

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



**Université Frères Mentouri Constantine 1**  
**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département de Biologie Appliquée**



## *Mémoire*

**Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master Professionnalisant**  
**Filière : Sciences biologiques, Spécialité : Microbiologie et Hygiène**  
**Hospitalière**

**Par : Chouiter Menal**

## *Thème*

Evaluation de l'efficacité d'un désinfectant « ammonium quaternaire » et d'un antiseptique « Dakin » sur huit souches bactériennes.

### **Jury d'évaluation :**

<b>Président de jury:</b> Mr Bererhi El-Hacene	<b>Professeur</b>	UFM, Cne 1
<b>Rapporteur:</b> M <sup>elle</sup> Dib Amira Leila	<b>Maitre de conférences « A »</b>	UFM, Cne 1
<b>Examineur :</b> Youcef Ali Mounia	<b>Maitre de conférences « B »</b>	UFM, Cne 1

**ANNEE UNIVERSITAIRE : 2017-2018**

# Sommaire

<b>Remerciements</b>	
<b>Dédicaces</b>	
<b>Liste des abréviations</b> .....	I
<b>Liste des tableaux</b> .....	II
<b>Liste des figures</b> .....	III
<b>Liste des anonymes</b> .....	IV

## Partie bibliographique

<b>Introduction</b> .....	1
I. Historique .....	3
II. Antiseptie et antiseptiques .....	4
1.1. Antiseptie.....	4
1.2. Antiseptique .....	4
1.3. Qualités requises pour un antiseptique.....	5
1.3.1. Qualités physiques .....	5
1.3.2. Qualités d'efficacité .....	5
1.3.3. Absence d'effets secondaires .....	5
1.4. Les familles des antiseptiques.....	5
1.4.1. La classification selon la famille chimique.....	6
1.4.1.1. Les halogènes .....	6
1.4.2. La classification selon le spectre d'activité .....	8
II. Désinfection et désinfectants.....	8
2.1. Désinfection.....	8
2.2. Désinfectant.....	8
2.2.1. Domaines d'utilisation des désinfectants.....	9
2.2.2. Caractéristiques du désinfectant idéal .....	9
2.2.3. Classes des désinfectants .....	10
2.2.3.1. Les ammoniums quaternaires .....	10
III. Résistance bactérienne aux désinfectants .....	11
3.1. Définition .....	11
3.1.1. Résistance intrinsèque .....	12
3.1.1.1. Paroi des bactéries à Gram positif .....	12
3.1.1.2. Paroi des bactéries à gram négatif .....	12
3.1.2. Résistance acquise .....	13
3.1.2.1. Résistance acquise chromosomique .....	13
3.1.2.2. Résistance acquise plasmidique (extra-chromosomique) .....	14

## Partie pratique

1. Objectif .....	15
2. Matériel et méthodes.....	15
2.1. Matériel .....	15

2.2.	Méthodes .....	15
2.2.1.	Evaluation de l'efficacité du désinfectant .....	16
2.2.2.	Préparation des cultures bactériennes .....	16
2.2.3.	Préparation de la suspension bactérienne .....	16
2.2.4.	Ajustement de la suspension mère au spectrophotomètre .....	16
2.2.5.	Préparation des dilutions à partir de la suspension mère .....	16
2.2.6.	Préparation du neutralisant .....	17
2.2.7.	Préparation des dilutions du désinfectant et de l'antiseptique .....	17
2.2.8.	Essai de l'efficacité des désinfectants sur les bactéries avec neutralisation .....	17
2.2.8.1.	Les dilutions du désinfectant + suspension bactérienne.....	17
2.2.8.2.	L'ajout du neutralisant aux tubes (suspension mère et dilutions du désinfectant).....	18
2.2.8.3.	Ensemencement .....	18
2.2.9.	Essai du neutralisant .....	18
3.	Résultats .....	18
3.1.	Evaluation de l'efficacité de l'ammonium quaternaire et du Dakin .....	18
3.1.1.	Efficacité de l'ammonium quaternaire sur les différentes souches.....	18
3.1.2.	Efficacité du Dakin sur les différentes souches bactériennes.....	22
3.2.	Détermination de la réduction logarithmique de chaque produit .....	25
3.2.1.	Ammonium quaternaire .....	25
3.2.2.	Dakin .....	26
4.	Discussion .....	27
4.1.	Ammonium quaternaire .....	27
4.2.	Dakin .....	29
	<b>Conclusion.....</b>	<b>30</b>
	<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>31</b>

