
ET DES TECHNOLOGIES DE BAMAKO



FACULTE DE PHARMACIE

Année universitaire 2015-2016

N° _____ /

**EVALUATION DE LA POLLUTION
MICROBIENNE DE L'AIR DANS LE CENTRE
VILLE DE BAMAKO**

THESE

Présentée et soutenue publiquement le 09 janvier 2017 devant le jury la Faculté de Pharmacie pour
l'obtention du grade de DOCTEUR EN PHARMACIE (DIPLOME D'ETAT)

Par

M. N'DIAYE CHEICK OUMAR

MEMBRES DU JURY

PRESIDENT DU JURY: Pr. ABABACAR I MAÏGA

MEMBRE : Pr. IBRAHIM I MAÏGA

MEMBRE : Pr. ABABACAR DIOP

DIRECTEUR DE THESE : Pr. OUSMANE KOÏTA

LABORATOIRE DE BIOLOGIE MOLECULAIRE APPLIQUEE

LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DE PHARMACIE

ANNEE UNIVERSITAIRE 2014-2015

ADMINISTRATION

DOYEN : M. Boubacar TRAORE - PROFESSEUR

VICE-DOYEN : M. Ababacar I MAIGA- PROFESSEUR

SECRETAIRE PRINCIPAL : M. Seydou COULIBALY – ADMINISTRATEUR CIVIL

AGENT COMPTABLE : M. Famalé DIONSAN – CONTROLEUR DES FINANCES

LES PROFESSEURS HONORAIRES

M. Mamadou	KOUMARE	Pharmacognosie
M. Boulkassoum	HADARA	Législation
M. Boubacar Sidiki	CISSE	Toxicologie
M. Amadou	DIALLO	Biologie Animale
M. Daouda	DIALLO	Chimie générale & minérale
M. Moussa	HARAMA	Chimie organique
M. Abdourahmane S.	MAIGA	Parasitologie
M. Bréhima	KOUMARE	Bactériologie

DER DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET MEDICALES

1. Professeur/Directeur de recherche

M. Amagana	DOLO	Parasitologie-Mycologie
M. Bakary M.	CISSE	Biochimie
M. Abdoulaye	DABO	Biologie/parasitologie Chef de DER
M. Alassane	DICKO	Santé Publique
M. Boubacar	TRAORE	Parasitologie-Mycologie
M. Mounirou	BABY	Hématologie

2. Maître de conférences

M. Bourèma	KOURIBA	Immunologie
M. Mahamadou	DIKITE	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 Publique
-----------	--------	----------------

M. Aldjouma	GUINDO	Hématologie
-------------	--------	-------------

4. Assistant/Attaché de recherche

M. Seidina Aboubacar Samba	DIAKITE	Immunologie
----------------------------	---------	-------------

M. Ousmane	TOURE	Santé Publique/santé environnement
------------	-------	------------------------------------

M. Klétigui Casmir	DEMBELE	Biochimie Clinique
--------------------	---------	--------------------

M. Yaya	GOITA	Biochimie Clinique
---------	-------	--------------------

M. Oumar	GUINDO	Biochimie
----------	--------	-----------

M. Samba Adama	SANGARE	Bactériologie-Virologie
----------------	---------	-------------------------

DER DES SCIENCES DU MEDICAMENT

1. Professeur/Directeur de recherche

M. Ousmane	DOUMBIA	Pharmacie chimique
------------	---------	--------------------

M. Ababacar I	MAIGA	Toxicologie
---------------	-------	-------------

M. Elimane	MARIKO	Pharmacologie Chef de DER
------------	--------	---------------------------

2. Maître de conférences

M. Benoît Yaranga	KOUMARE	Chimie analytique
-------------------	---------	-------------------

M. Sékou	BAH	Pharmacologie
----------	-----	---------------

3. Maître assistant

M. Tidiane	DIALLO	Toxicologie
------------	--------	-------------

4. Assistant/Attaché de recherche

M. Mody	CISSE	Chimie thérapeutique
---------	-------	----------------------

M. Hamadoun Abba	TOURE	Bromatologie
------------------	-------	--------------

M. Mahamadou	TANDIA	Chimie analytique
--------------	--------	-------------------

M. Madani	MARIKO	Chimie analytique
-----------	--------	-------------------

M. Blaise	DACKOUO	Chimie analytique
-----------	---------	-------------------

DER DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. Professeur/Directeur de recherche

M. Drissa	DIALLO	Pharmacognosie
-----------	--------	----------------

M. Saibou	MAIGA	Législation Chef de DER
-----------	-------	-------------------------

Mme Rokia	SANOGO	Pharmacognosie
-----------	--------	----------------

2. Maître assistant

M. Yaya	COULIBALY	Législation
---------	-----------	-------------



M. Loséni BENGALY Pharmacie Hospitalière

3. Assistant/Attaché de recherche

M. Bacary Moussa CISSE Galénique
 M. Bourama TRAORE Législation
 M. Hamma Boubacar MAIGA Galénique
 M. Adama DENOUE Pharmacognosie
 M. Mahamane HAIDARA Pharmacognosie
 M. Issa COULIBALY Gestion
 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

2. Maître de conférences

M. Mouctar DIALLO Biologie/Parasitologie/ chef de DER
 M. Kaourou DOUCOURE Physiologie
 M. Mamadou CISSE Biologie Végétale
 M. Flabou BOUGOUDOGO Bactériologie/Virologie

3. Assistant/Attaché de recherche

M. Moussa KONE Chimie organique
 M. Seydou Sassou COULIBALY Biochimie

CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES

M. Bouba DIARRA Bactériologie
 M. Boubacar KANTE Galénique
 M. Yaya KANE Galénique
 M. Atimé DJIMDE Bromatologie
 M. Boubacar ZIBEIROU Physique
 M. Mohamed Lamine DIARRA Botanique
 M. Amidou DOUCOURE Chimie Organique
 M. Fana TANGARA Mathématique
 M. Abdel Kader TRAORE Sémio-méd.
 M. Seydou DOUMBIA Secourisme
 M. Ibrahim ALWATA Secourisme



M. Moussa I. DIARRA Biophysique

ENSEIGNANTS EN MISSION

Pr Babacar FAYE Pharmacodynamie

Pr Amadou Papa DIOP Biochimie

Pr Pascal BONNABRY Pharmacie Hospitalière



Dédicace
Remerciements

DEDICACES

Au nom d'**ALLAH** le Miséricordieux, le très Miséricordieux.

Que la paix et les bénédictions d'**ALLAH** soient sur le prophète **Mohammad**, celui qui a tenu sa promesse, le confident.

Ô **ALLAH** nous ne savons que ce que Tu nous as appris, c'est Toi qui détiens la science.

Ô **ALLAH** apprend nous ce qui nous apportera du bien et fais nous profiter du bien de ce que Tu nous as appris et augmente nos connaissances, Amen.

Louange et gloire à **ALLAH** le tout Puissant qui m'a permis de mener à bien ce travail.

Je dédie ce travail :

AU TOUT PUISSANT, LE TOUT MISERICORDIEUX, LE TRES MISERICORDIEUX.

– **A mon Père :**

Mohamed Mourtada N'Diaye, Père tu as été un exemple pour moi, tu as toujours inculqué en moi les valeurs réelles de l'éducation, de l'humanisme, du travail bien fait et du courage.

Sachez que tu es et resteras toujours important dans ma vie. Puisse Dieu te donner santé et longévité.

– **A ma Mère :**

Haoua Dia, les mots me manquent pour exprimer tout ce que je ressens pour toi. Ton courage, ton dévouement, et surtout ton amour infini sont des modèles d'exemples dans ma vie. Tu demeures une mère humble, digne, simple prête à se battre pour la réussite de tous les enfants de ce pays.

Que ce travail soit le couronnement et le soulagement de tes nuits blanches et de tout ce que tu as fait pour moi.

Que DIEU t'accorde par sa grâce et miséricorde, santé et longue vie auprès de nous et de tes petits enfants.

Merci Maman!

– **A tous mes parents et Amis :**

Que ce travail soit à la hauteur de vos souhaits et attentes.

Merci à tous.



REMERCIEMENTS

AU TOUT PUISSANT, LE TOUT MISERICORDIEUX, LE TRES MISERICORDIEUX

Aux familles **N'Diaye, Dia, Bah, Sy, Traoré, Diallo, Touré, Sow, Koïta**

– **A tous mes parents :**

Pour leur témoigner mon attachement, que chacun et tous trouvent ici l'expression de ma sincère gratitude pour le soutien moral et matériel que j'ai trouvé auprès d'eux, dans toutes les circonstances surtout les plus critiques.

– **A mes frères et sœurs :**

Vous avez consenti tous des sacrifices pour ma réussite. Que Dieu resserre davantage nos liens fraternels. A vous toute ma reconnaissance.

– **A mes tontons et tantes :**

Vous avez de près ou de loin contribué à la réussite de mes études. Merci beaucoup pour vos conseils et bénédictions. Que Dieu vous comble de sa grâce.

– **A mes cousins et cousines :**

Vos conseils, sourires, encouragements et engagements ont été pour moi un soutien moral dans l'accomplissement de ce travail. Tous mes remerciements à vous tous surtout Haoua Abbas Diallo et Fatoumata Fofana.

– **A ma femme :**

Salamatou Diallo, toi qui m'as offert ton cœur et toute ta tendresse; toi qui as fait preuve de compréhension à mon endroit en tout temps; toi qui as su m'encourager et me reconforter dans les moments de faiblesses; reçois cette dédicace comme l'expression de mes sentiments.

– **Aux Pr. Ousmane KOITA et Dr. Thierno SOW :**

Votre humanisme et votre simplicité m'ont touché, vous avez été un soutien moral et intellectuel considérable pour moi. Vous m'avez donné l'amour de la recherche et du travail bien fait. Trouvez ici tous mes sincères remerciements.

– **A Dr. Aliou Sissako, Dr. Lansana Sangaré, M. Ayouba Diarra :**

Votre savoir faire et votre courage m'ont émerveillé, vous avez été un model et une aide précieuse pour moi. Trouvez ici mes chers ainés toutes me reconnaissances.

– **A mes amis et collègues :**

Diariatou Diagne, Kotou Sangaré, Mamadou Coulibaly, Dr. Lassina Doumbia, Daouda Traoré, Dr. Tiemogo Moulaye Haidara, Dr. Vincent Sanogo, Dr. Chacka Troré Dr. Youssou Diarra, Dr. Sékou Traore, Dr Koné. Merci à vous tous pour vos conseils, vous encouragements. Incha Allah je



ne vous oublierai jamais.

– **Aux membres de la promotion Pr Rokia Sanogo**, particulièrement à notre responsable **Djeneba Fofana**, j'ai tissé des liens précieux avec vous et je prie pour que nous continuions notre sincère collaboration dans la vie professionnelle.

A tout le personnel du laboratoire de Biologie moléculaire

A la famille Nimaga (Propriétaire de l'Immeuble où on a effectué notre collecte).

– **A tout le personnel de la Pharmacie Faladie** : Dr Diop Habibatou Dicko, Abdoulaye Diop, Tonton Elhadj Traoré, Tonton Ba Aly Daff, Daouda Traore, Abathyna Dicko, Amadou Togo.

Vous avez tous été une aide précieuse durant mon parcours, je vous remercie.

– **Au membre du projet POL.C.A (Pollution des Capitales Africaines)**

D'où ce travail a eu le financement. Je vous remercie tous pour votre courage, et votre implication dans ce travail.



***Hommages
Aux Membres
Du Jury***

A notre Maître et Président du Jury

Pr Ababacar I MAIGA

- **Professeur titulaire en Toxicologie à la Faculté de Pharmacie**
- **Vice-Doyen de la Faculté de Pharmacie**

Permettez-nous de vous remercier pour l'honneur que vous nous faites en acceptant de présider ce jury de thèse.

Nous avons admiré vos qualités scientifiques, pédagogiques et humaines tout le long de notre formation.

Votre modestie et votre amour pour le travail bien fait font de vous un Maître exemplaire.

Veillez accepter Cher Maître l'expression de notre profonde reconnaissance.

A notre Maître et Membre du Jury

Professeur Ababacar Diop

- **Professeur de Chimie à la FAST**
- **Chef de Département de Chimie**
- **Directeur de l'Institut des Sciences Appliquées (en retraite)**

Votre rigueur scientifique, votre disponibilité, votre souci du travail bien fait et votre faculté d'écoute ont forgé notre admiration. Vous nous avez reçus avec beaucoup d'amabilité. Soyez rassuré honorable Maître, de notre reconnaissance.



A notre Maître et Membre du Jury
Professeur Ibrahim I. MAÏGA

- **Médecin biologiste**
- **Chef de service du Laboratoire du CHU du Point G**
- **Professeur titulaire de bactériologie-virologie à la Faculté de Médecine**
- **Responsable des cours de bactériologie-virologie à la Faculté de Médecine**
- **Vice-Doyen de la FMPOS**

Cher Maître, c'est un réel plaisir que vous nous faites en acceptant de juger ce travail.

Votre rigueur scientifique et votre intérêt pour le travail bien fait en général font de vous un Maître à admirer. Soyez rassuré de notre reconnaissance la plus profonde.



A notre Maître et Directeur de thèse
Professeur Ousmane KOITA

- **Pharmacien Biologiste ;**
- **Professeur en Parasitologie-Moléculaire à la FAPH ;**
- **Chargé de cours de biologie moléculaire appliquée à la FAST et biologie animale à la faculté de pharmacie ;**
- **Ancien Directeur-Adjoint du SEREFO ;**
- **Responsable du Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée de la FAST.**

Cher Maître, nous avons été très séduit par votre conviction pour la recherche scientifique, votre disponibilité, esprit de discernement, et par la qualité de votre enseignement.

Honorable Maître les mots me manquent pour qualifier votre savoir faire et votre personnalité.

Vous nous avez accepté à bras ouvert dans votre Laboratoire (LBMA), vous nous avez initié à la recherche et vous avez dirigé les activités de notre thèse, ce qui fait de ce travail le vôtre !!!

Ce fut un grand honneur pour nous d'être comptés parmi vos élèves.

Que LE TOUT PUISSANT vous accorde santé et longévité. Amen!!!

ABRÉVIATIONS

ACGH: American Conference of Governmental Industrial Hygienists

AND: Acide DesoxyriboNucléique

ARN: Acide RiboNucléique

BHI: Braint Heart Infusion

Ca²⁺: Ion Calcium

g/l : Gramme par litre

LB: Luriani Bertani

LBMA: Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée.

Mg²⁺: Ion Magnesium

M³: mètre cube

PO₄: phosphate

NO_x : les monoxydes d'azote

NO : monoxyde d'azote

NO₂ : dioxyde d'azote

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

O₂ : dioxygène

O₃ : Ozone

PCR: Polymerase Chain Reaction (Réaction de polymérisation en chaine)

PSM: Poste de Sécurité Microbiologique

TBE: Tris Borate EDTA

TBS: Tris Buffered Saline

TSP: Total suspended particulate

UV: Ultra-Violet

µm : Micromètre



LISTE DES IMAGES :

Image 1: Carte géographique du district de Bamako.....	8
Image 2: Structure générale d'une bactérie	19
Image 3: Structure de la paroi des bactéries Gram positives.....	20
Image 4: Structure de la paroi des bactéries Gram négatives.....	22
Image 5 : Exemple de morphologie bactérienne	23
Image 6: Aérosol produit par un éternuement	25
Image 7: Façade de l'immeuble Nimagala : le point de collecte des échantillons indiqué par une flèche	33
Image 8 : Porte filtre NALGEN.....	35
Image 9 : La pompe électrique à vide.....	37
Image 10 : Schéma illustrant notre technique de prélèvement d'air	38
Image 11 : Gel d'agarose avec des bandes issue de l'amplification des gènes	56

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Composition de l'air sec.....	11
Tableau 2: Comportement des bioaérosols dans l'air libre	26
Tableau 3: Protocole de la PCR	43
Tableau 4: Fréquence de collection de l'échantillon d'air au site d'expérimentation	46



LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Représentation graphique des différents germes prélevés dans l'air au centre-ville de Bamako.....	47
Figure 2 : Les différentes espèces de bacilles selon la coloration de Gram.....	48
Figure 3 : Les différentes sortes de cocci selon la coloration de Gram.....	49
Figure 4 : Fréquence des différents microbes par Mois.....	50
Figure 5 : Répartition des bactéries selon le Gram.....	51
Figure 6 : Relation entre la température moyenne et le pourcentage des microbes par Mois...	52
Figure 7 : Relation entre la température moyenne et le pourcentage des différents microbes par Mois.	53
Figure 8 : Répartition des microbes suivant les saisons.....	54
Figure 9 : Répartition des différentes sortes de Microbes par saisons.....	55
Figure 11 : Exposition des sujets aux polluants.....	57
Figure 12 : Exposition à d'autres sources de pollution.....	58
Figure 13 : Répartition des sujets selon le groupe d'âge.....	59
Figure 14 : Répartition des sujets selon la durée d'exposition.....	60



TABLE DES MATIERES

DEDICACES	VII
REMERCIEMENTS	VIII
HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY	X
ABRÉVIATIONS	XV
LISTE DES IMAGES	XVI
LISTE DES TABLEAUX	XVI
LISTE DES FIGURES	XVII
TABLE DES MATIERES	XVIII
I. INTRODUCTION	2
II. OBJECTIFS	5
A. OBJECTIF GENERAL	5
B. OBJECTIFS SPECIFIQUES.....	5
III. GENERALITES	7
A. SITUATION GEOGRAPHIQUE ET DEMOGRAPHIQUE DE LA VILLE DE BAMAKO.....	7
1. <i>La Situation géographique de Bamako</i>	7
2. <i>La situation démographique de Bamako</i>	9
B. LA POLLUTION ATMOSPHERIQUE	10
1. <i>Définition et composition de l'air</i>	10
2. <i>Définition de la pollution de l'air ou atmosphérique</i>	12
3. <i>La pollution chimique de l'air</i>	12
a) <i>Les particules en suspension</i> :.....	12
b) <i>Les principaux gaz polluants</i>	14
4. <i>Pollution microbienne de l'air</i>	16
C. CONNAISSANCE DES MICRO-ORGANISMES	17
1. <i>Les bactéries</i>	17
a) <i>Historique</i> :.....	17
b) <i>Structure des bactéries</i> :.....	19
c) <i>Classification</i>	23
d) <i>Identification et culture</i>	24
e) <i>Présence des bactéries dans l'air</i>	24
f) <i>Risques pour la santé</i> :.....	26
2. <i>Les champignons</i> :.....	27
a) <i>Présence des champignons dans l'air</i>	27
b) <i>Risques pour la santé</i> :.....	28
D. LES PRINCIPALES CAUSES DE LA POLLUTION MICROBIENNE DE L'AIR A BAMAKO...	29
1. <i>Démographie galopante</i> :.....	29
2. <i>Etat dégradé des routes</i> :.....	29



3.	<i>Trafic routier croissant</i> :	29
4.	<i>Position topographique de Bamako</i> :	30
IV.	METHODOLOGIE	32
A.	LIEU ET CADRE D'ETUDE :	32
1.	<i>Lieu d'étude</i> :	32
2.	<i>Cadre de l'étude</i> :	32
B.	ETUDE MICROBIENNE DE L'AIR	34
1.	<i>Type et période d'étude</i>	34
2.	<i>Sélections des micro-organismes</i> :	34
a)	<i>Les micro-organismes inclus dans l'étude</i> :	34
b)	<i>Les micro-organismes non inclus dans l'étude</i> :	34
3.	<i>Prélèvement</i>	34
a)	<i>Technique de collecte d'air</i> :	34
b)	<i>Préparation des filtres</i> :	34
c)	<i>Préparation de la pompe</i>	36
4.	<i>Culture</i>	38
a)	<i>Technique de culture</i>	38
b)	<i>Procédée de culture</i>	38
	Mise en culture des échantillons prélevés :	39
5.	<i>Identifications bactériennes</i>	40
a)	<i>Technique de la coloration de Gram</i>	40
b)	<i>Technique de PCR</i>	41
C.	IDENTIFICATION DE LA POPULATION EXPOSEE A LA POLLUTION DE L'AIR	44
1.	<i>Étude du questionnaire</i> :	44
D.	SAISIE ET ANALYSE DES DONNEES	44
V.	RESULTATS	46
A.	ETUDE MICROBIENNE DE L'AIR AU NIVEAU DU SITE D'EXPERIMENTATION	46
B.	ETUDE DE LA COHORTE AU SITE D'EXPERIMENTATION	57
VI.	COMMENTAIRE ET DISCUSSION	62
A.	SUR LE PLAN METHODOLOGIQUE	63
1.	<i>Choix du site : l'Immeuble NIMAGA</i>	63
2.	<i>Type et période d'étude</i>	63
3.	<i>Choix de la cohorte sur le point de prélèvement</i>	63
4.	<i>Modalité et matériel de prélèvement</i>	64
5.	<i>Culture et identification des micro-organismes</i>	64
B.	ETUDE MICROBIENNE DE L'AIR AU SITE DE L'EXPERIENCE	65
C.	CARACTERISTIQUE DE LA POPULATION ENROLEE	67
VII.	CONCLUSION	69
VIII.	RECOMMANDATIONS	70
IX.	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	72



X. ANNEXES	75
A. FICHE D'ENQUETES DE COHORTE SUR LE SITE DE PRELEVEMENT.	75
B. FICHE DE PRELEVEMENT	76
C. FICHE SIGNALÉTIQUE	77
D. MATERIAL SAFETY DATA SHEET	79





Introduction

I. Introduction

Les maladies respiratoires et cardiologiques deviennent de plus en plus des problèmes majeurs de santé publique en Afrique au Sud du Sahara. Les populations sont exposées à des émissions constantes de polluants atmosphériques qui sont des gaz, des métaux, des micro-organismes contenus dans la poussière.

La prolifération des véhicules motorisés et l'accroissement de 4.2% par an de la population urbaine (Banque mondiale 2013) dans les pays africains, soulèvent la problématique de la qualité de l'air que nous respirons. Les émissions d'origine industrielle (SO₂), de produits de combustion des matières organiques et surtout de véhicules motorisés (dérivés de carbone) sont d'autant de facteurs contribuant à la pollution de l'air en plus de la présence des poussières.

La déforestation ayant comme corollaire l'avancée du désert entraînant des vents de poussières, amplifie le phénomène de pollution atmosphérique dans la bande sahélo-saharienne. Les risques sanitaires liés aux pollutions atmosphériques ont été évalués par plusieurs études en Europe (Zeka *et al*, 2006 ; Peters *et al*, 2002) [1 ; 2]. Ces chercheurs ont établi une association entre les polluants et les maladies cardio-respiratoires (Zeka *et al*, 2006; Ruckerl *et al*, 2006) [1; 3]. Peu d'études ont concerné l'Afrique surtout son milieu urbain.

De plus en plus, nous constatons une augmentation des maladies cardio-vasculaires et pulmonaires, posant de plus en plus la nécessité d'examiner l'impact des polluants de l'air sur la santé publique. Des études récentes ont pu établir des liens entre pollution et santé avec la détermination de fonctions dose-réponse qui sont corrélées avec l'apparition d'une large gamme de manifestations morbides entraînant une forte mortalité due aux affections cardio-respiratoires (Peters *et al*, 2001 ; Ruckerl *et al*, 2006) [2 ;3]. Compte tenu des effets de plus en plus évidents de la pollution atmosphérique sur la santé, l'OMS a réexaminé les *Directives relatives à la qualité de l'air* pour l'Europe et les a élargies afin de produire les premières directives qui soient applicables dans le monde entier. Ainsi les nouvelles directives de l'OMS affirment que pour réduire le taux de mortalité lié à la pollution de l'air d'environ 15%, les concentrations devraient être inférieures à 20 microgrammes par mètre cube pour les particules chimiques [4], mais il n'y a pas de donnée en ce qui concerne les polluants microbiens.