## **Annexe 1**

## REMERCIEMENTS

*Ce n'est pas parce que la tradition l'exige par habitude, que cette page est présentée dans mon mémoire de master, mais parce que les personnes à qui s'adressent mes remerciements le méritent vraiment.*

*J'adresse mes plus sincères remerciements au*

**Dr. DIB Amira Leila**

*Pour m'avoir accueilli au sein du laboratoire de bactériologie à l'institut des sciences vétérinaires d'El-Khroub et pour m'avoir fait l'honneur de diriger ce travail.*

*Je lui suis reconnaissante pour la confiance et le soutien permanent qu'elle m'a témoigné dans cette collaboration ainsi que pour ses compétences scientifiques et pédagogiques qui m'ont permis de mener à bien ce projet*

*Je tiens à remercier les membres de jury d'avoir accepté de juger mon travail.*

*Je remercie monsieur **Brerhi El Hassen**, directeur de l'institut des sciences vétérinaires d'El Khroub qui m'a ouvert les portes et permis d'effectuer ma partie pratique*

*Je remercie également toutes les personnes du laboratoire d'HIDAOA et de Microbiologie pour leurs conseils et gentillesse*

*Je remercie Dr Lakhdara N d'avoir lu et corrigé ma partie pratique*

*J'adresse aussi mes sincères remerciements à toutes les personnes qui m'ont aidé, soutenues et qui m'ont tendues la main quand j'en avais besoin.*

## *Dédicaces*

*A ma source d'affection et soutien qui me manque énormément*

*Que dieu t'accueille dans son vaste paradis cher papa,*

*A ma source de volonté, de patience et de tendresse*

*Que dieu te garde pour moi chère maman,*

*A toute ma famille,*

*Et*

*A toutes mes amies.*

*Manel.*

## Liste des abréviations

**ATCC** : American Type Culture Collection

**CECT** : Collection Espagnol de Cultures Type

**CIP** : Collection de l'Institut Pasteur

**ClO<sup>-</sup>** : ion hypochlorite

**DD** : Détergent- désinfectant.

**KOH** : Hydroxyde de Potassium

**NaCl** : Chlorure de Sodium

**NaClO** : hypochlorite de sodium

**NaClO<sub>2</sub>** : hypochlorite de sodium

**NaOH** : Hydroxyde de Sodium

**pH** : Potentiel Hydrogène

**PPM** : Partie Par Million

**UFC** : Unité Formant Colonies.

## Liste des tableaux

**Tableau 1 :** Composition du soluté de Dakin stabilisé. Page 8.

**Tableau 2 :** Composition des désinfectants à base d'ammonium quaternaire. Page 11.

**Tableau 3 :** Préparation des dilutions bactériennes. Page 16.

**Tableau 4 :** Moyenne du nombre de colonies (ufc/ml) des souches de référence (CIP A22, CIP 53.30, CECT 59) sous l'effet de l'ammonium quaternaire à différentes concentrations. Page 18.

**Tableau 5 :** Moyenne du nombre de colonies (ufc/ml) des différentes souches ATCC sous l'effet de l'ammonium quaternaire à différentes concentrations. Page 19.

**Tableau 6 :** Moyenne du nombre de colonies (ufc/ml) des souches hospitalières sous l'effet de l'ammonium quaternaire à différentes concentrations. Page 20.

**Tableau 7 :** Moyenne du nombre de colonies (ufc/ml) des souches de référence sous l'effet du Dakin à différentes concentrations. Page 21.

**Tableau 8 :** Moyenne du nombre de colonies (ufc/ml) des ATCC sous l'effet du Dakin à différentes concentrations. Page 22.

**Tableau 9 :** Moyenne du nombre de colonies (ufc/ml) de *Serratia marcescens* et d'*Acinetobacter* sous l'effet du Dakin à différentes concentrations. Page 23.

**Tableau 10 :** Réduction logarithmique de l'ammonium quaternaire. Page 24.

**Tableau 11 :** Réduction logarithmique du Dakin. Page 25.

## Liste des figures

**Figure 1 :** Effet de l'ammonium quaternaire à différentes concentrations sur les trois souches de référence (CIP A22, CECT 59, CIP 53.30). Page 18.