En plus de ces particules inactives dans l'air, on rencontre aussi des particules biologiques vivantes ou non, qui peuvent être infectieuses ou allergiques (bio aérosols) ou contribuent largement au développement des affections cardio-respiratoires surtout en association avec les particules et les gaz polluants de l'air.



L'exposition à la pollution de l'air est maintenant un phénomène quasi incontournable de la vie urbaine à travers le monde, ce qui est associé à un large éventail d'effets nocifs sur la santé, des effets toxiques aigus, les allergies et les cancers [5,6].

L'inhalation est la principale voie d'exposition entraînant des effets néfastes sur la santé. D'autres types d'exposition, à savoir l'ingestion et le contact avec la peau peuvent également être présents en plus de l'inhalation [5]. Bien que la relation soit encore mal définie, l'augmentation de la mortalité et la morbidité des pathologies respiratoires semble être causée par la pollution microbienne de l'air urbain. Parmi les micro-organismes présents dans l'atmosphère, les bactéries sont souvent les plus élevées en nombre malgré leur taux de mortalité élevé dû à des facteurs environnementaux produisant des stress de divers genres où la contrainte déshydratation étant majeure [7]. Les agents bactériens ne sont pas des allergènes très puissants, à l'exception des spores d'actinomycètes et les composants des parois cellulaires, telles que l'endotoxine (la plus répandue dans les bactéries à Gram négatif) et le peptidoglycane (plus répandue dans les bactéries à Gram positif) sont des agents cruciaux avec d'importantes propriétés inflammatoires qui peuvent induire des symptômes respiratoires [8].

L'émergence de ces particules infectieuses est un phénomène complexe qui résulte de l'interaction entre trois facteurs : l'hôte c'est-à-dire la personne susceptible d'être infectée, l'agent biologique et l'environnement. Malgré la pauvreté de l'air en substance nutritive, défavorable au développement des micro-organismes, nous observons la prolifération des micro-organismes pathogènes dans le sahel.

L'épidémie de méningite cérébrospinale présente un aspect saisonnier avec des épidémies dans les pays sahélo-sahariennes formant la ceinture de la méningite (Greenwood, 1999) [9]. Cette épidémie survient durant la saison sèche dans le sahel surtout entre Mars et le début de la saison des pluies. Les facteurs associés à cette épidémie ne sont pas totalement connus, mais le facteur environnemental (sècheresse et poussière) jouerait un rôle important dans la dissémination du germe.

Devant ce problème récurrent de l'émergence des maladies infectieuses, l'écologie des micro-organismes pathogènes, en particulier leur survie dans les différents milieux (eau, air, sol) et dans différentes conditions (température, composition, etc.) est un axe fondamental d'étude. Peu d'étude est réalisée sur la détermination des micro-organismes et des particules dans l'atmosphère susceptibles d'être la cause des multiples infections graves surtout cardio-respiratoires retrouvées chez l'homme. Ainsi nous avons initié cette étude pilote dans la ville de Bamako pour identifier les bactéries susceptibles d'être associées aux maladies cardio-pulmonaires.



Objectifs



II. Objectifs

A. Objectif général

Il s'agit d'étudier la pollution microbienne de l'air au centre-ville de Bamako en vue d'identifier et de caractériser les affinités tinctoriales des bactéries de l'air pendant la saison sèche.

B. Objectifs spécifiques

- Identifier les types de bactéries circulant dans l'air au centre-ville de Bamako.
- Examiner la saisonnalité de la présence de ces microbes dans l'air.
- Estimer les populations potentiellement exposées à ces microbes atmosphériques.

Généralités



III. Généralités

A. Situation géographique et démographique de la ville de Bamako.

1. La Situation Géographique de Bamako

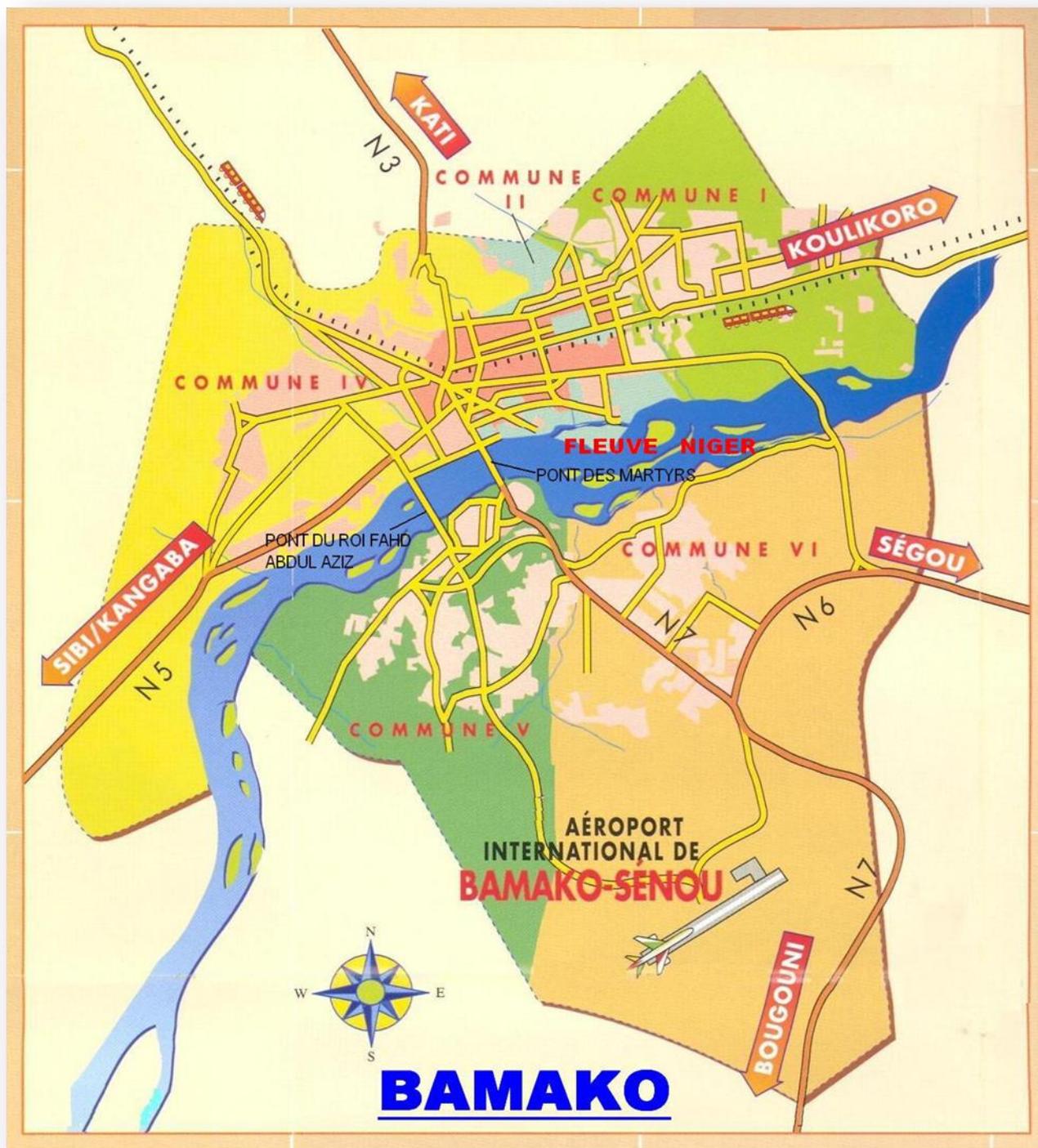
Située sur les rives du fleuve Niger, appelé Djoliba, la ville de Bamako capitale du Mali est construite dans une cuvette entourée de collines aux quatre points cardinaux. Elle s'étend d'ouest en est sur 22 km et du nord au sud sur 12 km, pour une superficie de 267 km².

Le district de Bamako compte une forêt classée, celle de Koulouba qui s'étend sur une superficie de 2 010 ha [10].

Bamako occupe la frange la plus méridionale du Sahel africain correspondant à la zone soudanienne. Elle bénéficie de ce fait d'un climat tropical assez humide avec un total de précipitations annuelles de 878 millimètres mais avec une saison sèche et une saison des pluies bien marquées. Le mois le plus sec ne reçoit en effet pas la moindre goutte de pluie (précipitations égales à 0 mm en décembre) tandis que le mois le plus pluvieux est bien arrosé (précipitations égales à 234 mm en août).



Image 1 : Carte géographique du district de Bamako. [37]



Source : Mappery.com

Site internet : www.mapnall.com/fr/map/Carte-géographique-Bamako_13744.html



2. La situation démographique de Bamako

L'accroissement démographique de Bamako est impressionnant, 2 500 habitants en 1884, 8 000 habitants en 1908, 37 000 habitants en 1945, près de 100 000 en 1960 lors de l'indépendance du Mali. L'agglomération compte en 2009 1 809 106 habitants et continue d'attirer une population rurale en quête de travail. Cet accroissement incontrôlé entraîne des difficultés importantes en termes de circulation, d'hygiène (accès à l'eau potable, assainissement) et de pollution. Entre 1998 et 2009, la population a été multipliée par près de 1,8, soit un taux annuel d'accroissement moyen de 4,8 % [11].

Située à 1 000 kilomètres de Dakar et Abidjan, à 850 kilomètres de Ouagadougou et à 120 kilomètres de la frontière guinéenne, Bamako est devenu un carrefour de l'Afrique de l'Ouest et accueille une population variée, composée des différentes ethnies présentes au Mali mais aussi issues des pays limitrophes.



B. La pollution atmosphérique

Dorénavant, les médias relatent quotidiennement les problèmes environnementaux. Les occasions sont malheureusement devenues multiples et la pollution atmosphérique s'impose comme un sujet qui touche de plus en plus les citoyens.

Car la pollution n'est pas seulement une gêne visuelle ou olfactive mais désormais le principal risque environnemental pour la santé dans le monde. En effet, elle cause en moyenne chaque année la mort prématurée de 7 millions de personnes dans le monde dont 600 000 en Europe et plus de la moitié en en Afrique, selon l'Organisation Mondiale de la santé.

1. Définition et composition de l'air

L'air est un mélange de gaz invisibles, incolores et inodores constituant l'atmosphère terrestre.

Il demeure un élément fondamental et indispensable pour les êtres vivants. Ainsi, chaque jour, nous inspirons environ 20 m³ d'air. Celui-ci se compose originellement d'un ensemble de gaz et de particules dont la présence et les concentrations sont telles que la vie est possible, ce qui reste pour l'instant un cas unique dans l'ensemble des planètes connues.

La plupart du temps l'air de l'environnement terrestre est souvent humide car il contient de la vapeur d'eau. Il peut aussi contenir du dioxyde de soufre, des oxydes d'azote, de fines substances en suspension sous forme d'aérosol, des poussières et des micro-organismes.



Tableau 1 : Composition de l'air sec

Gaz constituants	Concentration Volumique %
Les gaz principaux	
AZOTE (N₂)	78,02
OXYGENE (O₂)	20,95
ARGON (Ar)	0,93
ANHYDRIDE CARBONIQUE (CO₂)	0,035
Les gaz traces	
Néon (Ne)	1,8.10 ⁻³
Hélium (He)	5,24.10 ⁻⁴
Méthane (CH₄)	1,7.10 ⁻⁴
Krypton (Kr)	1. 10 ⁻⁴
Hydrogène (H₂)	5.10 ⁻⁵
Xénon (Xe)	8.10 ⁻⁶
Ozone (O₃)	1.10 ⁻⁶
Oxyde Nitreux (N₂O)	3,1.10 ⁻⁸
Radon (Rn)	6,0.10 ⁻¹⁸

La connaissance exhaustive de la composition de l'air reste hors de portée. C'est en effet un milieu dynamique. Ses multiples constituants sont en perpétuelle transformation, par suite des conditions météorologiques, des flux atmosphériques et des réactions chimiques. Ainsi, les variations temporelles sont considérables et, depuis la formation de la Terre, le système climatique a continuellement évolué, conséquence de phénomènes naturels (astronomiques, géologiques et biologiques notamment) évoluant sur de longues périodes de dizaines de milliers d'années voire davantage. Pourtant, même si des événements d'origine naturelle peuvent induire des changements brutaux dans la composition de cet équilibre atmosphérique (comme en témoignent les éruptions volcaniques), depuis le début de l'ère industrielle, il y a 200 à 250 ans, les sociétés humaines perturbent sensiblement l'atmosphère et le climat sur un laps de temps beaucoup plus court [12].



2. Définition de la pollution de l'air ou atmosphérique

Par pollution atmosphérique selon O.M.S, on entend la contamination de l'environnement intérieur ou extérieur par un agent chimique, physique (les particules) ou biologique (bio aérosol) et qui modifie les caractéristiques naturelles de l'atmosphère. Les appareils utilisés pour la combustion au sein des foyers, les véhicules automobiles, les établissements industriels et les feux de forêt sont des sources fréquentes de pollution atmosphérique. Les polluants les plus nocifs pour la santé publique sont notamment les matières particulaires, le monoxyde de carbone, l'ozone, le dioxyde d'azote et le dioxyde de soufre. Bien que cette définition fasse référence aux polluants introduits par l'être humain, il faut considérer que certains polluants atmosphériques peuvent provenir de sources naturelles comme par exemple le radon, les gaz radioactifs émis notamment dans les roches granitiques.

La polémique est souvent présente lorsqu'il s'agit d'identifier le rôle cancérigène de tel ou tel polluant, et ce d'autant plus que les enjeux industriels sous-jacents sont importants. Il est néanmoins essentiel de hiérarchiser la nature des risques encourus par la population.

Certains polluants sont plus dangereux que d'autres ; certains sont plus facilement évitables que d'autres, et certains agissent de façon plus insidieuse et sournoise que d'autres.

La pollution de l'air à l'extérieur comme à l'intérieur entraîne entre autres des maladies respiratoires qui peuvent être mortelles causées par les particules chimiques inertes et gaz, les particules biologiques inertes ou vivantes.

3. La pollution chimique de l'air

La pollution chimique de l'air est la plus étudiée de nos jours donc la mieux cernée au monde. Elle sert généralement à donner l'alerte en ce qui concerne l'air atmosphérique que la population mondiale respire. Selon les estimations l'OMS vient de déclarer que plus de 90% soit neuf personnes sur dix de la population mondiale respirent un air pollué (Septembre 2016).

Ce sont :

a) Les particules en suspension :

Les particules en suspension sont généralement des substances solides ou liquides de composition chimique ou biologique ayant des diamètres aérodynamiques nécessitant leurs suspensions dans l'air. Le diamètre (diamètre aérodynamique) des particules peut varier de 0,005 micromètre à 100 micromètres. La portion en suspension (particules totales en suspension qui flottent dans l'air ou TSP (Total Suspende particules mater) a en général moins de 57



micromètres de diamètre [13]. Ils jouent un rôle important dans la présence des micro-organismes infectieux dans l'air, n'ayant pas la capacité d'être en l'air sans support la plus part des agents infectieux se servent de ces particules pour être générés en bio aérosol permettant ainsi leur maintien momentané dans l'atmosphère [14]. Les particules en suspension sont d'origine anthropique et ou naturelle.

- Les particules d'origine naturelle

Les particules d'origine naturelle trouvées en haute et moyenne altitude proviennent principalement d'éruptions volcaniques et de l'érosion éolienne naturelle et ou issues de l'avancée des déserts. Les tempêtes de sable et poussière sont les principales origines. Les feux de forêts, de brousses, savanes ou prairies en sont une autre source, très importante dans certains pays (Brésil notamment). Une petite quantité provient de la végétation (pollens...) [12].

- Les particules d'origine anthropique

Les activités humaines, telles que le chauffage (notamment au bois), la combustion de biomasse à l'air libre, la combustion de combustibles fossiles dans les véhicules, les centrales thermiques et de nombreux procédés industriels génèrent également d'importantes quantités d'aérosols, qui sont en augmentation nette depuis deux siècles. Dans le secteur industriel, les normes de rejets dans l'atmosphère à présent se durcissent et les contrôles périodiques de toutes les installations s'intensifient [16]. En moyenne sur le globe, les aérosols directement produits par l'homme constitueraient 10 % environ de la quantité totale d'aérosols présents dans l'atmosphère [15]. La pollution automobile particulière tend à diminuer dans les pays riches (par véhicule, et pour les grosses particules), mais à augmenter fortement dans plusieurs pays en développement, que ça soit l'émission par les tuyaux d'échappement et aussi par la circulation routière sur des routes non ou mal goudronnées.

Dans le monde, le total des particules émises par les cheminées de navires marchands, ou les navires de guerre est également en forte augmentation ; une réglementation à l'échelle mondiale est en cours pour un contrôle renforcé dans ce domaine et des exigences plus strictes sur la fabrication des moteurs de bateaux [16].

Les particules en suspension sont classées en plusieurs catégories selon leurs tailles (diamètre aérodynamique) :

- **Les PM₁₀** : particules en suspension dans l'air, d'un diamètre aérodynamique inférieur à 10 micromètres. La fraction inhalable des particules commence à partir de cette valeur, toutes particules ayant un diamètre supérieur à cette valeur sont retenues par les voies aériennes supérieures (nez et bouche) [17]. Donc la fraction inhalable constituant les **PM₁₀**, les particules fines, très fines, ultra fines ou nanoparticules peuvent pénétrer dans les bronches [17].



- **Les $PM_{2,5}$** : particules en suspension dans l'air d'un diamètre aérodynamique inférieur à 2.5 micromètre appelées « particules fines ». les particules fines, très fines et ultra fine peuvent pénétrer jusque dans les alvéoles pulmonaires.
- **Les $PM_{1,0}$** : dont le diamètre est inférieur à 1,0 micromètre, appelées « particules très fines ». les particules très fines peuvent passer la barrière alvéole-capillaire
- **Les $PM_{0,1}$** : les particules ultra fine sont classée parmi les très fines vue actuellement le manque de donnée sur ces particules.

Les particules en suspension ont des effets très néfastes sur la santé. Elles ont la possibilité de pénétrer très profondément dans les poumons jusque dans les alvéoles pulmonaires vue leur taille, en dépassant toutes les barrières mises en place par l'organisme. Les particules plus grosses sont retenues par les voies aériennes supérieures, alors que les plus fines peuvent pénétrer profondément dans les voies respiratoires inférieures, contribuant à une irritation bronchique en particulier chez les enfants dont les mécanismes de défense sont encore immatures et fragiles. Certaines particules ont par ailleurs des propriétés nocives pour le fœtus et des propriétés cancérogènes : c'est le cas de certains hydrocarbures aromatiques polycycliques.

Ils peuvent être également des véhicules transportant les microbes jusque dans les alvéoles pulmonaires contribuant ainsi à la mise en place des infections cardio-pulmonaires.

b) Les principaux gaz polluants.

Plusieurs gaz sont responsable de la pollution atmosphérique autant que les particules, ils ont bien attendu des effets néfastes sur la santé humaine et aussi sur l'environnement (d'où la notion des gaz à effet de serre).

Quelques gaz importants dans le processus de la pollution de l'air :

➤ L'ozone (O_3):

C'est un gaz agressif pour les muqueuses oculaires et respiratoires et qui pénètre facilement jusqu'aux voies respiratoires les plus fines (cellules ciliées de type 1). Les effets de l'ozone sur la santé dépendent du niveau d'exposition, du volume d'air inhalé et de la durée d'exposition. En cas d'exposition unique les manifestations sont réversibles en quelques jours alors que des expositions répétées dans les 24h en accentuent les effets.

L'ozone peut être responsable de nombreux effets indésirables sur la santé humaine, notamment des irritations, des crises de toux, une aggravation des crises d'asthme, des maladies pulmonaires chroniques et peut conduire à une mort prématurée. Il s'agit d'un polluant qui affecte la santé de chacun, bien que certains groupes comme les enfants, les personnes âgées, les personnes



travaillant à l'extérieur et les sportifs y soient plus sensibles.

Il faut bien distinguer l'ozone présent au niveau de la stratosphère (vers 35 km d'altitude) et qui forme la couche d'ozone et l'ozone troposphérique (entre le sol et 12 km d'altitude). Les échanges verticaux d'ozone entre les basses couches (troposphère) et la haute altitude sont faibles et ne contribuent qu'à une part estimée à 20 à 30% au maximum de l'ozone troposphérique; le reste se forme à proximité du sol à l'issue de processus complexes.

➤ Les Oxydes d'azote (NOx) :

Les NOx sont des gaz oxydant puissant, qui pénètrent facilement dans les poumons. A des concentrations dépassant $200 \mu\text{g}/\text{m}^3$ sur de courtes périodes, ils provoquent des irritations et des inflammations de l'appareil respiratoire et une augmentation de l'hyperréactivité bronchique chez les asthmatiques.

Ils sont constitués du monoxyde d'azote (NO) à 90-95 % environ et du dioxyde d'azote (NO₂). Le monoxyde d'azote NO se forme par combinaison de l'azote (N₂) et de l'oxygène (O₂) de l'air lors de combustions à hautes températures. Il est ensuite rapidement oxydé en NO₂ par d'autres polluants atmosphériques tels que l'O₂ ou l'O₃. Le dioxyde d'azote peut alors être considéré comme un polluant secondaire.

Près d'un tiers des émissions de dioxyde d'azote est d'origine anthropique. Les transports routiers sont les principaux responsables de ces rejets. C'est pour cela que ce polluant reste un bon indicateur du trafic automobile.

➤ Le dioxyde de soufre (SO₂) :

C'est un gaz irritant et le mélange acido-particulaire peut selon les concentrations des différents polluants déclencher un spasme bronchique chez les asthmatiques, augmenter la fréquence et l'intensité des symptômes respiratoires aigus chez l'adulte (toux, gêne respiratoire) ou encore altérer la fonction respiratoire chez l'enfant.

➤ Le monoxyde de carbone CO :

C'est un gaz inodore et incolore qui représente le principal polluant de l'air (quantitativement) et résulte de la combustion incomplète et rapide des combustibles et carburants. C'est pourquoi il est associé aux transports routiers (à l'essence notamment), aux procédés industriels à combustion en général. Ce polluant est un bon indicateur des conditions de trafic (congestion, fluidité...) et de l'évolution de la part des véhicules diesel et essence dans la structure du parc



automobile.

A forte dose, il agit sur l'hémoglobine qui ne fixe plus l'oxygène et peut engendrer des lésions du système nerveux et des troubles cardio-vasculaires. En effet, une asphyxie générale de l'organisme, et plus particulièrement du cerveau peut survenir, ce qui conduirait à une grande fatigue, des céphalées, des dépressions et des complications neuropsychiques.

En gros les polluants chimiques, les particules comme les gaz affectent le système respiratoire en altérant ces voies en réduisant l'efficacité de son système de défense, ce qui va aboutir à l'aggravation de l'état clinique des personnes asthmatiques, atteintes d'obstruction pulmonaire chronique ou d'autres conditions respiratoires chroniques, et aussi à l'augmentation et la sévérité des infections pulmonaires d'où notre crainte [17].

4. Pollution microbienne de l'air

Les micro-organismes sont omniprésents dans notre environnement : eau, sol, air, plantes, animaux et humains. Lorsqu'il s'agit de leur présence dans l'air; on parle de micro-organismes aéroportés ou de bioaérosols [18].

On entend par bioaérosols toutes particules aéroportées constituées d'organismes vivants ou non, tels que des micro-organismes, ou provenant d'organismes vivants, par exemple les métabolites, les toxines ou les fragments de micro-organismes. Le diamètre de ces particules varie de 0,1 micromètre à plus de 100 micromètres. La majorité des bioaérosols sont complexes. Par exemple, l'épiderme humain aéroporté ou les gouttelettes produites par un éternuement transportent des virus et des bactéries. De la même façon, un humidificateur contaminé peut contenir différentes sortes de cellules bactériennes et endotoxines, plusieurs types de spores fongiques, des antigènes et des mycotoxines. Les micro-organismes saprophytiques, qui comprennent la majorité des champignons et plusieurs bactéries et protozoaires, sont retrouvés dans des réservoirs naturels, habituellement dans les substrats organiques extérieurs (les animaux, l'eau etc....), et peuvent être amplifiés et disséminés de ces réservoirs vers des substrats intérieurs [19].



C. Connaissance des micro-organismes

Les micro-organismes sont des êtres vivants microscopiques, invisibles à l'œil nu ne pouvant être observé qu'au microscope. On appelle microbiologie, la science qui étudie les micro-organismes.

Nous allons détailler un peu plus l'étude sur les bactéries par rapport aux champignons. Les virus ne feront pas partie de cette description.

1. Les bactéries

a) Historique :

Dès l'Antiquité, on croyait à l'existence d'agents infectieux transmissibles, invisibles à l'œil nu. Les micro-organismes seront observés pour la première fois en 1677 par Antoine van Leeuwenhoek et son microscope.

- Antoine van Leeuwenhoek (1632-1723)

Antoine van Leeuwenhoek a amélioré le microscope en 1677, en polissant des lentilles à la main. Cet outil qui grossissait 300 fois a ainsi permis la découverte des bactéries. C'est le premier à avoir étudié les micro-organismes et la biologie cellulaire.

- Hans Christian Gram (1853-1938)

En 1884, il développe une technique de coloration (nommée « coloration de Gram ») qui permet la classification des bactéries.

- Louis Pasteur (1822-1895)

A partir de 1854, Pasteur étudie les processus de fermentation. Ses recherches s'étaleront sur 15 ans. Il constate, grâce au microscope, que toutes les fermentations sont l'œuvre de micro-organismes : les ferments.

A partir de 1857, Louis Pasteur met en évidence le rôle des micro-organismes dans les fermentations lactique et alcoolique.

En 1862, grâce à l'expérience du ballon «à col de cygne», il démontre qu'un liquide reste inaltéré en prenant la précaution de le mettre à l'abri des micro-organismes. En revanche, si ce



liquide est laissé à l'air libre, de nombreux microbes s'y développent. (C'est la découverte de la notion de stérilité d'un milieu).

Louis Pasteur isolera 3 germes entre 1878 et 1880 : le streptocoque, le staphylocoque et le pneumocoque. En affirmant que chaque maladie a son microbe et que celui-ci vient de l'extérieur dehors, Pasteur établit les règles de bases de l'asepsie.

- Alexander Fleming (1881-1955)

Il faudra attendre 1928 pour qu'Alexander Fleming découvre les propriétés antibactériennes de la pénicilline.

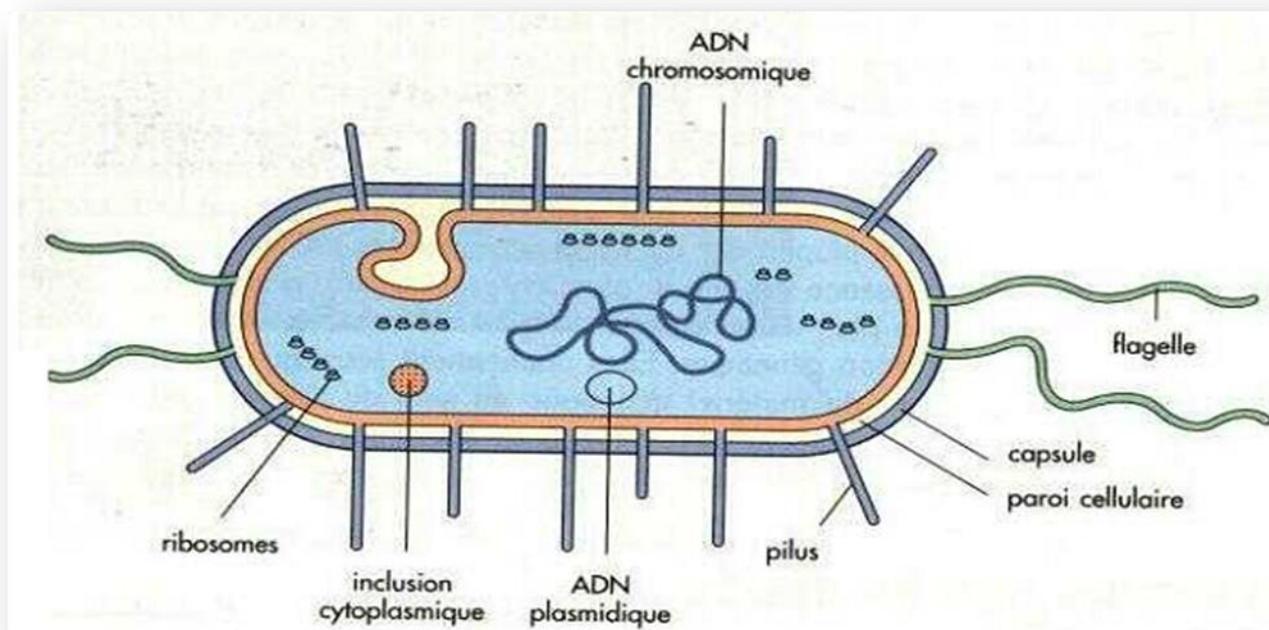
C'est en 1997 que le premier génome bactérien d'intérêt médical (celui d'*Escherichia coli*) soit séquencé.



b) Structure des bactéries :

Les bactéries sont des cellules procaryotes, leur ADN n'étant pas localisé dans un noyau. Beaucoup contiennent des structures circulaires d'ADN extra-chromosomique appelées plasmides. Il n'y a pas d'autre organelle dans le cytoplasme que les ribosomes, qui sont de plus petite taille que ceux des cellules eucaryotes. À l'exception des mycoplasmes, les bactéries sont entourées par une paroi complexe, différente selon que la bactérie est à Gram positif ou négatif. De nombreuses bactéries possèdent des flagelles, des pili, ou une capsule à l'extérieur de la paroi. Aussi bien les bactéries à Gram positif que les bactéries à Gram négatif ont une membrane cytoplasmique formée d'une bicouche lipidique associée à des protéines. Dans les deux cas, le composant principal de structure de la paroi est le peptidoglycane, un réseau tridimensionnel de chaînes polysaccharidiques (composées de N-acétylglucosamine et d'acide N-acétylmuramique) et d'acides aminés.

Image 2 : Structure générale d'une bactérie



Source : Atlas de microbiologie de poche : TONY HART – PAUL SHEARS



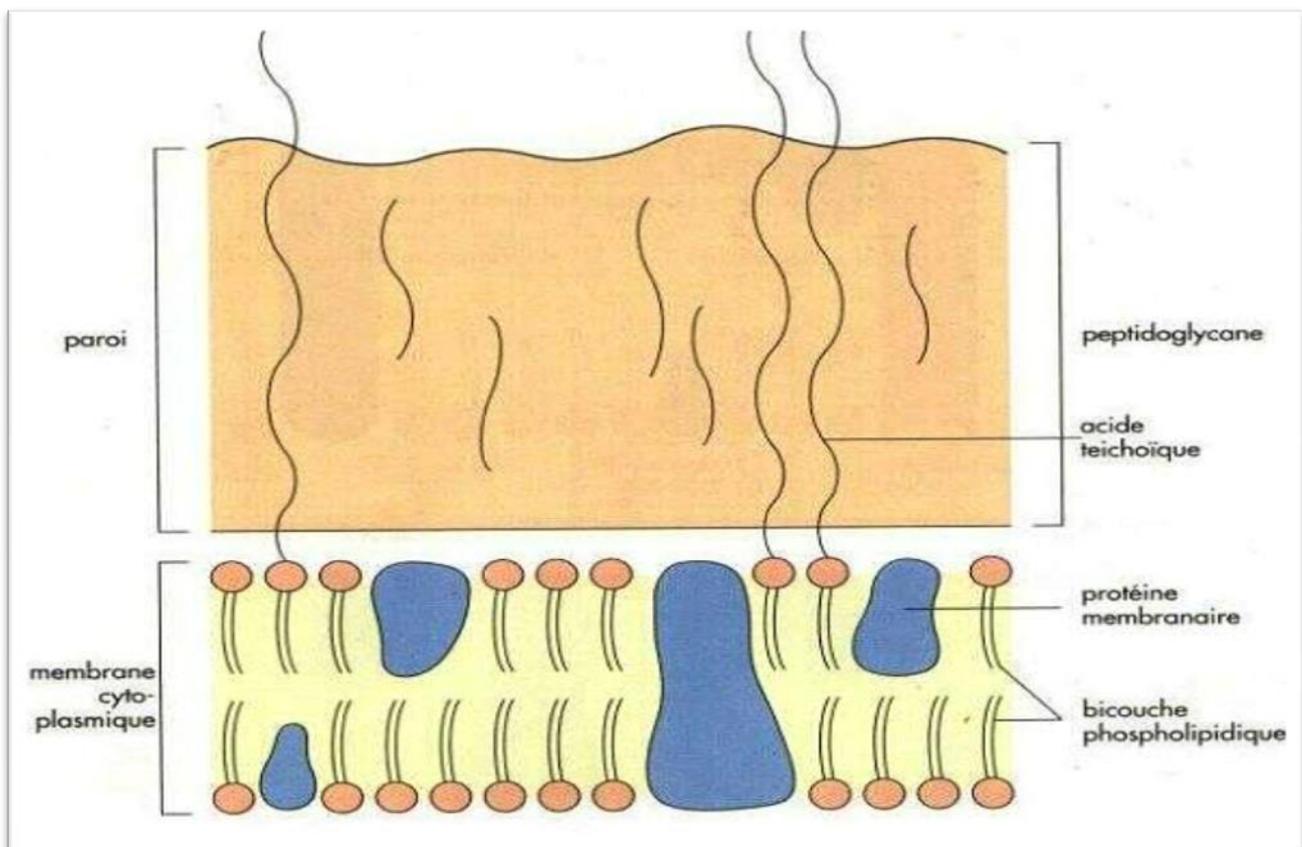
- Paroi des bactéries à Gram positif :

Chez les bactéries à Gram positif, la paroi est constituée presque exclusivement de la couche de peptidoglycane. Le peptidoglycane est très solide, les liaisons croisées entre chaînes glucidiques sont nombreuses.

On note la présence des acides teichoïques qui sont des polymères de glycérol et de ribitol reliés à des groupes PO_4 et dépassent la paroi (image 3). Les acides teichoïques sont connectés au peptidoglycane ou aux lipides de la membrane plasmique formant ainsi les acides lipoteichoïques. Leur fonction est inconnue mais maintiennent la structure de la paroi.

Les acides lipoteichoïques retiennent le violet lors de la coloration de Gram. Elles ont une paroi plus résistante et certaines produisent des spores qui leur confèrent une résistance accrue aux variations des conditions environnementales.

Image 3: Structure de la paroi des bactéries à Gram positifs



Source : Atlas de microbiologie de poche : TONY HART – PAUL SHEARS



- Les bactéries à Gram négatif :

Elle est beaucoup plus complexe.

Ici le peptidoglycane est une couche mince, peu dense (< 15% du poids sec). L'autre constituant essentiel est le lipide complexe (lipide A) ou endotoxine couplé à la glucosamine et à des résidus de phosphore qui est amphiphile, possédant une partie hydrophobe et une partie hydrophile. Sur les résidus glucosamine, des polysaccharides complexes sont fixés et forment la partie la plus externe de la paroi. Ils sont essentiels pour la physiologie bactérienne dans les processus de pénétration de nutriments ou de toxiques.

On trouve, à l'intérieur, des phospholipides, la membrane est successivement hydrophile (polysaccharide complexe), hydrophobe (lipide A et lipides des phospholipides), hydrophile (têtes hydrophiles des phospholipides).

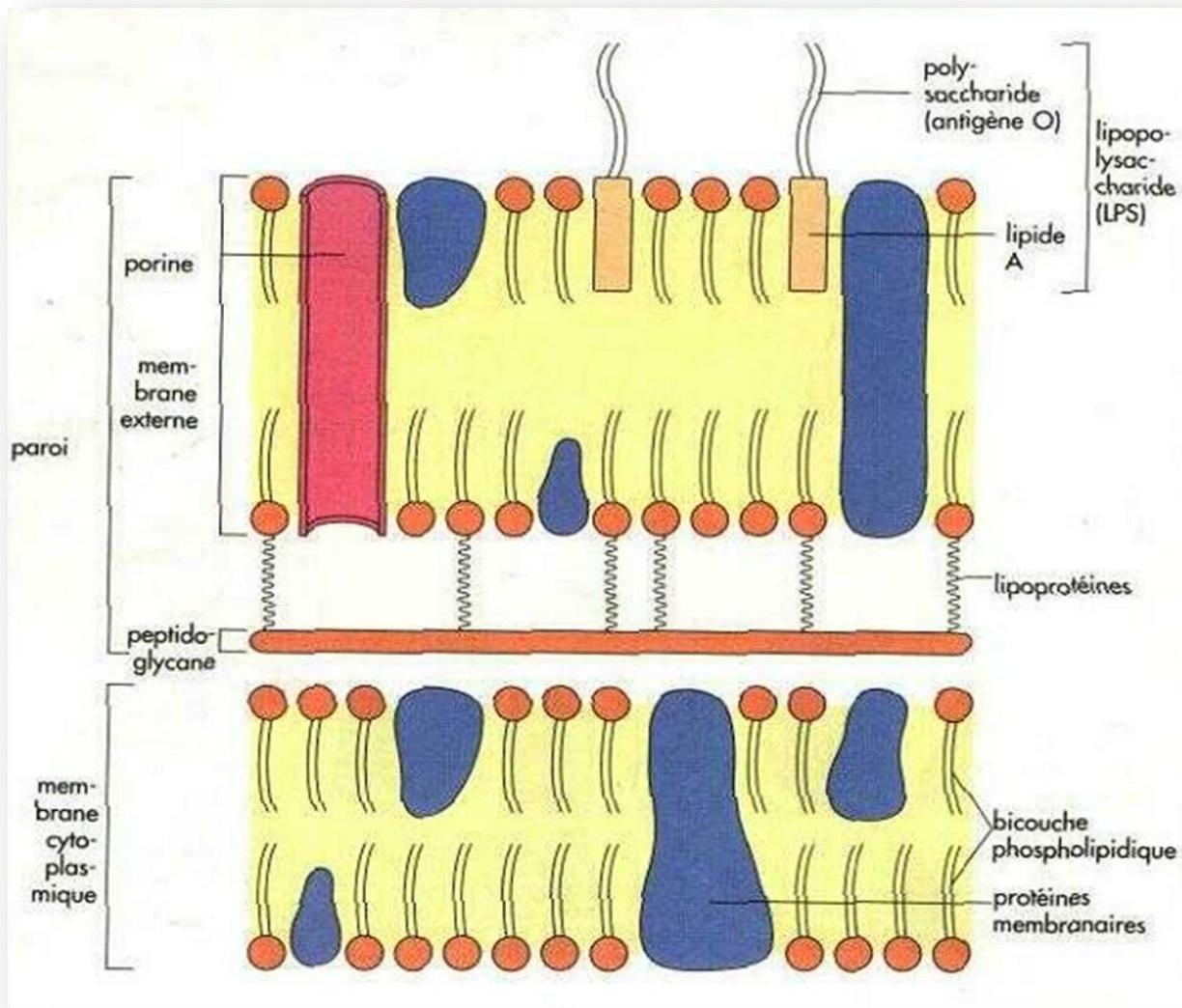
Des protéines se trouvent enchâssées assurant la cohésion de la membrane, une liaison avec le peptidoglycane et des fonctions diverses de perméabilité sélective ou non. Ces porines, seules structures de transport des composés hydrophiles, sont essentielles à la vie de la bactérie mais aussi à l'action de certains antibiotiques. Enfin d'autres protéines servent à la captation d'ions (fer), ou de vitamines (facteurs de croissance). La membrane externe empêche ou diminue l'entrée des sels biliaires, des antibiotiques, etc. Elle a de nombreux sites de contact avec la membrane plasmique.

La lipoprotéine de Braun est la protéine la plus abondante. Elle est attachée au peptidoglycane ou elle est fortement liée. Le lipopolysaccharide est constitué du lipide A, du polysaccharide central et de la chaîne latérale O. Les chaînes latérales O peuvent changer rapidement pour échapper à la détection. Le lipide A est enfoui dans la membrane externe, le reste est projeté à l'extérieur.

Les bactéries Gram négatives ont une paroi cellulaire fragile qui supporte mal la déshydratation subie pendant un passage prolongé dans l'air ou lors de l'échantillonnage.



Image 4: Structure de la paroi des bactéries Gram négatives.



Source : Atlas de microbiologie de poche : TONY HART – PAUL SHEARS

c) Classification

Les bactéries sont généralement entourées d'une paroi cellulaire. Celle-ci permet l'identification de nombreux types de bactéries. La coloration de Gram est la méthode de coloration la plus utilisée en bactériologie médicale pour la classification des bactéries. On distingue :

- Selon le Gram :

Les bactéries à Gram positif (colorées en violet ou mauve avec la coloration de Gram) ;

Les bactéries à Gram négatif (colorées en rose par la technique de Gram).

Le résultat du test permet de choisir un antibiotique efficace en cas d'infection.

- Selon la forme :

Les bactéries se présentent sous des formes diverses :

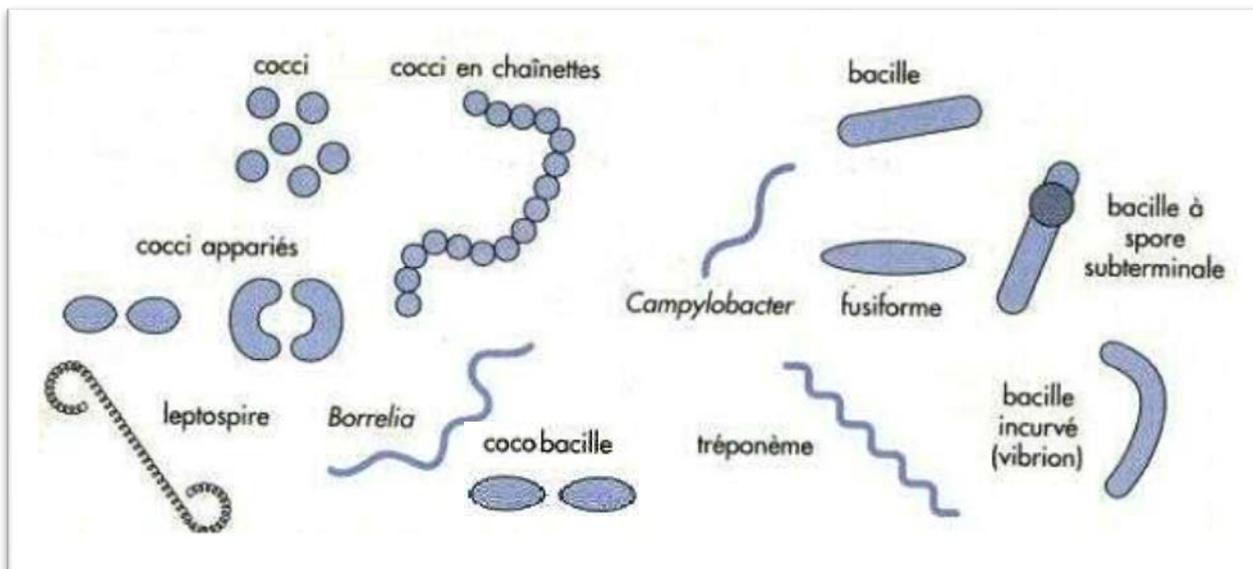
Les cocci (ou coques) de forme ronde (ex. *Streptococcus*) ;

Les bacilles, bâtonnets allongés aux extrémités arrondies (ex. *Lactobacillus*) ;

Les formes intermédiaires ou coccobacilles (ex. les bactéries du genre *Brucella*) ;

Les spirilles de forme plus ou moins spiralée (ex. *Azospirillum*).

Image 5 : Exemple de morphologie bactérienne



Source : Atlas de microbiologie de poche : TONY HART – PAUL SHEARS



d) Identification et culture

La plupart des bactéries peuvent être cultivées sur des milieux de culture artificiels fournissant les nutriments nécessaires à la croissance. Certaines bactéries sont des parasites intracellulaires obligatoires (telles les *Rickettsia*, *Chlamydia*, ou *Coxiella*), et sont cultivables seulement in vivo ou sur des cultures cellulaires.

Les bactéries cultivables peuvent pousser sur des milieux nutritifs non sélectifs comme la gélose au sang, ou sur des milieux sélectifs, dans lesquels la présence d'adjuvant (ex la bile dans le milieu de MacConkey) ou d'antibiotique (ex. vancomycine ou colistine) permet de limiter la pousse à certaines espèces seulement. Il existe des bactéries strictement anaérobies qui ne se développent qu'en atmosphère dépourvue d'oxygène. Dans un laboratoire de diagnostic, on utilise des milieux et des conditions de cultures différentes pour isoler telle ou telle bactérie à partir d'échantillons cliniques.

Si les caractères microscopiques et culturaux de quelques bactéries permettent parfois une identification présomptive (ex. *Vibrio cholerae*, *Neisseria meningitidis*) des examens complémentaires sont en général nécessaires pour la confirmer. Beaucoup de ces tests sont biochimiques, et des bactéries d'apparence similaire à la coloration de Gram et en culture peuvent être différenciées par la fermentation d'hydrates de carbone ou par d'autres réactions chimiques. Chez plusieurs espèces (ex. *Salmonella enterica*, *N. meningitidis*), des sous-types sont définis par des différences antigéniques, mises en évidence par agglutination avec des antisérums spécifiques.

e) Présence des bactéries dans l'air.

Les bactéries généralement considérées comme bioaérosol infectieux, ont besoin des aérosols de plus grande taille sous formes de gouttelette (particules liquides : gouttelette de flügg) ou de poussières pour être aéroportées [14].

Lors d'un éternuement, près de deux millions de gouttelettes peuvent être éjectées à une vitesse de 100 m/sec, comparativement à moins de 100 000 gouttelettes lorsqu'il s'agit d'une quinte de toux. Cette différence significative tient à la provenance des sécrétions qui s'avère plus profonde dans le cas de la toux [22]. L'image 6 illustre l'émission des gouttelettes produite par un éternuement. Plusieurs sont assez grosses pour contenir des milliers de micro-organismes [19].

Lors de l'éjection, les diamètres des gouttelettes varient entre 1 et 2 000µm dont 95 % sont de l'ordre de 2 à 100µm. Cependant, elles sèchent très rapidement. Le temps d'assèchement des gouttelettes de 100 et 50µm, dans l'air à 50 % d'humidité relative, est respectivement de 1,3 et 0,3 secondes [23]. Ceci met en relief le fait que l'humidité relative joue un rôle dans la taille et la



survie des aérosols infectieux [22].