**Figure 2 :** Effet de l'ammonium quaternaire à différentes concentrations sur les trois souches ATCC. Page 19.

**Figure 3 :** Effet de l'ammonium quaternaire à différentes concentrations sur *Serratia marcescens* et *Acinetobacter*. Page 20.

**Figure 4 :** Effet du dakin à différentes concentrations sur les trois souches de référence (CIP A22, CIP 53.30, CECT 59). Page 21.

**Figure 5 :** Effet du dakin à différentes concentrations sur les trois souches de référence ATCC. Page 22.

**Figure 6 :** Effet du dakin à différentes concentrations sur *Serratia marcescens* et *Acinetobacter*. Page 23.

## Introduction

Les maladies infectieuses sont les maladies les plus fréquemment rencontrées en milieu hospitalier. En effet, plus du tiers des malades hospitalisés reçoivent au moins un antibiotique. En outre, on distingue les maladies provoquées par les bactéries, d'autres dues aux virus et d'autres d'origines fongiques ou parasitaires (**Labayle, 2001**).

D'autre part, l'antisepsie et la désinfection ont toujours joué un rôle important dans la lutte contre les maladies infectieuses ; c'est surtout à partir de la fin du XIX<sup>ème</sup> siècle, avec les progrès de la chimie, de la pharmacie et de la microbiologie qu'ont été établis et rédigés les concepts et les règles de l'utilisation en médecine et en chirurgie des antiseptiques et des désinfectants (**Dewilde-Blanc, 2002**).

En outre, les antiseptiques qui ont une autorisation de mise sur le marché sont de véritables médicaments, moins utilisés après l'apparition des antibiotiques. Ces antiseptiques et ces désinfectants ont repris une place prépondérante dans la prévention et la lutte contre les infections nosocomiales (**Anonyme 1, 2000**).

Assurément, devant la quantité des produits présents sur le marché, le choix est parfois difficile. En effet, la sélection, outre les critères scientifiques et techniques, doit prendre en compte du conditionnement, de la tolérance, de la facilité d'emploi et du coût des produits. En plus, l'utilisation appropriée de ces produits est d'autant plus nécessaire que les techniques médicales de plus en plus invasives induisent des risques infectieux importants.

Tous ces aspects ont suscité notre intérêt quant à l'efficacité des désinfectants et des antiseptiques utilisés en Algérie. Ainsi, l'objectif de notre étude consiste à évaluer l'efficacité d'un désinfectant « Ammonium quaternaire » et d'un antiseptique « Dakin » sur des souches de références et des souches isolées en milieu hospitalier.

Notre travail s'articule en deux parties distinctes :

- Une partie bibliographique dans laquelle nous nous sommes intéressés, aux antiseptiques, aux qualités requises pour un antiseptique et leurs classifications, ainsi qu'aux désinfectants, leurs domaines d'utilisation, les caractéristiques du désinfectant idéal, la classification des désinfectants, et enfin la résistance bactérienne aux désinfectants.
- Une partie pratique dans laquelle nous avons évalué l'efficacité d'un désinfectant « Ammonium quaternaire » et d'un antiseptique « Eau de Dakin » sur des souches de référence : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas* sensibles aux désinfectants, des souches de références *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et

*Pseudomonas* sensibles aux antibiotiques et des souches bactériennes isolées en milieu hospitalier et qui sont résistantes aux antibiotiques : *Serratia marcescens* et *Acinetobacter*.

## I. Historique

De tous les temps, la lutte contre les maladies infectieuses a tenu une place importante. Bien avant que le mot antiseptique ne soit employé, de nombreuses substances sont utilisées pour éviter le risque de contamination.

Dès l'Antiquité, de nombreuses substances (épices, essences, huiles végétales, vins, vinaigres, miel) étaient utilisées pour empêcher la putréfaction des plaies et l'infection des blessures. Le soufre et le mercure étaient déjà employés comme « désinfectants » en Chine, Inde et Egypte antiques. En outre, l'utilisation des vins et des vinaigres dans le traitement des plaies est antérieure à Hippocrate. Ces derniers ont continué à être utilisés durant le Moyen Age pour la cicatrisation des plaies et la prévention des infections.