Image 6 : Aérosol produit par un éternuement

Aérosol produit par un éternuement



Source: Guide sur la protection respiratoire contre les bioaérosols

Site internet : www.irsst.qc.ca/media/documents/pubirsst/rg-497

La dimension des bioaérosols infectieux se situerait entre 0,1 et 10 μ m [19; 22]. Il semblerait même que la majorité des virus et des bactéries qui causent des maladies respiratoires chez les humains sont habituellement contenus dans des bioaérosols de diamètres supérieurs à 5 μ m. Toutes les gouttelettes et particules solides peuvent contenir des micro-organismes, des protéines, des mélanges de salive, de mucus et de débris cellulaires qui sont autant de porteurs pour les infections respiratoires [19].

Des poussières de grandes tailles, visibles à l'œil nu assimilées à des réservoirs de nature animale ou végétale, elles offrent tous les éléments propices à la survie des bactéries dans l'air. Les bioaérosols, constitués de particules solides ou liquides de moins de 10 μ m de diamètre, demeurent en suspension dans l'air assez longtemps (quelques heures) et sont susceptibles d'être inhalés [19 ; 22]. Le tableau 2 indique le temps requis pour qu'un bioaérosol se dépose par sédimentation d'une hauteur de trois mètres.



Tableau 2: Comportement des bioaérosols dans l'air libre. [22]

Diamètre en μm	Temps requis pour se déposer d'une hauteur de 3 Mètres
100	10 secondes
40	1 minute
20	4 minutes
10	17 minutes
6 à 10	Quelques heures
0,06 à 6	Plusieurs heures

f) Risques pour la santé :

La majorité des bactéries présentes naturellement ne causent pas d'effets néfastes à la santé. Certaines sont même essentielles tant à l'organisme humain qu'à l'environnement. Les risques pour la santé apparaissent lorsque les concentrations de certaines espèces deviennent anormalement élevées. Ainsi, de fortes concentrations de bactéries thermo-actinomycètes peuvent causer une pneumonie d'hyper sensibilité, telle que la maladie du poumon du fermier. Certaines bactéries sont reconnues comme étant des agents responsables de maladies infectieuses. Le risque pour la santé relié à la présence de la bactérie *Legionella pneumophila*, soit la légionellose, est bien documenté [18]. Il existe deux formes distinctes de légionellose : la maladie du légionnaire, une pneumonie progressive pouvant être mortelle, et la fièvre de Pontiac, qui cause des symptômes similaires à ceux de la grippe. Cette bactérie est connue pour sa capacité à se développer dans des réservoirs d'eau. Elle est sujette au dessèchement et ne survit pas à l'extérieur de l'eau. Elle peut cependant être transmise dans l'air par la projection des gouttelettes d'eau qui en contiennent.

Le genre *Mycobacterium* est également d'intérêt pour la santé, et particulièrement l'espèce *Mycobacterium tuberculosis*, l'agent étiologique de la tuberculose. La majorité des espèces de mycobactéries vivent dans les sols et dans l'eau, mais leur principale niche est les tissus malades des animaux à sang chaud, incluant les humains. La bactérie *Mycobacterium tuberculosis* est aéroportée par les gouttelettes que génèrent les porteurs de la maladie et les systèmes de ventilation.



2. Les champignons :

Les champignons ou mycètes constituent un règne très important, dont seul un petit nombre de représentants sont pathogènes pour l'homme. Ce sont des eucaryotes, possédant un noyau et une paroi cellulaire composée de chitine. Les champignons peuvent se présenter sous forme unicellulaire (levure) ou pluricellulaire, lorsque les cellules s'allongent pour former des filaments ou hyphes (qui constituent le mycélium). Les quatre principaux embranchements des champignons vrais (eumycètes) se distinguent par leur mode de reproduction. Les zygomycètes peuvent avoir une reproduction sexuée, les zygotes se formant par fusion des extrémités des filaments (gamétanges). On trouve parmi eux les genres pathogènes *Mucor* et *Absidia*. Les basidiomycètes possèdent des spores sexuées externe produites par des cellules en forme de massue appelées basides (*Cryptococcus neoforman* est la forme levure d'un champignon basidiomycète).

On compte actuellement plusieurs dizaines de milliers d'espèces connues de moisissures et de levures, les deux groupes appartenant à la famille des champignons. Omniprésents dans l'environnement, les champignons sont des saprophytes primaires, c'est-à-dire qu'ils utilisent la matière organique morte comme source nutritive pour leur croissance et leur reproduction. Plusieurs vivent dans les sols et prennent une part active dans la décomposition de la matière organique. Ils sont habituellement aérobies. Les humains seraient exposés couramment à plus de 200 espèces d'entre eux, dont plusieurs prolifèrent bien dans un environnement intérieur humide. Les levures sont des organismes unicellulaires qui se divisent par fission et par bourgeonnement. Les moisissures sont des organismes pluricellulaires qui se propagent par leurs spores. Ces éléments se développent en filaments appelés hyphes, lesquels, en s'agglomérant, forment le mycélium. Celui-ci donne naissance à des structures plus spécialisées, les appareils sporifères, responsables de la formation des spores. Les spores diffèrent en formes, en dimensions et en couleurs. Elles peuvent survivre de quelques jours à quelques années. Chaque spore qui germe peut donner lieu à la croissance d'une nouvelle moisissure, laquelle peut, à son tour, produire des millions de spores dans des conditions de croissance appropriées

a) Présence des champignons dans l'air

Les moisissures libèrent leurs spores sous l'effet des mouvements d'air importants ou en réaction à des conditions défavorables, telles que l'augmentation ou la diminution rapide de l'humidité ou encore, en réponse au besoin d'atteindre une nouvelle source de nourriture. La présence de ces spores dans l'air dépend également de leur façon de se disperser. En fait, le mode de dispersion



et de transfert des spores diffère selon les espèces. Certaines, appelées gloeiospores, ont une paroi épaisse, de consistance humide, et restent collées entre elles par un mucus. Elles forment des amas lourds difficilement transportables par l'air. Elles sont véhiculées au niveau des substrats par contact, par des insectes ou par l'eau. C'est le cas des moisissures du genre *Acremonium* et *Exophiala*. D'autres genres, tels que *Penicillium* et *Cladosporium* ont des spores à paroi sèche, facilement dissociables et légères. Elles sont ainsi plus facilement dispersées dans l'air. Les concentrations de spores dans l'air étant dépendantes des conditions environnantes elles varient donc au cours d'une même journée [18].

b) Risques pour la santé :

Les études épidémiologiques ne permettent pas à ce jour d'établir de relation causale entre l'ampleur de la présence fongique et l'exposition aux moisissures présentes dans l'air avec des effets spécifiques sur la santé ou avec la fréquence et la gravité des symptômes rapportés. Elles tendent à démontrer l'existence d'une association entre l'exposition aux moisissures et le développement de certains symptômes, notamment les symptômes respiratoires. Plusieurs de ces études ont également constaté la présence d'une humidité élevée. Il peut donc être difficile de dissocier les effets de l'humidité élevée de ceux des moisissures.

Généralement les concentrations de moisissures ambiantes ne causent pas d'effets sur la santé de la majorité des gens. Cependant, dans des situations où ces concentrations sont anormalement élevées ou dans le cas de certaines personnes souffrant de problèmes respiratoires ou ayant un système immunitaire déficient, l'exposition aux moisissures peut favoriser l'apparition de symptômes et de maladies. Les effets ressentis dépendent des espèces présentes, de leurs produits métaboliques, de la concentration et de la durée de l'exposition ainsi que la susceptibilité individuelle. Les principaux effets sur la santé associés à une exposition aux moisissures sont les réactions d'hypersensibilité (allergie), les infections et l'irritation [18].



D. Les principales causes de la pollution microbienne de l'air à Bamako.

1. Démographie galopante :

Bamako étant la première ville du Mali et la première ville industrielle n'échappe à ce phénomène. C'est ainsi que le District a vu sa population doubler en ces 5 dernières années (de nos jours plus de 1 million d'êtres humains) vivent à Bamako.

Cette flambée démographique a conduit à l'émergence de plusieurs quartiers anarchiques ou bidonvilles.

2. Etat dégradé des routes :

Les artères principales qui existent à Bamako servent à la liaison entre les vieux quartiers et les quartiers résidentiels. Un dicton Bamakois cite ceci : « Eh Monsieur, à Bamako, on n'évite pas les trous, chacun choisit son trou ».

Des pistes poussiéreuses sont un facteur de pollution, phénomène accentué sur les grandes voies de pénétration des quartiers périphériques : Niamakoro, Lafiabougou, Banconi, Kalabankoro.

De nos jours le District est à l'œuvre pour la liaison de tous les quartiers de Bamako, et cela par la réalisation des routes pavées et le bitumage des grands axes.

3. Trafic routier croissant :

On peut enregistrer quelques 15 000 entrées et 12 000 sorties de voitures par semaine à Bamako (source ONT).

A Bamako la qualité de l'air commence de plus en plus à se détériorer et beaucoup de personnes se plaignent déjà de la persistance des fumées et de l'insalubrité de l'air qui nous environne. De nos jours, le point d'asphyxie est atteint. L'explosion démographique a contribué au développement du transport interurbain d'où le développement des transports en commun : « SOTRAMA » et « DOUROUNDIS » reliant les quartiers périphériques au centre-ville. L'augmentation du prix d'essence a contribué aux usagers à se tourner vers le gasoil d'où la diésélisation croissante. Ce phénomène est la principale cause de pollution urbaine de nos jours.



4. Position topographique de Bamako :

Bamako est située dans une cuvette et entourée par les collines aux quatre points cardinaux, ce qui fait que l'air est toujours vicié.



Méthodologie

IV. METHODOLOGIE

A. Lieu et cadre d'étude :

1. Lieu d'étude :

La présente étude s'est déroulée en premier temps au carrefour situé au niveau de l'Immeuble Nimagala au centre-ville de Bamako à l'intersection de la Rue Gouraud et le boulevard du Fleuve. A cette place, les appareils de collecte de micro-organismes aéroportés ont été placés et en même temps les sujets exposés surtout les occupants des boutiques et kiosques au niveau du carrefour ont été enrôlés dans l'étude.

Les travaux de laboratoire (analyses microbiologiques) ont été conduits au laboratoire de biologie moléculaire appliquée (LBMA) de la faculté des sciences et techniques (FAST) de l'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB).

Le laboratoire est composé des unités de parasitologie moléculaire, de biotechnologies végétales, de virologies, de génétique et une salle de culture où nos activités furent menées.

2. Cadre de l'étude :

Situé sur les rives du fleuve Niger, appelé Djoliba, le centre-ville de Bamako est situé dans une cuvette entourée des collines de Badalabougou, de Koulouba et de Point G.

Son accroissement démographique est impressionnant : 37 000 habitants en 1945, près de 100 000 en 1960 lors de l'indépendance du Mali, l'agglomération compte aujourd'hui plus d'un millions d'habitants et continue à attirer une forte population rurale en quête de travail. Cet accroissement incontrôlé entraîne des difficultés importantes en termes de circulation, d'hygiène (accès à l'eau potable, assainissement), de pollution...

Situé à 1000 kilomètres de Dakar et d'Abidjan et à 400 kilomètres de la frontière guinéenne, Bamako est devenu le carrefour de l'Afrique de l'Ouest et accueille une population variée, composée des différentes ethnies présentes au Mali mais aussi des pays limitrophes [24].



Image 7: Façade de l'immeuble Nimagala : le point de collecte des échantillons indiqué par une flèche



Source : Image téléphone ONE TOUCH PIXI prise le 08/12/2012.



B. Etude microbienne de l'air

1. Type et période d'étude

Il s'agit d'une étude prospective longitudinale qui s'est déroulée de décembre 2008 à avril 2009. Cette période couvre la saison sèche froide et une partie de la saison sèche chaude qui s'étend normalement jusqu'au mois de juin.

2. Sélections des micro-organismes :

a) Les micro-organismes inclus dans l'étude :

Tous micro-organismes cultivables in vitro, pouvant être aéroporté, et acceptant nos conditions de cultures et d'identifications.

b) Les micro-organismes non inclus dans l'étude :

Les virus et autres micro-organismes non cultivables in vitro ou dépendant de milieux de cultures spécifiques autres que les nôtres.

3. Prélèvement

a) Technique de collecte d'air :

Un échantillonnage d'air à deux mètres du sol a été fait sur une période d'une heure en utilisant un filtre pré- stérilisé de nitrocellulose (Millipore) de 0,22 µm de taille de pore de 47 mm de diamètre attaché à une pompe électrique à vide (Gelman Little Giant, Gelman Sciences, Ann Arbor, Mi, Etats-Unis d'Amérique). Toutes les conditions d'asepsie ont été considérées tout le long des manipulations.

Au début de l'étude nous avons commencé par un prélèvement d'une heure par jour, puis durant la phase intensive qui s'étendait sur deux jours nous avons fait 4 prélèvements d'une heure par jour: un le matin à 7 h ; un à midi ; un à l'après-midi vers 18 h et un le soir à 0h.

b) Préparation des filtres :

La première étape consiste à préparer au préalable tous les matériels qui seront utilisés lors de la collecte d'air. Cette étape a été faite sous la hotte biologique de sécurité type II où les pinces, la porte filtre et les milieux de cultures seront stérilisés.



Les matériels utilisés :

- La hotte ou PSM de type II

La hotte de type II ou hotte à flux laminaire est une enceinte de sécurité microbiologique permettant aux manipulateurs de travailler dans des conditions de protection élevée car le manipulateur et ses matériels et produits sont protégés, les milieux intérieurs et extérieurs (environnement) de la hotte sont aussi protégés.

- La pince

C'est une pince en aluminium qui intervient au moment des manipulations avec le filtre stérile pour empêcher la contamination du filtre.

- Le filtre :

Le filtre en papier stérile de marque MILLIPORE de forme ronde, couleur blanche, diamètre 46mm, et avec une taille de maille de 0,22 μ m est retenu pour cette étude.

Ce filtre par la taille des mailles permet de capturer toutes particules vivantes ayant une taille supérieure à 0,22 μ m.

Donc la plus part des bactéries et des parasites seront capturés par notre filtre, c'est seulement les virus qui seront épargnés vu leurs tailles très petite inférieures à 0,22 μ m.

- Le porte-filtre :

Ce porte-filtre de marque NALGENE de taille 47- 50 mm à membrane avec connecteurs amovibles aux deux extrémités et ajustement possible 3/8 est parfaitement adapté à notre filtre de 46 mm de diamètre.

Image 8 : Porte-filtre NALGEN



Source : www.scientificfilters.com/MSimages/Nalgene-DS



Procédure de la préparation du filtre.

Les gants sont obligatoires tout au long de ces démarches.

Tout le travail est effectué sous un poste de sécurité de type II (PSM de type II).

Si les gants touchent un matériel souillé ils sont automatiquement changés ou stérilisés avec de l'éthanol à 70%

Si les gants sortent de l'enceinte de la hotte, ils seront stérilisés avec de l'alcool à 70% avant la réintroduction dans l'enceinte de la hotte.

- Allumer la lampe UV de la machine pendant 4-5 minutes,
- Eteindre la lampe UV et allumer la hotte (PSM)
- Porter des gants et le masque convenable pour plus de protection
- Rincer les 2 mains portant les gants avec de l'éthanol à 70% avant de les introduire dans la hotte, puis avec de l'éthanol nettoyer convenablement l'enceinte de la hotte.
- Stériliser tous les matériels (porte filtre, pince, etc....) à utiliser et les mettre dans la hotte au milieu sur le plan de travail.
- Enlever le filtre de son paquet avec la pince, placer le dans la porte filtre déjà stériliser.
- Fermer bien la porte filtre contenant le filtre et la mettre dans un sachet stérile à fermeture idéal pour le transport.

Le filtre ainsi préparé est transporté vers l'immeuble NIMAGA pour l'échantillonnage.

Après la préparation du filtre, nettoyer convenablement la hotte avec l'éthanol ou de l'eau de javel, puis l'éteindre et allumer la lampe UV pendant 4-5 minutes.

c) Préparation de la pompe.

Matériels utilisés :

- Une pompe électrique à vide (Gelman Little Giant, Gelman Sciences, Ann Arbor, Mi, Etats-Unis d'Amérique) avec un débit de 1, 90 CFM ou 3,22 m³/h est utilisée pour aspirer l'air à travers le filtre.
- Notre pompe est munie de deux bornes : une première borne (B1) qui aspire l'air et une deuxième (B2) qui laisse échapper l'air.



Image 9 : La pompe électrique à vide



Source: www.midwestmachinetool.com/.../images/gast-left.jpg

- Tuyaux en caoutchouc de couleur transparent de calibre compatible avec les connecteurs de la porte filtre et les bornes de la pompe.
- Un petit entonnoir pour optimiser notre prélèvement.

Procédure :

Le bout du tuyau est muni d'un petit entonnoir disposé au point de prélèvement soit à 2 mètres au-dessus du sol et l'autre bout est relié au connecteur **C1** du porte-filtre, le bout d'un deuxième tuyau est relié au connecteur **C2** du porte-filtre et l'autre bout est relié à la borne (**B1**) de la pompe. La porte filtre est placée entre les deux tuyaux de telle sorte que le filtre est exposé au flux d'air avant qu'il n'arrive à la pompe. La borne (**B2**) de la pompe étant celle d'échappement d'air n'a pas besoin d'être connecté. L'intérieur des tuyaux est rincé et stérilisé avant chaque collecte.

La pompe et le filtre ainsi préparé peuvent échantillonner pendant une heure de temps. Selon la fiche technique du filtre après une heure de prélèvement les flux d'air seront néfastes pour les micro-organismes qui les détruisent par déshydratation. Les conditions météorologiques sont notées avant et après chaque mise en marche de la pompe.

Après l'échantillonnage, la porte filtre est enlevée des tuyaux, puis emportée au laboratoire pour les analyses microbiologiques.



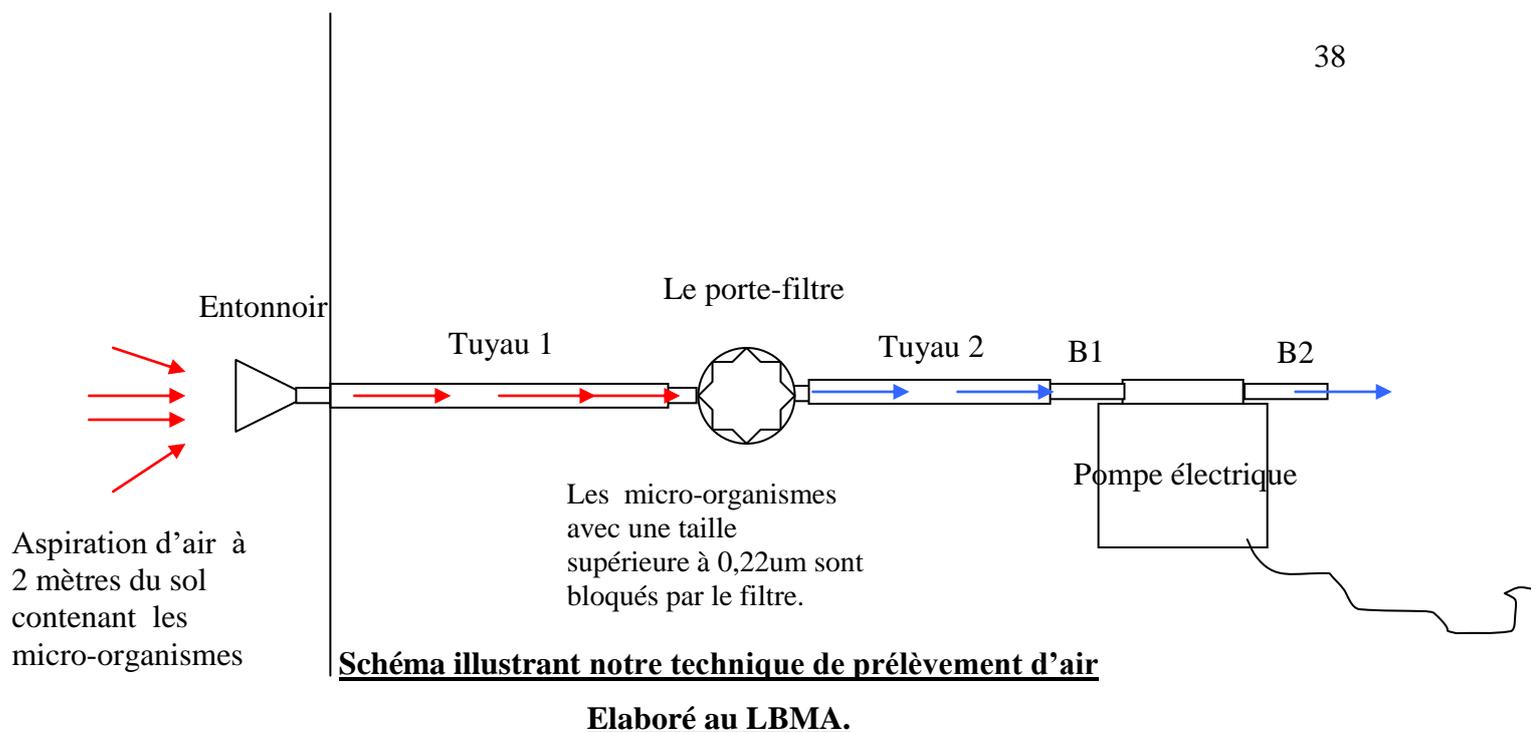


Image 10 : Schéma illustrant notre technique de prélèvement d'air

4. Culture

a) Technique de culture

Après le prélèvement, le filtre est transporté au LBMA et est donc mis en culture sur l'agar de Brain heart infusion (BHI; 52g/l) en aérobie pendant 24 heures à une température de 37°C. Les colonies visibles sur la surface du filtre sont identifiées et comptées comme nombre d'unités de colonies formées par plaque.

Une colonie par plaque est isolée d'une manière aseptique dans 5 ml du bouillon de Luria Bertani (LB, 20g/l) et le bouillon est incubé pendant 24 heures à 37°C dans un incubateur agitateur à 120 rotations par minute. 1 ml de culture est centrifugé à 14.000 tours par minute pendant 10 minutes afin d'obtenir un culot et le surnageant est rejeté. Le culot est gardé à -20°C jusqu'à la conduite de la PCR.

b) Procédée de culture

Cette partie est basée sur la culture des micro-organismes de l'air. Les échantillons d'air prélevés ont subis des séries de culture pour une identification ultérieure.



La liste des matériels et réactifs de travaux

Les matériels et réactifs utilisés pour mener à bien ce travail sont les suivants :

- Les matériels

- Une hotte à flux laminaire hotte de type II (PSM II)
- Une hotte de type I
- Incubateur avec rotation à 37 °c
- Pipettes
- Ciseaux
- Pincés
- Centrifugeuses
- Les Gants

- Les réactifs

- Milieu de culture solide BHI (brain heart infusion) (infusion de cœur et de cervelle) Agar
- Milieu de culture liquide LB (Laira Bertani)
- L'alcool 9 (éthanol à 70°C)
- L'eau de javel

Mise en culture des échantillons prélevés :

Au laboratoire le porte-filtre est directement mis dans la hotte déjà préparée à accueillir les échantillons.

Cette préparation comprend tout d'abord la stérilisation de la hotte suivie de ces manœuvres d'allumage puis la mise en place du milieu BHI AGAR.

Une boîte de milieu BHI est ouverte et ainsi exposée à l'air à de la hotte à titre de contrôle.

La négativité de ce contrôle permet de confirmer l'intégrité de la manipulation, de la hotte et du milieu de culture.