Ainsi, au cours du temps, les traitements empiriques intuitifs et parfois surnaturels ont évolué pour atteindre des bases scientifiques à la fin du XIV<sup>ème</sup> siècle (**Khirani et al, 2015**).

C'est au XVIII<sup>ème</sup> siècle que le mot antiseptique fut employé par PRINGLE. Ce médecin militaire écossais classa un grand nombre de substances appliquées sur la peau et les plaies (camphre, acides). C'est également à cette période que furent découvertes les principales molécules utilisées actuellement (**Benmansour, 2015**).

Le chlore, fût découvert par le chimiste suédois Scheele en 1774. Ainsi, en 1789, Berthollet un chimiste français découvrit les hypochlorites. En 1811, Bernard Courtois un autre chimiste français isola l'iode à partir de cendres de plantes marines (**Dewilde-Blanc, 2002**). En 1825, Labarraque utilisa l'*hypochlorite de calcium* dans les hôpitaux, les latrines, les étables, les prisons et les bateaux ; il obtient aussi des résultats lors de l'épidémie du choléra de 1832 et rapporta, surtout les succès obtenus par les chirurgiens parisiens qui utilisaient des pansements imprégnés d'une dilution au 1/8 d'hypochlorite pour traiter furoncles, gangrènes, ulcères et brûlures.

En 1860, L'allemand Kuchenneister et le français Lemaire, employaient le phénol comme antiseptique (**Bocary, 2006**).

Le concept des maladies infectieuses, transmissibles, d'origine microbienne a émergé progressivement au cours des siècles pour trouver sa confirmation scientifique à la fin du XIX<sup>ème</sup> siècle et au début du XX<sup>ème</sup> avec les travaux de Pasteur et de Koch. Suite aux travaux de Pasteur, Lister, chirurgien à Glasgow créa en 1867, le concept de l'antisepsie en chirurgie, qui permet de décrire les règles de son application pratique et d'en prouver l'efficacité en réduisant le taux des infections post opératoires à des niveaux très faibles (**Benmansour, 2015**).

En 1881, Robert Koch, fût le premier à réaliser une évaluation systématique de l'action sporicide de plus de 70 composés chimiques, à différentes concentrations, dans des solutions aqueuses, huileuses ou alcooliques ; les halogènes, le chlorure mercurique, le permanganate de potassium et l'acide osmique étaient parmi les produits les plus actifs (**Dewilde-Blanc, 2002**).

En 1929, Lugol, médecin français, utilisa l'iode dans le traitement des maladies scrofuleuses. En effet, la teinture d'iode a été utilisée en 1839 contre la goutte, l'anthrax, le panaris, puis largement employée pour traiter les blessures de guerre (**Anonyme 1, 2000**).

En outre, l'époque moderne des antiseptiques et des désinfectants commence avec les travaux Kroniget Paul qui jettent les bases scientifiques de l'étude du mode d'action de ces substances et qui décrivent les critères indispensables de leur évaluation in vitro (**Dewilde-Blanc, 2002**)

A partir de 1970, l'élaboration par l'AFNOR, (Association Française de normalisation) de protocoles normalisés d'étude a permis une meilleure connaissance des propriétés antimicrobiennes, des antiseptiques et des désinfectants. A la même période, la pharmacopée française introduit en Juillet 1985 une note pro-pharmacopée sur les préparations antiseptiques (**Anonyme 1, 2000**).

## **II. Antisepsie et antiseptiques**

### **2.1. Antisepsie**

C'est une opération au résultat momentané permettant au niveau des tissus vivants, dans la limite de leur tolérance, d'éliminer ou de tuer les micro-organismes et/ou d'inactiver les virus, en fonction des objectifs fixés.

Le résultat de cette opération est limité aux micro-organismes et/ou virus présents au moment de l'opération (**AFNOR, 1981 NF T 72-101**) (**Lyonnet, 2018**).

### **2.2. Antiseptique**

Il s'agit d'un produit ou procédé utilisé pour l'antisepsie dans des conditions définies.

Si le produit ou le procédé est sélectif, ceci doit être précisé. Ainsi, un antiseptique ayant une action limitée aux champignons est désignée par : antiseptique à action fongicide (**AFNOR, 1981 NF T 72-101**) (**Beclin, 2016**).