On ouvre le porte filtre, enlève le filtre de façon aseptique avec la pince et le découpe en deux parties. Une partie sera conservée dans un sachet étiqueté (date et temps de prélèvement), l'autre partie est déposée dans le milieu BHI AGAR sur la face non exposée aux flux d'air pour la culture.

La boîte étiquetée (date et temps de prélèvement) de BHI AGAR est bien fermée à l'aide du papier para film et mise en culture dans l'incubateur à 37°C pendant 48 heures.

Après les 48 heures on procède à l'observation avec la loupe pour caractériser et compter les colonies poussées. Les colonies sont décrites suivant leur forme, leur couleur, leur aspect,



leur relief, leur contour et leur surface. Chaque type de colonie est piqué toujours dans la hotte à l'aide d'une anse stérile et ensemencé dans 4 ml de milieu LB contenu dans un tube à essai stérile. Ces tubes sont ensuite mis en incubation dans un incubateur rotatif à 37°C pendant 24 heures avec une vitesse rotative de 20 tours/minute.

Un tube contenant seulement le milieu de culture mis en contact avec l'anse stérile est incubé avec les autres tubes comme contrôle.

La présence de turbidité dans les tubes au bout de 24 heures indique la multiplication des micro-organismes mises en cultures.

Le contrôle doit rester intact donc pas de turbidité, dans le cas contraire on doit revoir la stérilité de l'anse et la manipulation, puis refaire la partie.

La plupart des positivités du tube contrôle est due à l'anse, donc après une inoculation il faut bien stériliser l'anse avec la flamme de bec Bunsen avant une autre inoculation.

On peut utiliser aussi des cure-dents stériles comme anse à usage unique pour minimiser les contaminations si elles sont très nombreuses.

Après les 24h chaque tube est observé à l'œil nu pour classer la bactérie cultivée soit en aérobies strict (ne peut vivre qu'en présence d'oxygène) soit en anaérobies strict (ne peut pas vivre qu'en absence d'oxygène) ou en facultatives (qui peut vivre en présence ou en absence d'oxygène).

Après cela on procède à l'identification de Gram de la bactérie cultivée par la coloration de Gram.

5. Identifications bactériennes

L'identification est basée sur la technique de la coloration de Gram qui permet de donner la forme et le Gram (propriété de la membrane bactérienne), puis sur la PCR qui va confirmer l'identité bactérienne et ou parasitaire.

a) Technique de la coloration de Gram.

- Déposer une goutte de bouillon au centre d'une lame de verre, étaler la goutte et laisser sécher.
- Fixer par flambage à l'alcool à 95°.
- Recouvrir la lame de violet de gentiane phéniqué et laisser agir une minute.
- Rincer rapidement à l'eau du robinet et éliminer l'excès d'eau.



- Recouvrir la lame de Lugol (solution d'iodure de potassium iodée) et laisser agir une minute.
- Rincer à l'eau du robinet et éliminer l'excès d'eau.
- Différencier (décolorer) avec un mélange alcool-acétone ("Différenciateur rapide"). Ce temps est le plus délicat de la coloration de Gram.
- Rincer abondamment à l'eau du robinet.
- Recouvrir la lame de fuchsine et laisser agir une minute.
- Rincer à l'eau du robinet.
- Sécher puis observer au microscope (objectif x100 à immersion).

b) Technique de PCR

La PCR, l'abréviation anglaise de polymérase Chain reaction (une réaction de polymérisation en chaîne), est une méthode d'identification de biologie moléculaire d'amplification génique *in vitro*, qui permet de copier en grand nombre, une séquence d'ADN ou d'ARN connue, à partir d'une faible quantité d'acide nucléique (séquence *spécifique* d'ADN l'Amplicon) ou amorces spécifiques constituées d'oligonucléotides de synthèse de 20 à 25 nucléotides). Cette technique est basée sur la combinaison de deux facteurs :

- Les propriétés de synthèse enzymatique et d'initiation « ADN double brins spécifique » des « **ADN polymérase ADN dépendantes thermostables** ».
- Les propriétés d'hybridation et de deshybridation des brins complémentaires d'ADN en fonction de la température.

Pour opérer cette technique basée sur les gènes, il faut au préalable faire une extraction d'ADN ou ARN.

Protocole d'extraction ADN bactérien

Il existe plusieurs méthodes pour extraire l'ADN, mais nous avons utilisé dans notre étude la technique de chelex-100 bouillant qui va nous permettre d'avoir des fragments d'ADN inférieur à 700 Pb. (Koïta, 2000).

Procédé de l'extraction.

Elle est basée sur le principe d'affinité entre les ions $2+$ et la résine. Le Chelex chélate les ions Mg^{2+} ou Ca^{2+} au niveau de l'ADN. Le complexe Chelex-ADN est libéré par chauffage à $100\text{ }^{\circ}\text{C}$. Cette technique est pratiquée lorsqu'on veut travailler sur les fragments d'ADN de moins 700 pb. Dans notre cas, une colonie de bactéries est prélevée sur substrat obtenu dans une boîte de pétri



et suspendue dans le tampon I X PBS. (1) la suspension bactérienne est centrifugée une 1^{ère} fois et le surnageant est jeté ; (2) le culot est lavé 3 fois avec 1 ml de PBS en jetant chaque fois le surnageant ; (3) 1 ml de saponine est ajouté au culot puis garder pendant 30 min dans de la glace fondante ou au réfrigérateur à 4°C pour éviter que les enzymes agissent sur l'ADN ; (4) le culot est centrifugé pendant 3 min à 12 000 G en jetant le surnageant ; (5) le culot est encore lavé 3 fois avec 1 ml de PBS en jetant les surnageant ; (6) 200 µl de Chelex sont ajoutés au culot pour fixer les ions Mg²⁺ et Ca²⁺ puis chauffer à 56 °C pendant 15 min. sur bain sec ; (7) le culot est ensuite bouilli pendant 8 min. à 100 °C, puis centrifugé à 12 000 g pendant 3 min. ; (8) le surnageant est transféré dans un autre tube en rejetant le culot ; (9) ce surnageant est récupéré pour faire le dosage de l'ADN à la machine SmartSpec 3000 . Le surnageant qui est la suspension d'ADN peut être gardé à -20 °C jusqu'à son utilisation. L'électrophorèse de l'extrait d'ADN a porté sur la préparation d'un gel composé de 2g d' une poudre d'agarose 2 % dans 100 ml de TBE (Trisborate EDTA) à 0,5X, qui est mis dans un Erlenmeyer et bouilli dans le micro-onde pendant 1 min. 30 S, puis refroidis à la température ambiante. Il est ajouté à cette solution 30 µl de Bromure d'Ethidium puis remuer doucement en éliminant les bulles d'air. Le mélange ainsi formé est coulé dans le moule jusqu'à solidification à la température ambiante. Pour faire migré l'ADN, le gel est placé dans le Bac de migration rempli avec de la solution tampon de TBE à 0,5X. Les échantillons d'ADN sont ensuite logés dans les puits de gel dans le bac de migration qui est branché à un générateur de courant réglé à 100 volts. La migration de l'ADN se fait dans une heure et après cette migration, la révélation est faite à l'ultra-violet (U.V), la photo est prise avec une caméra de type Kodak et le gel est analysé à l'ordinateur.

Procédée de la PCR :

Pour réaliser la PCR, Les amorces utilisées avaient respectivement pour séquence

8FPL F [AGTTTGATCCTGGCTCAG] comme amorces allé

8FPL R [GGYTACCTTGTTACGACTT] comme amorces retour

Pour chaque échantillon d'ADN, les proportions de réactifs constituant le mélange réactionnel de 25 µl de volume final sont résumées dans le tableau 3.

Tableau 3: Protocole de la PCR

Réactifs	Concentration initiale	Concentration finale	Volume préparé µl
Eau stérile	-	-	15,2
Tampon PCR	10 X	1 X	2,5
Mgcl ₂	25 mM	1,5 mM	1,5
DNTPs (ATGC)	10 mM	0,2 mM	2
Taq ADN polymérase	5 U/µl	0,06 U/µl	0,3
Amorces aller	50 µM	1 µM	0,5
Amorces retour	50 µM	1 µM	0,5
ADN	-	-	2,5
Volume final			25

L'électrophorèse est l'estimation de la taille des produits après la PCR, les amplicons ont subi une électrophorèse sur gel d'agarose 2 % contenant du Bromure d'Ethidium à 0,3 µl/ml 15 µl des produits amplifiés furent logés dans des puits du gel, préalablement mixés à 3 µl de tampon de chargement auquel on a ajouté un colorant appelé (bleu de bromophénol 0,25 %, Sucrose 40 % eau distillée). Le marqueur moléculaire de taille V ou VI (Boehringer Mannheim, Indianapolis, IN) fut également logé dans le gel parallèlement aux amplicons. L'électrophorèse fut faite à 100 Volts pendant 60 min. dans du TBE 0,5 X comme tampon de migration. Le dispositif était composé d'une cuve d'électrophorèse (Wide minisub® cell GT, Biorad) reliée à un générateur (Power Pac 200, Biorad). Le gel fut enfin révélé sous lumière ultraviolette puis photographié avec l'appareil Bio-Rad.



C. Identification de la population exposée à la pollution de l'air

1. Étude du questionnaire :

Nous avons sélectionné 504 sujets d'une manière aléatoire aux alentours du point de collecte des micro-organismes dans l'air.

D. Saisie et analyse des données

La rédaction est faite avec le logiciel Word[®], la saisie des données, les calculs statistiques et la réalisation des graphiques sont effectués avec le logiciel Excel[®]. Le test khi-deux est utilisé pour la comparaison des données.



RESULTATS

V. RESULTATS

Notre travail portait:

- 1] Sur l'examen des bactéries aériennes susceptibles d'être associées aux maladies cardio-respiratoires, et
- 2] sur l'identification des sujets exposés à la pollution due notamment aux particules fines et les microbes de l'air.

A. Etude microbienne de l'air au niveau du site d'expérimentation

Durant les 6 mois d'étude couvrant la période saison sèche froide (novembre 2008, décembre 2009, janvier et février 2009) et saison sèche chaude (mars et avril 2009), nous avons échantillonné l'air au niveau du site d'expérimentation avec une périodicité variable journalière

Tableau 4: Fréquence de collection de l'échantillon d'air au site d'expérimentation

N	MOIS	Fréquence de prélèvement	Pourcentage
1	Novembre	1	3.33
2	Décembre	12	40
3	Janvier	9	30
4	Février	3	10
5	Mars	4	13.34
6	Avril	1	3.33
	Total	30	100

Nous avons fait 30 collectes d'air étalés sur 6 mois soit une moyenne de 5 collectes par mois.

Notre limite est qu'il n'y a pas eu d'homogénéité entre les prélèvements mensuels $X^2 = 20,4$; ddl = 5 et p = 0,01. C'est au mois de Décembre que nous avons fait 12 prélèvements



contre 1 prélèvement aux mois de Novembre et d'Avril.

Deux cent quarante (240) lames colorées par la coloration de Gram ont permis d'identifier la présence de plusieurs sortes de germes dans l'air circulant dans le centre-ville de Bamako. Les bactéries de forme bacillaire étaient les plus fréquentes dans l'air à Bamako entre Novembre 2008 et Avril 2009 soit **77,08%** suivies de celles de la forme cocci avec **19,17%** et des champignons **3,75%** (Figure 1).

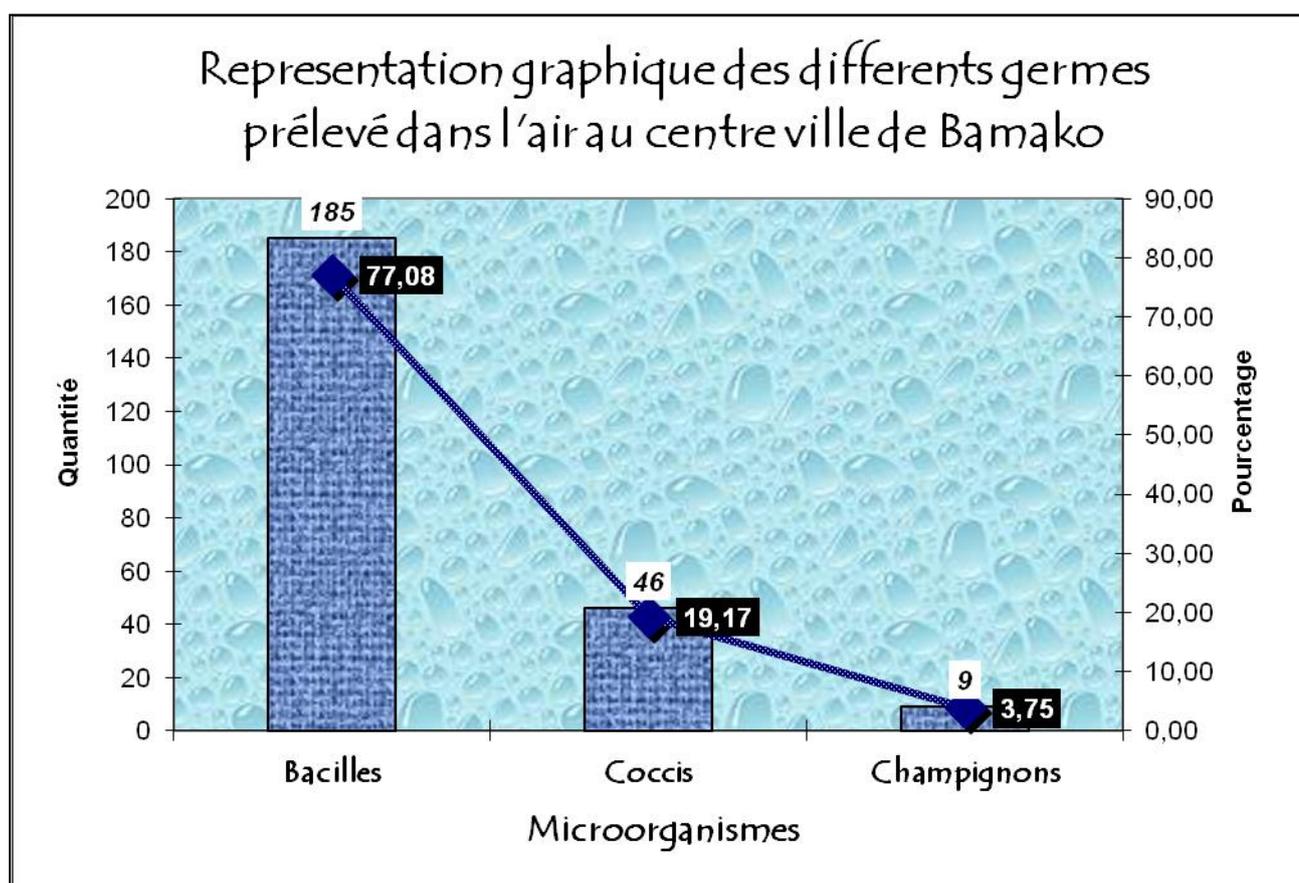


Figure 1: Représentation graphique des différents germes prélevés dans l'air au centre-ville de Bamako.



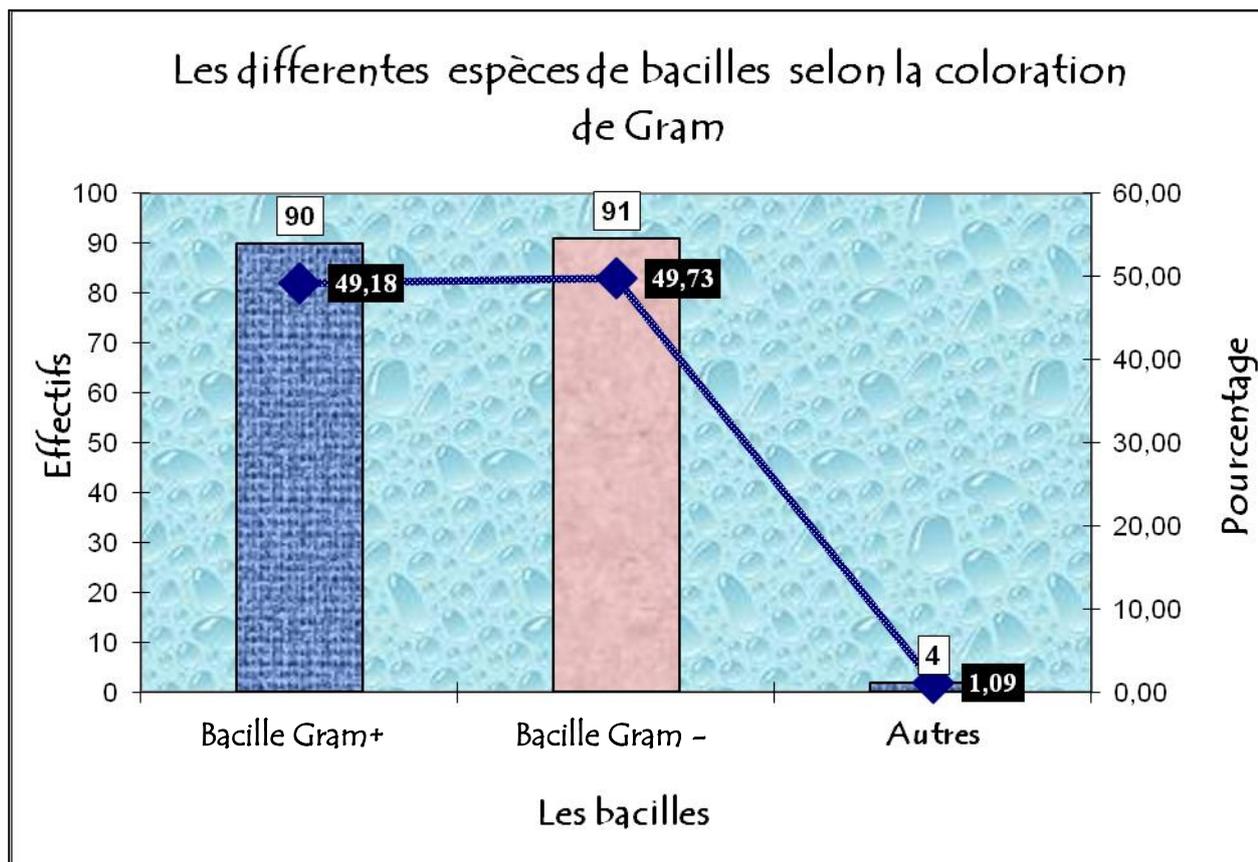


Figure 2 : Les différentes espèces de bacilles selon la coloration de Gram.

Le nombre des bacilles à Gram négatif est légèrement supérieur à celui des bacilles à Gram positif mais la différence n'est pas significative. $\chi^2 = 2,64$, ddl = 5 et $p = 0,75$, 1,09 % des bacilles soit (4 bacilles) n'ont pas pu être classés.



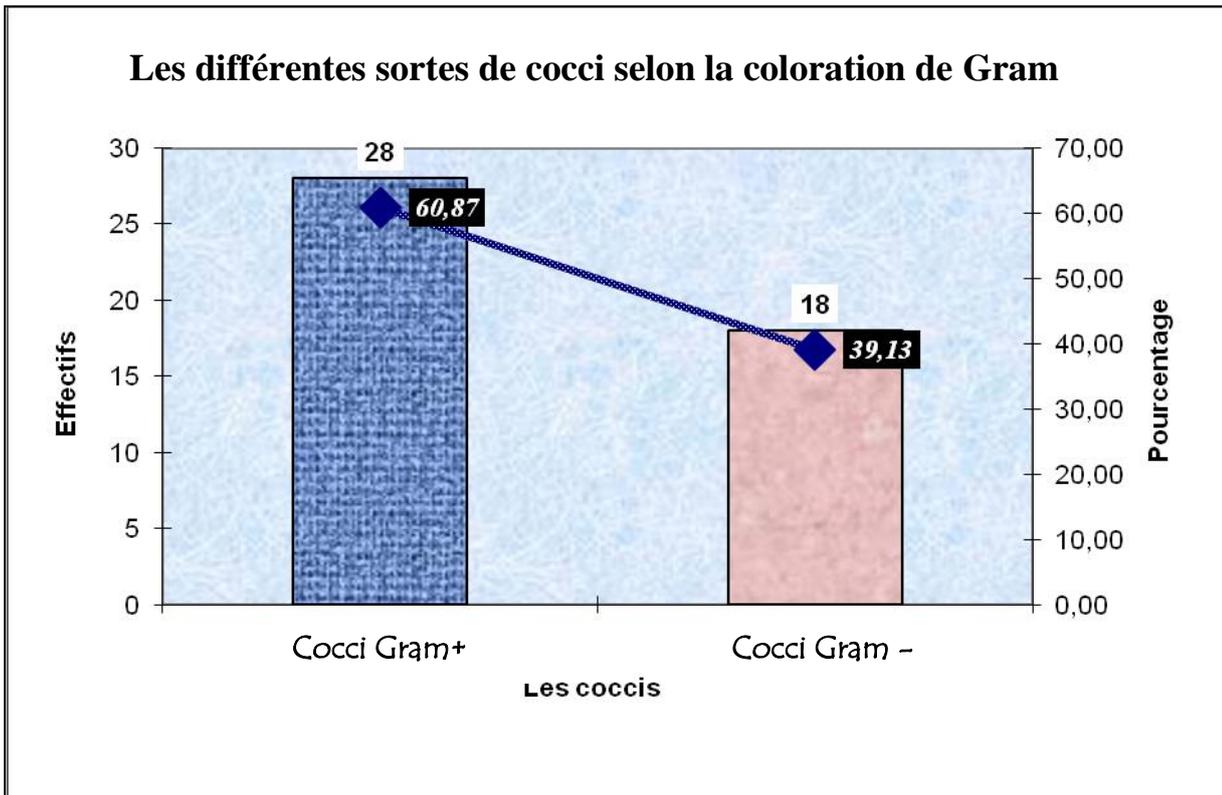


Figure 3: Les différentes sortes de cocci selon la coloration de Gram.

Les cocci à Gram positif sont supérieures aux cocci à Gram négatif avec respectivement **60,87%** et **39,13%** de l'ensemble des cocci. Mais selon la taille de notre échantillon, la différence n'est pas très significative $\chi^2 = 0,81$; ddl = 5 et p = 0,98.



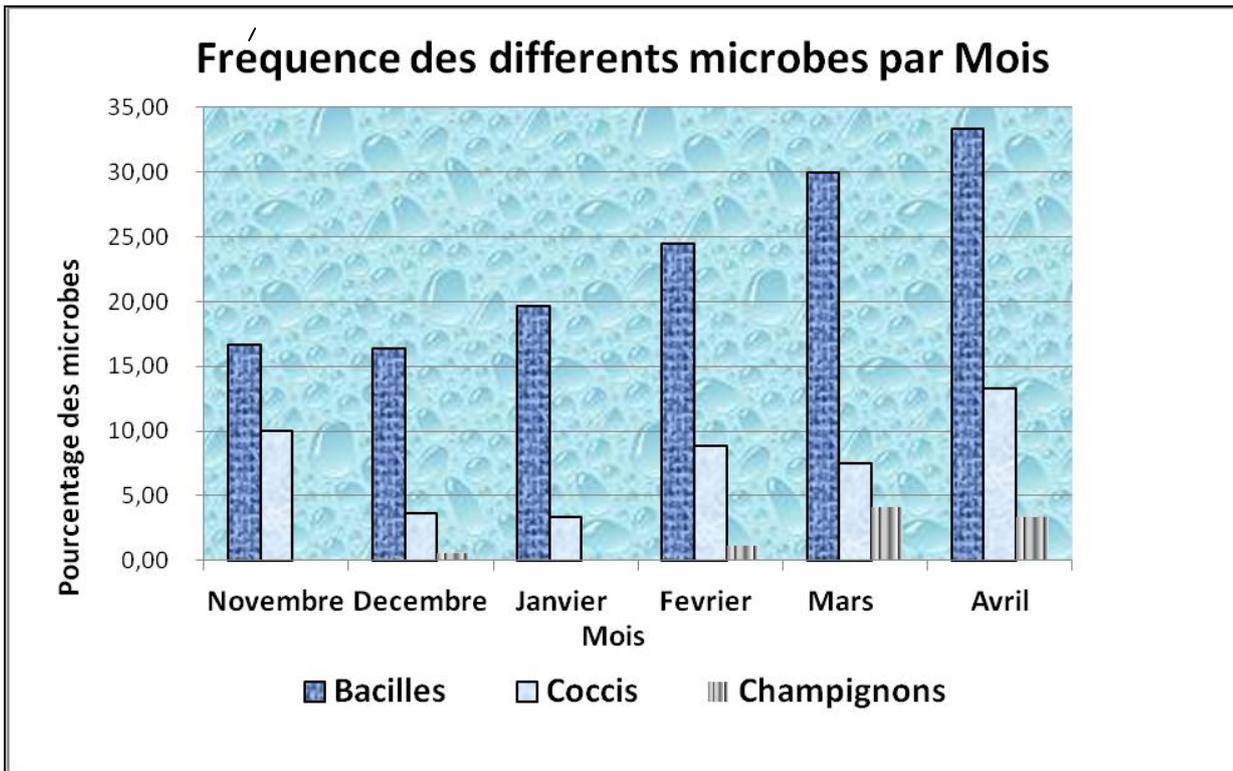


Figure 4 : Fréquence des différents microbes par mois.

Les bactéries de forme bacillaire étaient observées dans l'air d'une manière plus constante que les bactéries de forme Cocci. Quelques spores de champignon étaient présentes.

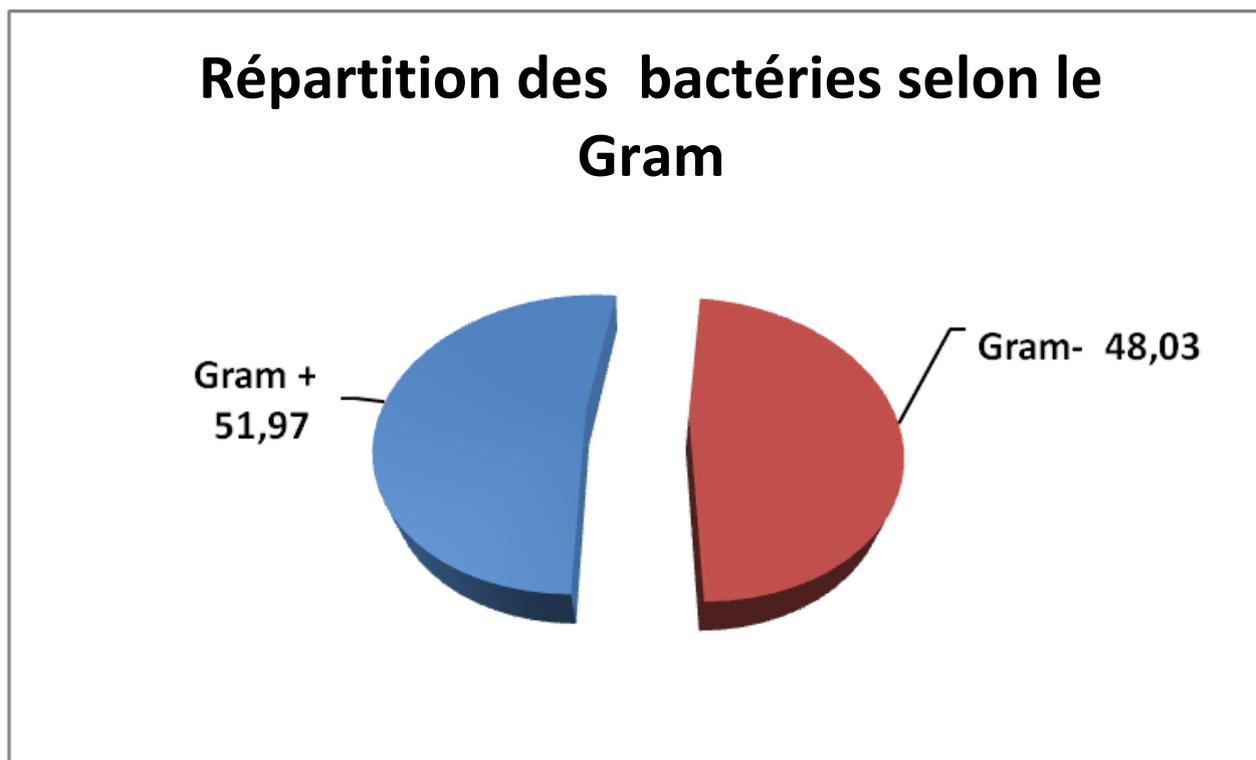


Figure 5 : Répartition des bactéries selon le Gram.

Nous avons observé une supériorité insignifiante des bactéries à Gram positif sur les bactéries à Gram négatif. $X^2 = 2,51$, ddl = 5 et p = 0,77.

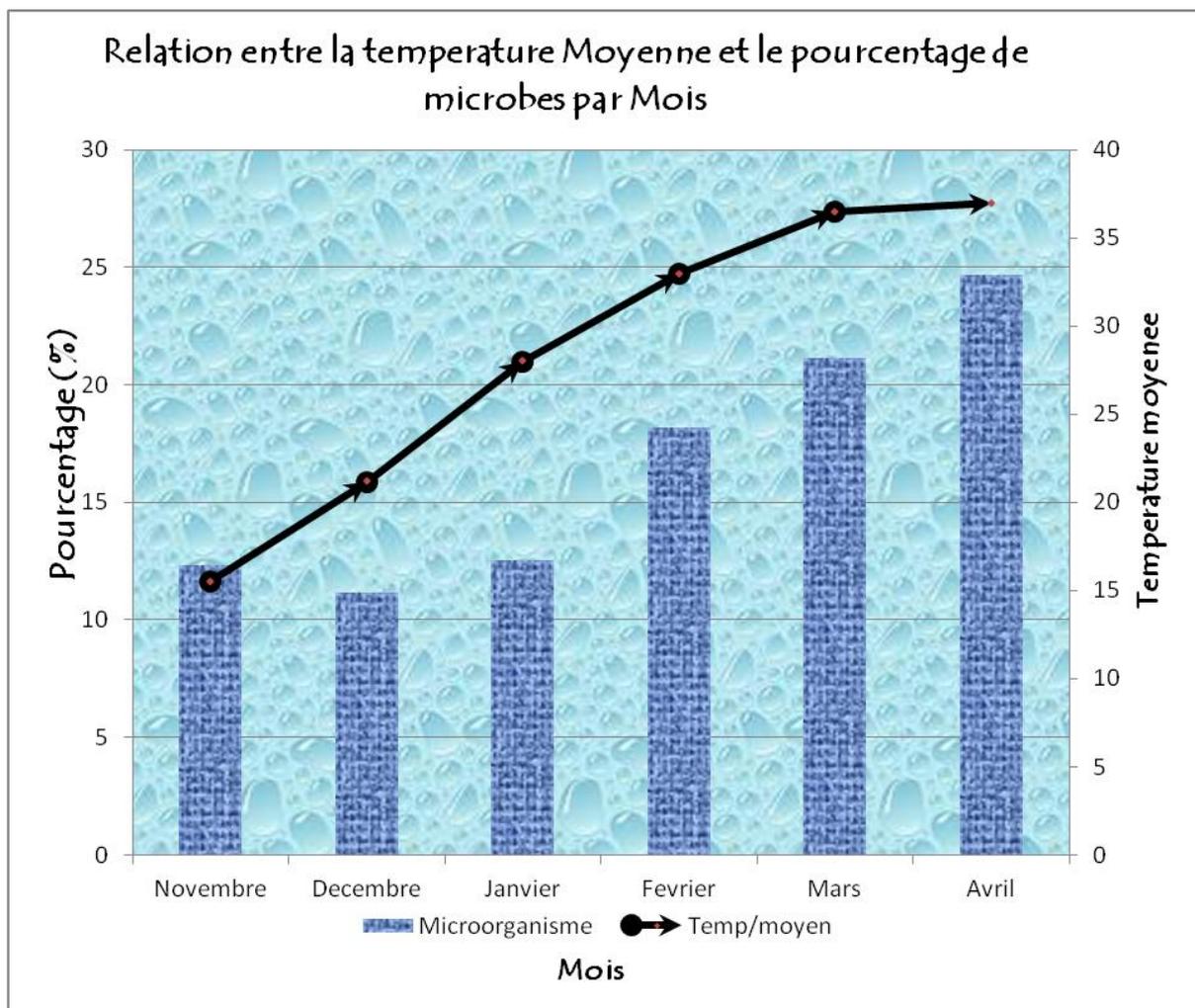


Figure 6 : Relation entre la température moyenne et le pourcentage des microbes par Mois.

La relation entre la température moyenne et la fréquence des microbes montre dans notre étude que la température joue un rôle sur la population microbienne récoltée.



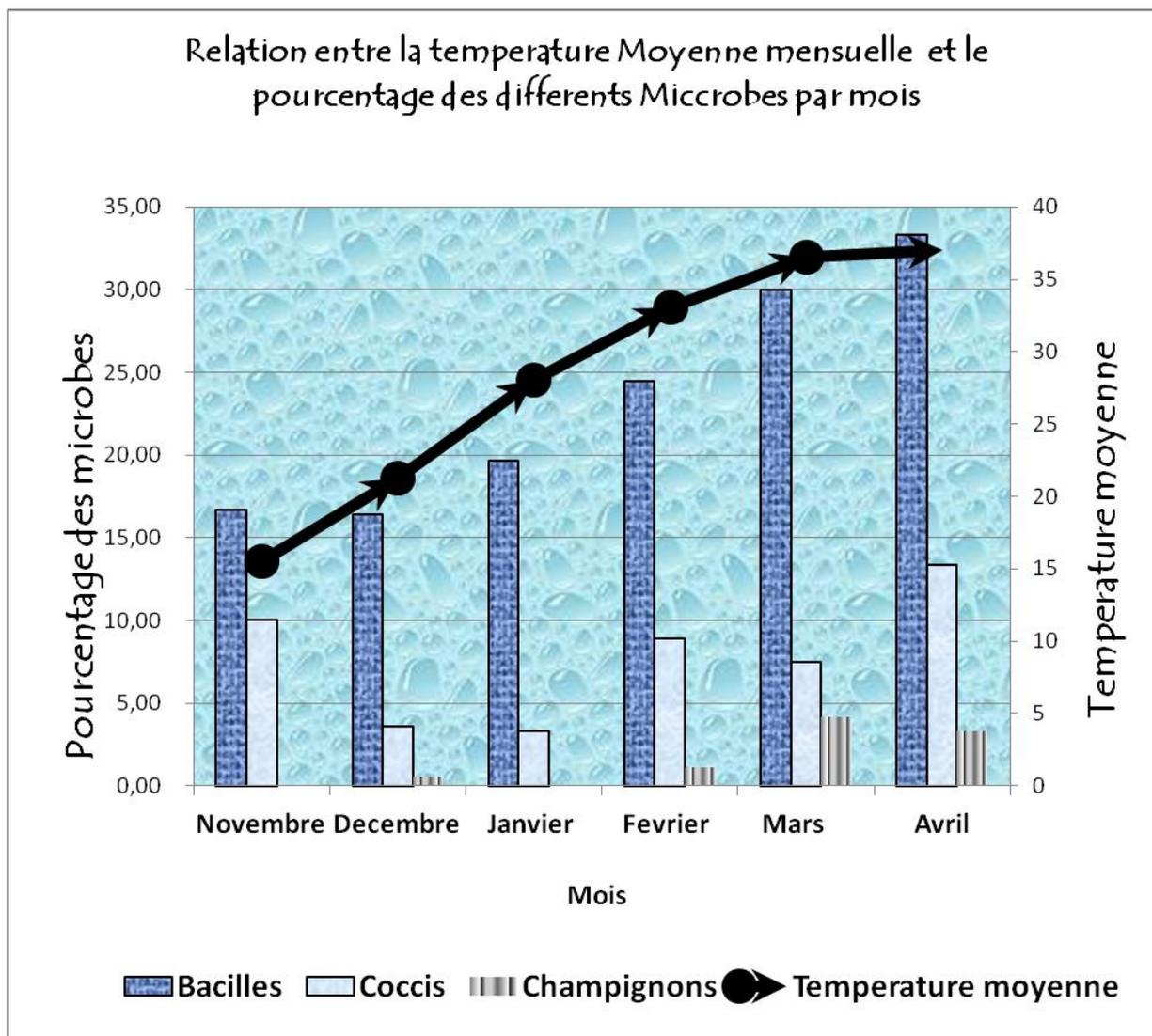


Figure 7 : Relation entre la température moyenne et le pourcentage des différents microbes par Mois.

Selon cette figure, on constate beaucoup plus l'influence de la température et des saisons sur la distribution des bacilles et des champignons que sur les cocci. Notre limite est que dans notre échantillon il y a plus de bacilles que de cocci.



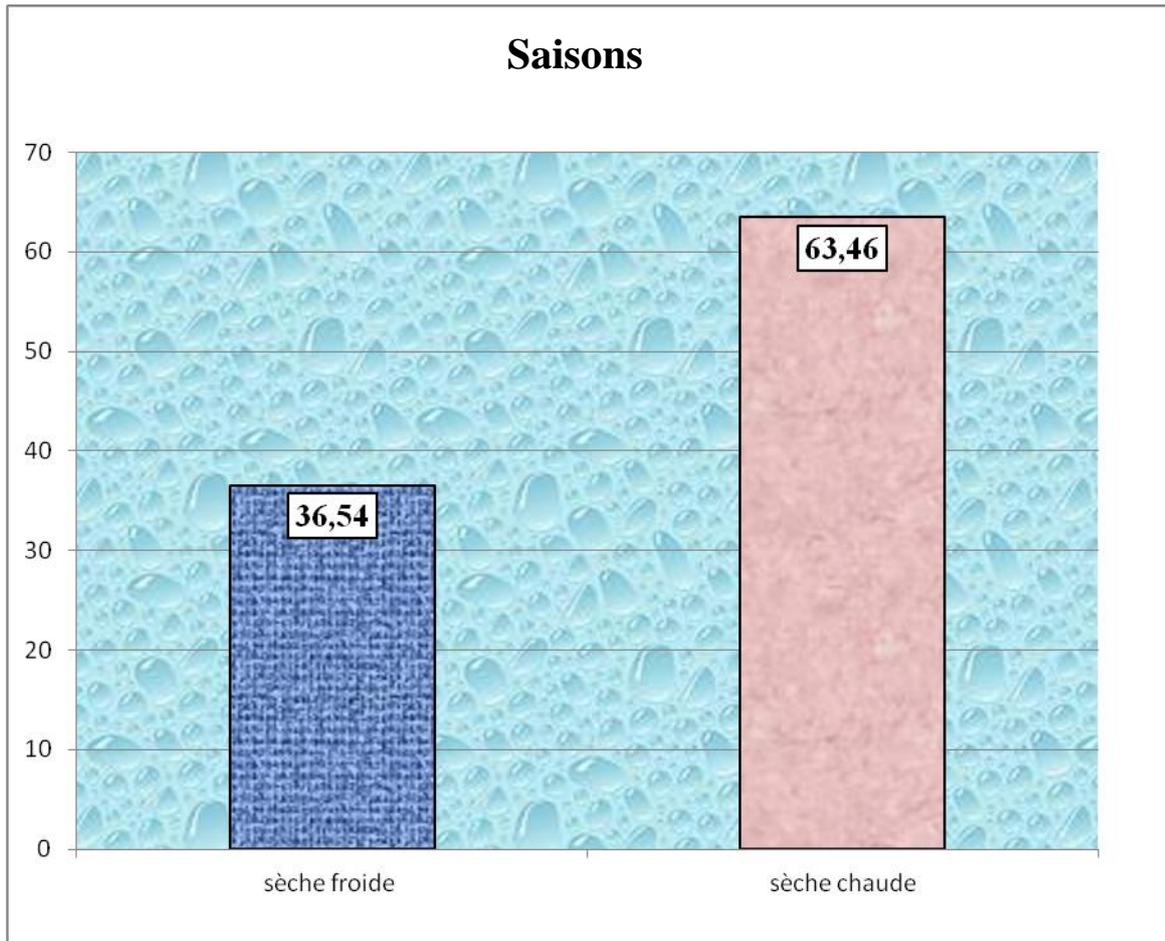


Figure 8 : Répartition des microbes suivant les saisons.

La saison sèche chaude est favorable à la présence des microbes par rapport à la saison sèche froide avec respectivement **63,46%** contre **36,54%** $X^2 = 8,13$, $ddl = 4$, $p = 0,087$.



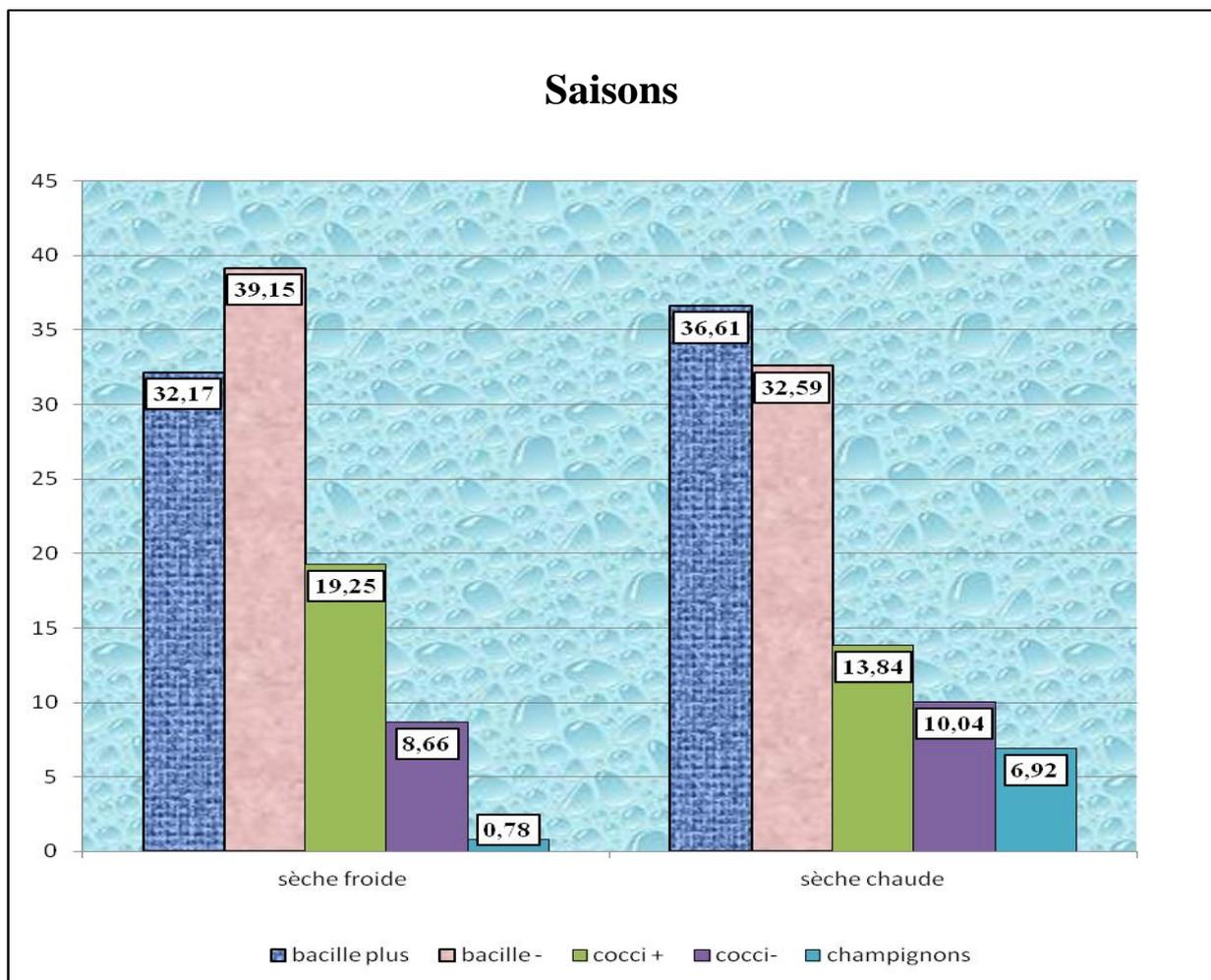
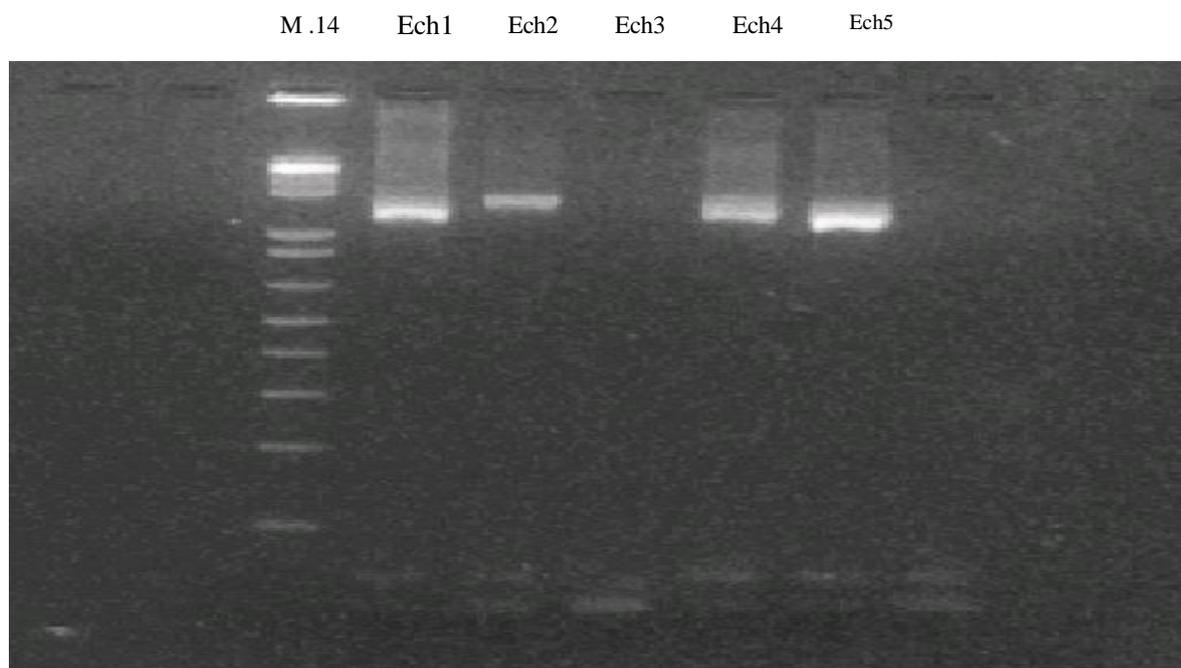


Figure 9 : Répartition des différentes sortes de Microbes par saison.

La distribution des microbes est différente selon les saisons. On remarque une proportion plus importante des bacilles Gram négatif et des cocci Gram positif pendant la saison sèche froide. On remarque aussi que la saison sèche chaude est très favorable au développement champignons.