En outre, la Xe édition de la Pharmacopée française **Janvier (1990)** apporte quelques éléments supplémentaires à cette définition. En effet, les antiseptiques sont des préparations ayant la propriété d'éliminer ou de tuer les microorganismes ou d'inactiver les virus sur des tissus vivants (peau saine, muqueuses, plaies). Elles sont présentées dans leur forme d'utilisation et sont utilisées telles quelles sauf exception justifiée et autorisée.

Elles présentent une activité antibactérienne, antifongique et antivirale.

La destination d'emploi des préparations antiseptiques est précisée : peau saine, muqueuses, plaies, ainsi que la durée d'application nécessaire à l'obtention de l'activité, en fonction de l'indication, l'inactivation par d'éventuelles substances interférentes ainsi que les incompatibilités sont indiquées.

### **2.3. Qualités requises pour un antiseptique (Lyonnet, 2018)**

#### **2.3.1. Qualités physiques (Benmansour, 2015)**

- ✓ Tension superficielle faible,
- ✓ Substantivité,
- ✓ Stabilité chimique pendant le stockage,
- ✓ Formulation possible,
- ✓ Demi-vie longue.

#### **2.3.2. Qualités d'efficacité**

- ✓ Activité germicide importante,
- ✓ Spectre d'activité large,
- ✓ Innocuité vis à vis des tissus,
- ✓ Rémanence (**Khilil et al, 1999**) (**Gautier et al, 2013**)

#### **2.3.3. Absence d'effets secondaires**

- ✓ Sans odeur et sans goût,
- ✓ N'entraîne pas de coloration,
- ✓ Indolore (**Benmansour, 2015**)

## **2.4. Les familles des antiseptiques**

On peut classer les antiseptiques par :

- La famille chimique (halogénés : dérivés iodés, chlorés),
- Les indications de l'A.M.M (antisepsie de la peau saine, peau lésée ou plaie, muqueuses),
- Le spectre d'activité (**Benmansour, 2015**)

### **2.4.1. La classification selon la famille chimique**

– Aldéhydes,

- Phénol et les dérivés phénoliques,
- Halogènes (dérivés chlorés, dérivé iodés),
- Ammoniums quaternaires,
- Biguanides (chlorhexidine),
- Métaux lourds (sels de mercure, d'argent, de cuivre),
- Alcools,
- Agents oxydants,
- Acides,
- Colorants,
- Dérives de la quinoléine,
- Carbanilides,
- Divers (hexetidine, hexamidine, taurolidines) (**Sautter, 2004**).

#### 2.4.1.1. Les halogènes

##### ❖ **Les produits iodés**

Découverts en 1950, les produits iodophores, moins irritants et allergisants que l'iode, sont actuellement largement utilisés (**Anonyme1, 2000**).

##### ❖ **Les produits chlorés**

Depuis plus de deux siècles, les produits chlorés sont utilisés en milieu industriel et médical pour leurs propriétés blanchissantes, désodorisantes et désinfectantes (**Anonyme1, 2000**).

Jusqu'à un titre de 5 degrés chlorométriques, les produits chlorés peuvent être utilisés comme antiseptiques de la peau saine, des muqueuses, et pour l'irrigation des plaies. A des titres supérieurs, ils sont irritants pour la peau et sont utilisés comme désinfectants. Les solutions suivantes sont des solutions d'hypochlorite de sodium (NaClO, NaCl, H<sub>2</sub>O). Leur titre correspond à un nombre de grammes de chlore actif pour 100 mL de la solution :

- ✓ Eau de Javel à 12° Chlorométrique (**Anonyme 1, 2000**)
- ✓ Soluté de Dakin : est à 1,5° chlorométriques.
- ✓ Liqueur de Labarraque : est à 2° chlorométriques.
- ✓ Solution aqueuse isotonique d'hypochlorite de sodium et chlorure de sodium à 0,06% de chlore actif (**Bocary, 2006**).

En outre, les dérivés chlorés ont un spectre d'activité étendu : bactéries (formes végétatives et sporulées), champignons, virus et spores.

Ainsi, le délai d'action est rapide, dès la première minute de contact, le pouvoir oxydant provoque la destruction des protéines au niveau membranaire et chromosomique (**Benmansour, 2015**).