Image 11 : Gel d'agarose avec des bandes issues de l'amplification des gènes



La PCR a été réalisée sur cinq échantillons avec une amorce spécifique aux bactéries (8FPL) dont les bandes ci-dessus prouvent la présence de la bactérie. Avec cette bande on pourra identifier l'espèce de la bactérie en question par séquençage.

Quatre des échantillons étaient des bactéries et l'échantillon 3 (Ech3) était du champignon c'est pour cela qu'il n'y a pas de bande à ce niveau.

B. Etude de la Cohorte au site d'expérimentation

L'enquête a permis d'identifier 504 personnes dans le secteur du point de collecte des particules polluantes et des microbes. Les différentes figures nous donnent une indication des caractéristiques de cette population. Ainsi, selon notre objectif qui était d'identifier les sujets ayant été exposés sur une longue période d'année afin d'évaluer les impacts biologiques des expositions aux polluants atmosphériques chimiques et biologiques de l'air a été atteint. En effet, nous avons retenue **109** sujets ayant vécu plus de **18** ans aux alentours du point de collecte des particules et microbes contenus dans l'air et qui ne sont pas exposés à d'autres sources de pollution, soit **21,63%** de notre cohorte. La majorité des sujets avait plus de 18 ans et les sujets de plus 40 ans représentaient **32,14%** de l'échantillon. Nous avons observé qu'une proportion de **45,62%** de notre échantillon était exposée à d'autres sources de pollution (figure 10) autre que celle du point de collecte (carrefour du grand marché de Bamako). Nous avons donc exclu ces sujets qui peuvent être un facteur de confusion au cours de l'analyse. Ainsi **37,39%** de cette population habitaient auprès des décharges d'ordure; **20,87%** des sujets étaient proches des usines et enfin **41,74%** de nos sujets étaient des fumeurs (figure 11).

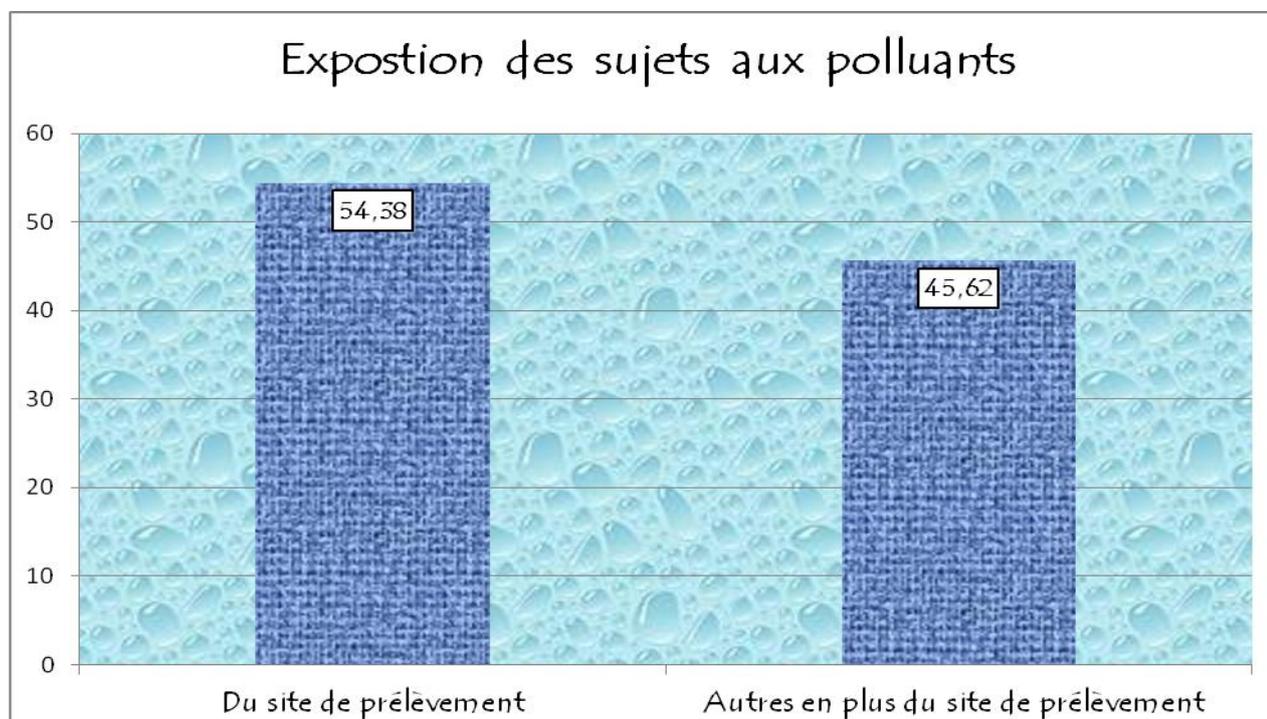


Figure 10 : Exposition des sujets aux polluants.

Parmi les 504 sujets identifiés au niveau du point de collecte, 230 sujets, soit 45.62% de la cohorte étaient exposés à autres sources de pollution en plus du point de collecte.



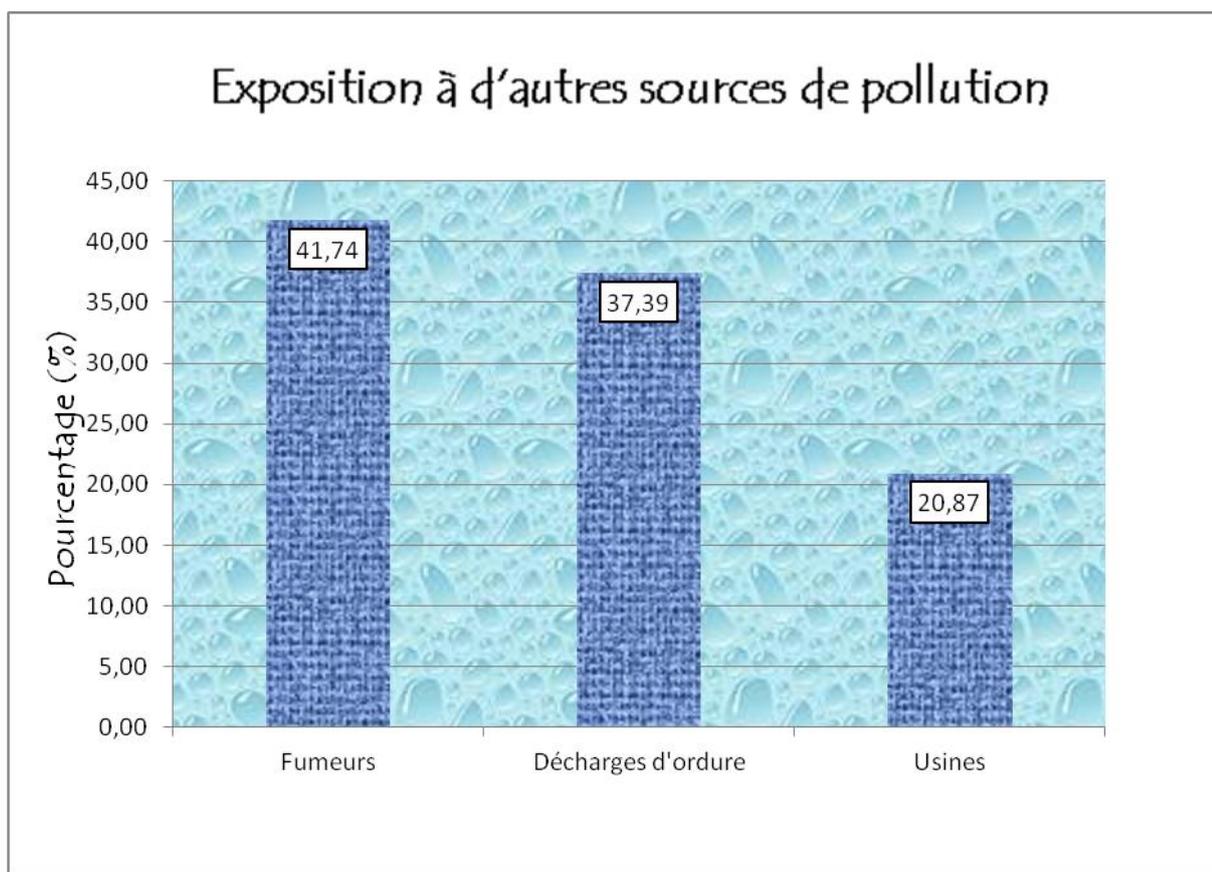


Figure 11 : exposition à d'autre source de pollution.

Parmi les 230 sujets exposés à d'autres sources de pollution, 41,74% (96/230) sont des fumeurs, 37,39% (86/230) habitent près d'une décharge d'ordure et enfin 20,87%, soient 48 sujets habitent près d'une usine.

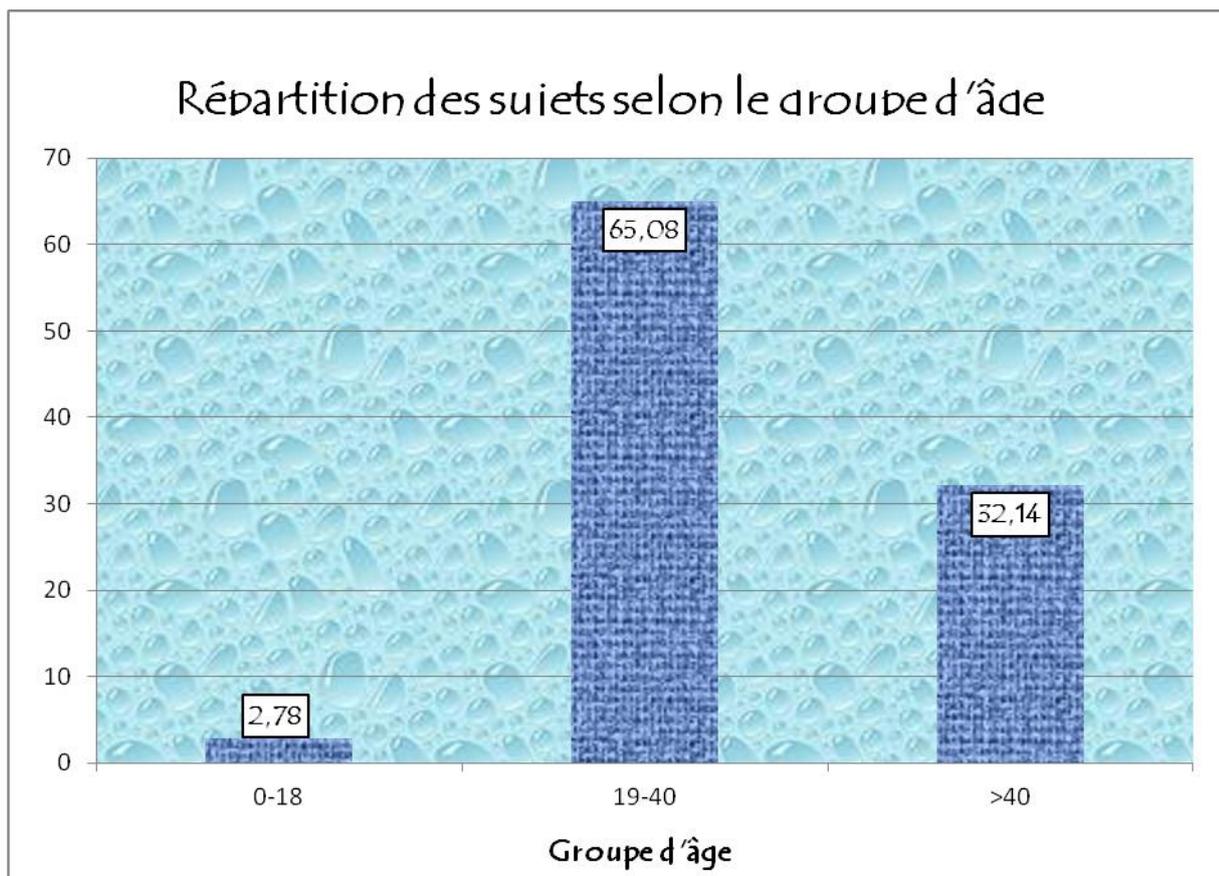


Figure 12 : répartition des sujets selon le groupe d'âge.

Sur les 504 sujets identifiés aux alentours du site de collecte des particules et les microbes, le groupe le plus représenté était celui de 19 à 40 ans soit 65,08% suivi de celui des sujets ayant plus de 40 ans avec 32,14%.



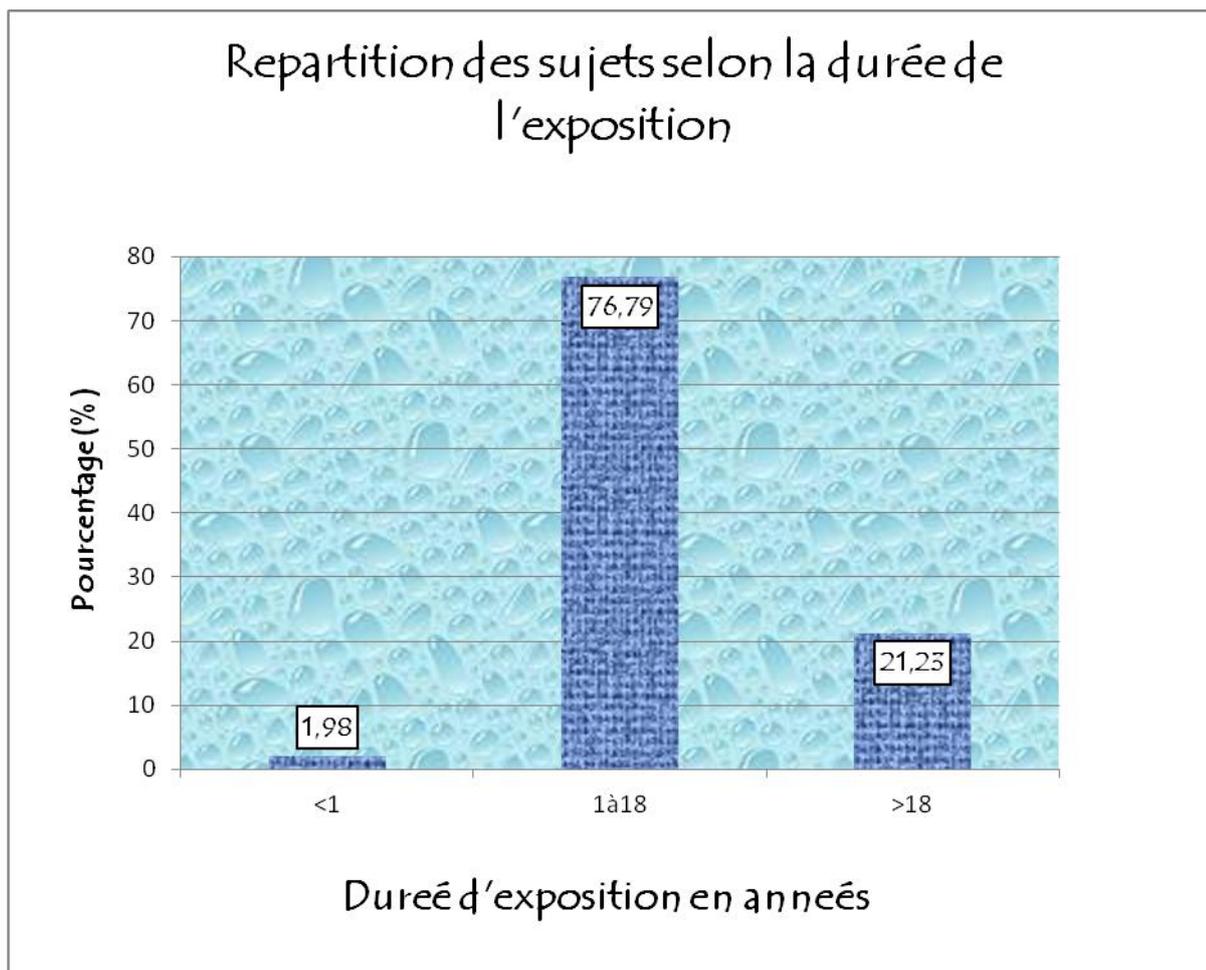


Figure 13 : Répartition des sujets selon la durée d'exposition.

Sur les 504 sujets identifiés autour du point de collecte, nous avons observé que les sujets ayant restés entre 1 à 18 ans qui étaient les plus nombreux (76,79%), suivis des sujets des plus de 18 avec 21,23%.

Commentaires et discussions

VI. COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS

Les micro-organismes sont omniprésents dans le milieu extérieur, par contre l'atmosphère n'est pas très favorable à leur développement donc logiquement on ne doit pas s'attendre à des infections par le biais de ces microbes dans l'air. Mais le constat est tout autre, dans le monde les maladies infectieuses respiratoires sont responsables de 3 millions de décès par année [25] et plus de 90% surviennent dans les pays en voie de développement soit **43 %** des décès contre **1 %** dans les pays industrialisés.

Ces infections sont contractées à partir de plusieurs voies notamment l'air qui est l'objet de notre étude. Parmi ces infections, nous pouvons citer quelques-unes : les infections respiratoires, les infections de la sphère ORL, les infections oculaires etc. Les sources de production de ces microbes ne sont pas toujours connues. C'est pourquoi notre étude avait comme objectif d'identifier les différents microbes ainsi que leur saisonnalité dans l'air au centre urbain de Bamako, ainsi que l'identification des sujets potentiellement exposés.

L'analyse des données récoltées après les prélèvements sur le terrain et les études effectuées dans le laboratoire nous a donné des résultats qui nécessitent d'être discutés et commentés.



A. Sur le plan méthodologique

1. Choix du site : l'Immeuble NIMAGA

C'est une position idéale pour faire la collecte de la faune microbienne aérienne. L'immeuble est situé en plein centre de Bamako au milieu du grand marché. Le grand marché est le carrefour de Bamako et accueille une population très diverse composée des ressortissants des différentes communes de Bamako et aussi ceux des régions du Mali. C'est un bâtiment de quatre étages situé au carrefour de la Rue Gourraud, l'avenue du fleuve. L'avenue du fleuve est empruntée en grande partie par les SOTRAMA et beaucoup de kiosques sont situés non seulement sur l'avenue du fleuve mais aussi, sur la Rue Gourraud venant de Bozola par la rue où se trouve l'église Cathédrale de Bamako.

Par sa densité populationnelle et en matériels de toutes sortes, le Grand marché est l'endroit propice à la formation et à la distribution d'aérosols de poussières et de microbes véhiculés dans l'air auquel tout le monde est exposé.

2. Type et période d'étude

Il s'agit d'une étude prospective longitudinale qui s'est déroulée de décembre 2008 à avril 2009. Cette période couvrant une partie de la saison sèche froide et une partie de la saison sèche chaude était la période propice pour une interprétation fiable de la distribution saisonnière des germes émis dans l'atmosphère. La saison des pluies n'est pas idéale car la poussière atmosphérique est faible après l'installation des pluies. Nous reconnaissons que cet échantillon ne pourra pas représenter l'état de la faune microbienne à Bamako, mais permet de capter l'attention sur les différents microbes qui peuvent être sources de pathogènes dans l'air dans un lieu précis du centre-ville de Bamako.

3. Choix de la cohorte sur le point de prélèvement

Sachant que tout le monde est exposé à des infections aériennes, nous avons procédé de façon aléatoire à l'identification de 504 sujets pour estimer la période d'expositions à l'atmosphère du carrefour où a lieu l'étude.



4. Modalité et matériel de prélèvement

Nous avons utilisé une technique basée sur la prise d'air à l'aide d'une pompe munie d'un filtre et qui après le prélèvement est ensuite déposé sur un milieu nutritif gélosé. Cette technique a été conçue pour assurer la stérilité de tous les matériels nécessaires à la prise d'air et à la culture bactérienne. [14]. Un filtre stérile a été utilisé comme contrôle pour prouver l'étanchéité de nos matériels.

Les prélèvements sont effectués avec notre pompe de débit 3,22 m³/h et notre filtre de taille des mailles 0,22 µm. Ce filtre permet de prélever les particules de taille supérieure ou égale à 0,22 µm. Nous pensons que ce filtre était approprié pour une telle étude.

La durée d'une heure et la vitesse de 3,22 m³/h du prélèvement sont ainsi fixées pour permettre d'obtenir des particules viables, qui peuvent être altérées à de forte vitesse et avec un temps d'exposition plus long. [14].

5. Culture et identification des micro-organismes

Les particules prélevées sont cultivées sur le milieu solide agar BHI non sélectif, ce qui permet la croissance de plusieurs types de microbes, [26] et puis sur le milieu liquide L.B qui est un peu plus spécifique à la culture bactérienne [27].

Pour la caractérisation des microbes récoltés, la coloration de Gram a été utilisée pour connaître la forme et le Gram des microbes.

Une extraction d'ADN a été effectuée sur l'ensemble des microbes afin d'une identification ultérieure de l'espèce de microbe en question par séquençage.



B. Etude microbienne de l'air au site de l'expérience

Après trente prélèvements de 3,22m³/h d'air durant les six mois de la période d'étude et la coloration de 240 lames, nous avons mis en évidence la présence de plusieurs microbes dans l'air. Les bactéries constituaient **96,25%** des germes récoltés au site de prélèvement. Ce qui n'est pas surprenant car notre protocole de culture et d'identification ciblaient les bactéries. Ces bactéries sont classées selon le Gram (Gram positif et Gram négatif) et la forme (bacille et cocci).

Nous avons retrouvé que les bactéries de forme bacillaire étaient les plus fréquentes dans l'air à Bamako entre Novembre 2008 et Avril 2009 soit **77,08%** suivies de celles de la forme cocci **19,17%**, résultat comparable avec l'étude de Velez-Quinones Maria A [36], et quelques spores de champignons **3,75 %**.

Les Bactéries dans notre étude

Les bactéries Gram positif représentaient **51,97%** et les bactéries à Gram négatif **48,03%** de la population bactérienne (figure 5). Il n'y a pas de différence significative entre ces deux groupes de bactérie $p = 0,77$ et $X^2 = 2,51$. Nos résultats montrent que ces types de bactéries partagent le même écosystème. Une étude de Mouli & coll. montre que les bactéries à Gram positif sont plus prévalentes dans les environnements poussiéreux et secs [31] alors que Chihara, S & coll rapportent que les bactéries à Gram négatif peuvent se retrouver en abondance dans les centres urbains [34]. Ceci indique que notre site de collecte présente les 2 situations, celui d'être un point à forte densité populationnelle où une quantité d'aérosol est produite (favorable au Gram négatif, et un environnement poussiéreux pouvant être sec aux mois de Mars, Avril favorable à la population des bactéries à Gram positif. Ainsi ce milieu constitue un biotope pour ces 2 types de bactéries. Il faudra indiquer que notre site est exposé aux gaz d'échappement des motocycles et véhicules, l'impact des polluants atmosphériques (NO, CO, les hydrocarbures), sur l'écologie microbienne n'est pas connu, mais ils peuvent avoir un effet protecteur sur les micro-organismes, selon les espèces microbiennes [35].

Selon les formes, nos résultats montrent que les bactéries en bâtonnet étaient 3 fois plus abondantes que les bactéries en cocci soit respectivement **77,08%** contre **19,17%**. Ce résultat est comparable à l'étude de Velez-Quinones Maria A. [36] effectué à Bamako qui trouve à peu près **73%** de bacille et **17%** de Cocci. Cela peut s'expliquer par la grande abondance et la grande diversité des bactéries en bacille dans l'environnement extérieur.



Influence des facteurs environnementaux sur la distribution des microbes.

La distribution des microbes dans les 6 mois de la période d'étude évoque l'influence des saisons sur la prolifération des bactéries dans l'environnement extérieur. Effectivement selon Jones & Harrison [38], les facteurs environnementaux jouent un rôle important dans la présence des microbes dans l'air extérieur.

Nos résultats indiquent qu'il y'a une relation entre la température et les types de bactéries. Ainsi une augmentation de la température était associée à la présence des bacilles surtout les bacilles à Gram positif et les champignons. L'air sec étant compatible avec la structure membranaire des bactéries à Gram positif et des spores de moisissures. Cependant d'autres facteurs tels que l'humidité, la direction du vent etc., pourraient contribuer avec la température aux résultats obtenus.

La Saisonnalité des bactéries et maladies associés :

La période sèche chaude selon nos résultats est plus favorable à la présence des microbes que la période sèche froide avec respectivement **63,46%** contre **36,54%** $P = 0,089$, $X^2=8.13$, $ddl = 4$ (figure8).

Cependant les microbes qui sont plus susceptibles d'être responsables des infections pulmonaires et des infections de la sphère ORL (bacilles à Gram négatif **39,15%** contre **19,25%** et les cocci à Gram positif **19,25%** contre **13,84%**) sont plus dominants dans la saison sèche froide et se trouveraient ainsi associées aux infections pulmonaires, et aux infections ORL fréquentes par rapport à la saison sèche chaude.

Tandis que les bactéries à Gram positif **36,61%** contre **32,17%** et les champignons **6,92%** contre **0,78%** étaient plus dominants dans la période sèche chaude et peuvent être associées aux infections cutanées qui dominant cette saison chaude. (Figure9)

Les Champignons dans notre étude:

Dans notre étude, ils représentent **3,75%** des microbes prélevés ce qui ne correspond pas à leur taux normal dans l'air qui est à peu près égal ou même plus que les bactéries selon les endroits. Selon Miller et al. [28] il existe au moins plus de 100.000 espèces connues de champignons sur la planète. Les champignons microscopiques comprennent les moisissures et les levures. Du fait de leurs fortes présences dans l'environnement extérieur, quelques-uns ont pu proliférer sur notre milieu de culture LB malgré qu'il ne fût pas très favorable à leur développement [27].



Nous avons confirmé la présence des bactéries dans l'air par la technique de PCR avec l'amorce (8FPL) ce qui indique la capacité du labo d'aller vers l'identification Moléculaire. (Image 11).

C. Caractéristique de la population enrôlée

Notre échantillon de 504 sujets était composé essentiellement de commerçants travaillant aux alentours de notre point de collecte et cela pour pouvoir atteindre nos objectifs.

Dans cette population les sujets de moins de 18 ans étaient les moins représentés avec **2,78%**, le groupe compris entre 19-40 ans est le plus représenté avec **65,8%** et les sujets de plus de 40 ans représentent **32,14%** de la cohorte.

Parmi les 504 sujets identifiés aux alentours du point de collecte **19,84 %** des sujets fumaient, **9,52%** habitaient près d'une usine et **17,06%** habitaient au près d'une décharge d'ordure. Soit environ la moitié de notre cohorte **46,4%** était exposée à d'autres sources de pollution autre que le point de collecte ce qui pourrait biaiser nos résultats et compromettre nos objectifs. Il ressort de cette étude que **54,6%** de nos sujets seraient des sujets potentiellement intéressants pour une étude plus poussée sur l'impact de la poussière et des polluants chimiques dans la survenue des infections pulmonaires et cardiovasculaires au carrefour au niveau de l'immeuble Nimagala ou la prise d'air a été effectuée.



***Conclusion
et
Recommandations***

VII. CONCLUSION

- Nous avons identifié 504 personnes dont plus d'une centaine serait exposée pendant plus de 18 ans aux particules chimiques générées par la combustion d'hydrocarbures venant des véhicules motorisés et aux bactéries de forme bacillaire et cocci vivantes dans l'air.
- La forte fréquence des bactéries était observée entre Mars 2009 et Avril 2009 et la faible fréquence en Novembre 2008 et Janvier 2009. Nous avons observé également un taux de bactéries à Gram négatif suivant **48.03%** beaucoup plus supérieur au taux habituel qui est généralement inférieur à **30%** vue leur vulnérabilité dans l'environnement extérieur. Nous pensons que la fréquence de ces bactéries dans l'air a été influencée: 1] par les saisons, 2] par l'environnement du point de collecte et 3] par l'effet protecteur des polluants chimiques sur les bactéries aéroportées surtout les bactéries à Gram négatif. Certes, généralement les bactéries aéroportées sont inoffensives pour des personnes en bonne santé, mais elles peuvent avoir des effets indésirables chez des groupes de personnes faibles : les immunodéprimés et les personnes âgées.
- Nous pensons que ces bactéries par l'action conjuguée avec des polluants chimiques, seraient responsables de l'augmentation et de l'aggravation de l'incidence des infections pulmonaires, et des pathologies de la sphère ORL dans nos villes.
- L'étude des gaz et des particules chimiques sur notre site de prélèvement, et une autre étude dans un autre site non urbain est nécessaire pour confirmer nos résultats.



VIII. RECOMMANDATIONS

Au terme de notre étude nous avons pu formuler quelques recommandations à l'attention du gouvernement et de la population.

– **Au ministère de la Santé et de l'Hygiène Publique :**

Initier des études de recherche des microbes dans l'air des hôpitaux et plus spécifiquement dans les salles de repos, les salles de soin et les salles d'opération. C'est dans l'hôpital qu'on trouve généralement les personnes les plus vulnérables.

Encourager et ou aider les jeunes chercheurs à aller dans ce domaine beaucoup moins exploité en Afrique.

Etudier plus spécifiquement la recherche des microbes pathogènes dans l'air de l'environnement urbain.

– **Au Ministère de l'Environnement, de l'Assainissement et du Développement Durable**

Prévenir la désertification autour des grandes villes afin d'atténuer les vents de poussières porteurs de micro-organisme

Encourager les études de recherches dans le domaine des microbes aéroportés aussi bien dans l'environnement extérieur que dans les locaux confinés tels que les chambres, les bureaux etc. pour établir des normes.

Etudier l'effet protecteur des polluants chimiques sur les microbes spécifiquement sur les bactéries à Gram négatif.

– **Au Ministère de l'Aménagement du Territoire et de la Population**

Accélérer l'initiation des projets pour le dallage complet des bordures des routes principales et des routes à fort trafic.

Initier le dallage complet des lieux très fréquentés par la personne humaine comme le grand marché.

Former des ingénieurs sanitaires et les impliquer non seulement dans la conception des édifices sanitaires, mais aussi des logements et autres constructions pour l'homme.

– **Au Ministère de l'Équipement, des Transports et du Désenclavement**

Envisager la mise en circulation de bus à faible prix pour encourager le transport collectif, et établir des normes pour les gaz d'échappement des véhicules.

– **Aux populations**



Respecter les recommandations d'hygiène telles que le lavage des mains, l'aération des chambres etc., utiliser les masques adaptés pendant les courses en moto dans la ville surtout pendant les saisons sèches froides où les agents pathogènes responsables dans les infections respiratoires sont majoritaires dans l'air.

References

IX. REFERENCES.

1. **Zeka A, Sullivan JR, Vokonas PS, Sparrow D, Schwartz J.** Inflammatory markers and particulate air pollution: characterizing the pathway to disease. *Inter. J. of Epidemiology* (2006). consulté le 25/03/2015. Disponible sur : www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16844771.
2. **Peters a, Frohlich M, Doring a, Immervoll T, Wichmann HE, Hutchinson WL, Pepys MB, Koenig W.** Particulate air pollution is associated with an acute phase response in men: results from the MONICA-Augsburg study. (2002). [Consulté le 25 mars 2015] Disponible sur : <http://eurheartj.oxfordjournals.org/content/ehj/22/14/1198.full.pdf>
3. **Ruckerl R, Ibald-Mull A, Koenig W, Scheider A, Woelke G, Cyrus J, Heinrich J, Marder V, Frampton M, Wichman E, Peters A.** Air pollution and markers of inflammation and coagulation in patients with coronary heart disease. *Am. J. Respir. Crit Care Med*, (2006) 173:432-441.
4. **Ligne directive de l’OMS relative à la qualité de l’air : particules, ozone, dioxyde d’azote et dioxyde de soufre.** Synthèse d’évaluation des risques 2015. [consulté 23/04/2015] disponible sur : http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/69476/1/WHO_SDE_PHE_OEH_06.02_fre.pdf
5. **Flannigan, B.E., Mc Cabe, E.M. and Mc Garry, F.** Allergenic and toxigenic microorganisms in houses. – *Journal of Applied Bacteriology*. ((1991) 79: 61S-73S.
6. **Poulsen, O.M., Breum, N.O., Ebbehoj, N. et al:** Collection of domestic waste. Review of occupational health problems and their possible causes. – *Science of the Total Environment* (1995) 170: p 1-19.
7. **Madrioli, P., Comtois, P. and Levizzani, V. (eds):** *Methods in aerobiology*. Pitagora Editrice, Bologna, Italy, (1998) pp 262.
8. **Rylander, R. and Jacobs, R.R:** Endotoxins in the environment: A criteria document. *International Journal of Occupational Environmental Health* (1997) 3: S1-S48.
9. **Greenwood B.** Meningococcal meningitis in Africa. *Trans. Roy. of Trop. Med. Hyg.* (1999) 93: 341-353.
10. **République du Mali Ministère l’environnement, Direction nationale de la conservation:** Rapport annuel d’activité 2007.
11. **Wikipedia.** [en ligne]. Situation démographique de Bamako consulté le 27/11/2016.[environ 2 pages] disponible sur : <https://www.wikipedia.org/wiki/Bamako>.
12. **Notre-planete.info.**[en ligne]. Pollution atmosphérique consulté le 25/10/2016.[environ 1 page]. disponible sur : https://www.notre-planete.info/environnement/pollution_air/pollution-atmospherique.php.



13. **Les poussières fines en suisse** : Questions et réponses concernant les propriétés d'émission, les immissions, les effets sur la santé et les mesures mars 2015. Fichier PDF Page 3. consulté le 27/11/2016 disponible sur : <http://www.bafu.admin.ch/luft/10804/index.html?lang=fr>
14. **Jacques Lavoie, Yves Cloutier, Jaime Lara, Geneviève Marchand**: Guide sur la protection respiratoire contre les bioaérosols, Rapport 2007, 8-40. Consulté le 07/11/2016 disponible sur : <http://bibvir1.uqac.ca/archivage/030012723.pdf>.
15. **M. Yves Poggi, Mme. Carole Savelli, M. William Puccio** : Demande d'autorisation au titre des ICPE pour l'exploitation sur le territoire de la commune de Lucciana d'un site de production d'électricité fonctionnant au fioul domestique puis au gaz naturel en mode dual fuel Dossier n° E12000113/20 [Rapport]. Consulté le 09/11/2016 disponible sur : www.haute-corse.gouv.fr/IMG/pdf/Rapport_chapitre_5_D.pdf.
16. **D'où viennent les particules ?** [archive], sur le site du Ministère de l'Écologie, consulté le 4 mars 2014.
17. **Information Pollution** [archive]. Consulté le 4 septembre 2014, disponible sur : <http://www.airaq.asso.fr>.
18. **Nicole Goyer, Jacques Lavoie, Louis Lazure, Geneviève Marchand** : Les bioaérosols en milieu de travail : guide d'évaluation, de contrôle et de prévention, rapport d'activité septembre 2001. 1-72. Consulté le disponible sur : <https://www.irsst.qc.ca/media/documents/PubIRSST/T-23.pdf>.
19. **American Conference of Governmental Industrial Hygienists, Cincinnati**: Bioaerosols: Assessment and Control, **1999** 322.
20. **Tony Hart – Paul Shears** : Atlas de microbiologie de poche, (1997), 71-74,317p.
21. **Tony Hart – Paul Shears** : Atlas de microbiologie de poche, (1997), 75-77,317p.
22. **Yassi, A., Bryce, E.**: Protecting the faces of health care workers: Knowledge gaps and research priorities for effective protection against occupationally-acquired respiratory infectious diseases. The Change Foundation, Ontario Hospital Association and Occupational Health and safety Agency for healthcare in BC, **(2004)** p 103.
23. **Lenhart, S.W., Seitz, T., Trout, D., Bollinger, N. (2004b)**: Issues affecting respirator selection for workers exposed to infectious aerosols: emphasis on health-care settings. Applied Biosafety, 2-36p.
24. **Carte de Bamako sur WWW. zouba.org/Mali/BAMAKO.php** : consulté le 24 octobre 2014.
25. **Professeur Henri Dabernat Université Paul Sabatier, Faculté De Médecine Purpan Laboratoire D'anthropobiologie Cnrs Fre 2960 Toulouse** : Origine et évolution des maladies infectieuses. Octobre 2007.



26. **BBL Brain Heart Infusion BBL Brain Heart Infusion with 6.5%** sodium chloride L007400 • Rev. 10 • Avril 2009. **BD®**: Les Caractéristiques du BHI Agar.
27. **Bertani, G. 2004** Lysogeny at mid-twentieth century: P1, P2, and other experimental systems. *J. Bacteriology*. 186:595-600.
28. **Miller J.D., Haisley P.D., Reinhardt J.H:** Air Sampling Results in Relation to Extent of Fungal Colonization of Building Materials in Some Water-Damaged Buildings', *Indoor Air*, 10: 146-151, 2000.
29. **Hurst, C.J. (1991):** Modeling the environmental fate of microorganisms ASM, Washington, D.C.
30. **Mahdy, H.M. And El-Sehrawi, M.H.:** Airborne bacteria in the atmosphere of El-Taif region, Saudi Arabia. – *Water Air and Soil Pollution* (1996) 98: 317-324.
31. **P.Chandra Mouli – S.Venkata Mohan, – S.Jayarama Reddy:** Assessment of microbial (bacteria) concentrations of ambient air at semi-arid urban region: influence of meteorological factors. (2005).139-149.
32. **Kodama, A.M. And Mc Gee, R.I.:** Airborne microbial contaminants in indoor environments – Naturally ventilated and air conditioned homes. – *Archives of Environment and Health* (1986) 41: 306-311.
33. **Xie, S.M. Et Al.:** The composition of atmosphere microorganisms. – *Journal of environmental Science* (1988) 8: 39-47 (in Chinese).
34. **Chihara, S. And Someya, T.:** Dynamic aspects of airborne bacterial flora over an experimental area in suburb and distribution of resistant strains to antibacterial agents among airborne staphylococci. – *Nippon-Eiseigaku-Zasshi* (1989) 44: 756-762. consulté 25/02/2015 [Résumé] disponible sur le site www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2810877.
35. **Lee, R., Harris, K. And Akland, G.:** Relationship between viable bacteria and air pollutants in an urban atmosphere. (1987). *American Industrial Hygiene Association Journal* 56. p 165-170.
36. **Velez-Quinones, Maria A:** Study of airborne bacterial population in urban areas using phenotypic and phylogenetic characterization. 2013 p.114. consulté 25/02/2015 [Résumé] disponible sur le site <http://gradworks.umi.com/35/93/3593003.htm>.
37. **Mappery.com.** [en ligne] : Carte-géographique-Bamako. Consulté le 22/11/2016 disponible sur http://www.mapnall.com/fr/map/Carre-géographique-Bamako_13744.html
38. **Jones, A.M. and Harrison, R.M.:** The effects of meteorological factors on atmospheric bioaerosol concentrations – a review – *Science of the Total Environment*. (2003). p 151-180. Abstract **Sur le site** : www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15142773 consulté 15/12/2016



X. ANNEXES

A. Fiche d'enquêtes de cohorte sur le site de prélèvement.

Caractéristiques sociaux démographiques

Nom :

Bamako le,.....

Prénom :

Adresse :

Contact :

Age :

Nombre d'année aux alentours du point de collecte

Vous êtes sur cet endroit depuis ?

- Inférieur à 1 Année

- Entre 1 et 18 ans

- Supérieur à 18 ans

Exposition à d'autres sources de pollutions

- Habitez-vous près d'une décharge d'ordure ?

- Habitez-vous près d'une usine ?

- Fumez-vous ?

- Rien de ces trois questions ci-dessus ?

NB : Cocher juste dans le rectangle en face de la question correspondante.



B. Fiche de prélèvement

Date	Heure de début de prélèvement et les conditions atmosphériques Température, humidité, directions et vitesse du vent	Heure de fin de prélèvement et les conditions atmosphériques Température, humidité, direction et vitesse du vent
.	Heure : Température : Humidité : Direction et vitesse du vent :	Heure : Température : Humidité : Direction et vitesse du vent :
	Heure : Température : Humidité : Direction et vitesse du vent :	Heure : Température : Humidité : Direction et vitesse du vent :
	Heure : Température : Humidité : Direction et vitesse du vent :	Heure : Température : Humidité : Direction et vitesse du vent :
	Heure : Température : Humidité : Direction et vitesse du vent :	Heure : Température : Humidité : Direction et vitesse du vent :
	Heure : Température : Humidité : Direction et vitesse du vent :	Heure : Température : Humidité : Direction et vitesse du vent :



C. Fiche signalétique

No m: N'Diaye

Prénom: Cheick Oumar

Adresse : Faladie Sema, **Rue :** 846, **P :** 615 ; **Tel :** (00223) 66794377/71846991 ; **Email :** cheickagna@gmail.com.

Titre de la Thèse : Evaluation de la pollution microbienne dans le centre ville de Bamako

Nationalité : Malienne

Année universitaire : 2015-2016

Ville de soutenance : Bamako-Mali

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie.

Secteur d'intérêt : Santé Publique – Pollution Atmosphérique – ORL – Ophtalmologie – Pneumologies – Infectiologies.

Résumé

La pollution de l'air extérieur aussi bien que la pollution de l'air intérieur sont désormais un problème réel de santé publique. Au mois de septembre 2016 l'OMS vient de lancer la sonnette d'alarme car selon une de ses publications 92% de la population mondiale vit dans des lieux où les niveaux de qualité de l'air extérieur en matière particulaire ne respectent pas les limites fixées, donc sont exposés à un air pollué.

Les premiers impacts de l'exposition de ces polluants étant respiratoires, surtout l'effondrement de son système de défense, est à craindre dans nos villes où les infections microbiennes continuent à faire ravages.

Face à cette pollution particulaire croissante, nous avons voulu évaluer la présence et la saisonnalité microbienne dans le centre-ville de Bamako et aussi identifier ceux qui sont potentiellement exposés à ces polluants.

L'évaluation nous a permis de mettre en évidence après 30 prélèvements et la coloration de 240 lames plusieurs sortes de microbes durant notre période d'étude. Les bactéries qui faisaient l'objet de notre étude représentaient **96,25%** de ces microbes et les champignons **3,75%** malgré l'utilisation de milieu de culture défavorable à leur développement.

Parmi les microbes les bactéries de formes Bacillaires représentaient **77,08%** contre **19,12%** pour les formes cocci. Les bactéries à Gram positif représentaient **51.2%** de la population bactérienne et les bactéries à Gram négatif **48.03%**. La différence n'étant pas



significative, cela veut dire que notre site de collecte présente les 2 situations productrices de microbes, c'est-à-dire un site à forte densité humaine (favorable au Gram négatif) et un environnement sec et poussiéreux (favorable au Gram positif). Il faudra indiquer que notre site est exposé aux gaz d'échappement des motocycles et véhicules, produisant des polluants atmosphériques (NO, CO, les hydrocarbures) dont l'impact sur l'écologie microbienne n'est pas connu, mais ils peuvent avoir un effet protecteur sur les micro-organismes, selon les espèces microbiennes surtout sur les bactéries à Gram négatif qui normalement avoisinent un taux de 30% dans l'air extérieur.

La température a joué un rôle favorable sur la présence des microbes durant notre étude, alors dans la saison sèche chaude nous avons eu **63,46%** contre **36,54%** dans la saison sèche froide **P = 0,089**, **X² = 8.13**. Cependant dans la saison sèche froide nous avons eu une dominance des bacilles Gram négatif et les cocci Gram positif par rapport à la saison sèche chaude, ce qui pourra expliquer la forte fréquence des infections respiratoires et les infections de la sphère ORL pendant cette saison.

Parmi les 504 sujets enrôlés de façon aléatoire aux alentours du point de collecte, il ressort que **54,6%** de nos sujets seraient des sujets potentiellement intéressants pour une étude plus poussée sur l'impact de la poussière et des polluants chimiques dans la survenue des infections pulmonaires et cardiovasculaires.

Mots clés : pollution, atmosphérique, microbienne, urbain, infection.



D. Material safety data sheet

Name: N'Diaye

First Name: Cheick Oumar

Address: Faladie Sema, Street: 846, P: 615; **Tel:** (00223) 66794377/71846991; **Email:** cheickagna@gmail.com.

Title of the thesis: Assessment of microbial pollution in downtown Bamako

Nationality: Malian

Academic Year: 2015-2016

City of defense: Bamako-Mali

Place of deposit: Library of the Faculty of Medicine of Pharmacy and Odontostomatology.

Focus Area: Public Health - Atmospheric Pollution - ORL - Ophthalmology - Pneumology - Infectiology.

Summary

Pollution from outside air as well as indoor air pollution is now a real public health problem. As of September 2016, WHO has just sounded the alarm, according to one of its publications 92% of the world's population live in places where outdoor air quality levels in particulate matter do not respect the limits. Therefore population maybe exposed to polluted air. The first impacts of the exposure of these pollutants may lead to respiratory diseases.

In response to this growing particulate pollution, we wanted to assess the presence and microbial seasonality in downtown Bamako and also to identify who are those potentially exposed to these pollutants.

The evaluation enabled us to demonstrate after collecting 30 specimens and after staining 240 slides several kinds of microbes during our period of study. The bacteria that were the subject of our study accounted for **96.25%** of these microbes and the fungi **3.75%** despite the use of culture medium unfavorable to their development.

Among the microbes, the bacillary forms accounted for **77.08%** against **19.12%** for the cocci forms. Gram-positive bacteria accounted for **51.2%** of the bacterial population and Gram-negative bacteria **48.03%**. The difference is not significant; it means that our site of collection presents the 2 situations producing microbes, that is to say a site with high human density (favorable to Gram negative) and a dry and dusty environment (Favorable to Gram positive). It should be noted that our site is exposed to the exhaust of motorcycles and vehicles, producing atmospheric pollutants (NO, CO, hydrocarbons) whose impact on microbial ecology is not known, but they can have a Protective effect on micro-organisms, depending on the microbial



species, especially on Gram-negative bacteria which normally range around 30% in outdoor air.

Temperatures played a favorable role in the presence of microbes during our study, whereas in the warm dry season we had **63.46%** against **36.54%** in the cold dry season **P = 0.089**, **X² = 8.13**. However in the cold dry season we had a dominance of Gram-negative bacilli and Gram-positive cocci compared to the hot dry season, which may explain the high frequency of respiratory infections and infections of the ENT sphere during this season.

Of the 504 randomly enrolled subjects around the collection point, **54.6%** of our subjects would be potentially interesting subjects for further study on the impact of dust and chemical pollutants on the occurrence of Pulmonary and cardiovascular infections.

Keywords: pollution, atmospheric, microbial, urban, infection.



SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des Maîtres de la Faculté, des conseillers de l'Ordre des Pharmaciens, et de mes condisciples :

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

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

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine,

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels,

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

Que je sois couvert d'opprobres et méprisé de mes confrères si j'y manque!

Je le jure!