Parmi les facteurs influençant l'activité et la stabilité de ces désinfectants, le pH. En effet, à pH < 5, il y a dégagement de chlore gazeux : la solution perd son activité et à pH = 5, l'activité est maximale. Aussi, la température, car si cette dernière augmente, la stabilité des solutions diminue mais l'action antimicrobienne est plus rapide à 37°C qu'à 22°C. Egalement, les matières organiques et les savons, réduisent le pouvoir antimicrobien.

De plus, les minéraux tels que le fer, le cobalt, le nickel, le cuivre et le manganèse diminuent la stabilité des solutions d'hypochlorites. Enfin, les rayons ultraviolets accélèrent la dégradation des produits chlorés (**Anonyme 2**).

### ✓ L'eau de Dakin

La liqueur du Dakin ou l'eau du Dakin est un liquide antiseptique utilisé pour le lavage des plaies et des muqueuses infectées en chirurgie, dermatologie et gynécologie, composée d'eau de javel ou d'hypochlorite de sodium à 1,5 degré chlorométrique et à l'odeur chlorée (**Anonyme 1**). Elle a pour avantage de ne pas être colorante contrairement à l'éosine, et de ne pas produire de sensation d'irritation à l'usage contrairement à la Bétadine (**Benmansour, 2015**).

C'est un antiseptique local du groupe chimique des chlorés à large spectre d'activité, il est bactéricide, fongicide, virucide mais impropre à la désinfection du matériel médico-chirurgical. En outre, les matières organiques comme les protéines, le sérum, le sang ou autres matières tels que le savon, diminuent l'activité antiseptique (**Anonyme 3**). D'autre part, le mélange contient pour le colorer et le stabiliser vis-à-vis de la lumière, 10 mg/L de permanganate de potassium qui lui donnent une coloration rosée (**Ludovic, 2009**). En plus, la solution est tamponnée avec du dihydrogénophosphate de sodium et l'eau purifiée (**Anonyme 3**).

En outre, le stockage de l'eau de Dakin est une condition sine qua non de son efficacité. En effet, il est conseillé de conserver cette solution à l'abri de la lumière pour éviter une décomposition rapide du produit qui aura lieu en quelques jours. Cette solution est basique et son pH est égal à 9,4 et peut donc se révéler irritante quand elle est employée comme telle (tableau 1) (**Ludovic, 2009**).

**Tableau 1 : Composition du soluté de Dakin stabilisé  
(Benmansour, 2015)**

<b>Composition du soluté de Dakin stabilisé COOPER</b>		
	<b>Molécules</b>	<b>Concentration</b>
<b>Principe actif</b>	<i>Hypochlorite de sodium</i>	0,500 g de chlore actif pour 100 ml
<b>Principes non actifs</b>	<i>Permanganate de Potassium</i>	0,0010g pour 100 mL
	Dihydrogénophosphate de sodium dihydraté	Excipient
	Eau purifiée	Excipient

#### **2.4.2. La classification selon le spectre d'activité**

- Les antiseptiques majeurs : bactéricides et à large spectre,
- Les antiseptiques intermédiaires : bactéricides et à spectre étroit,
- Les antiseptiques mineurs : bactériostatiques et à spectre étroit,
- Les antiseptiques à déconseiller (toxicité et effets indésirables importants),
- Les produits considérés à tort comme antiseptiques (**Placet-Thomazeau, 2001**).

## **II. Désinfection et désinfectants**

### **3.1. Désinfection**

C'est une opération aux résultats momentanés permettant d'éliminer ou de tuer les micro-organismes et/ou d'inactiver les virus indésirables portés par des milieux inertes contaminés, en fonction des objectifs fixés. Le résultat de cette opération est limité aux micro-organismes et/ou virus présents au moment de l'opération (**AFNOR, 1981 NF T 72-101**) (**Bouaziz, 2013**).

### **3.2. Désinfectant**

Il s'agit d'un produit ou procédé utilisé pour la désinfection ou la décontamination dans des conditions définies (**AFNOR, 1981 NF T 72-101**).

#### **3.2.1. Domaines d'utilisation des désinfectants**

- Désinfection des surfaces
- Pré-désinfection des instruments et du matériel

- Désinfection par trempage des instruments et des systèmes optiques
- Désinfection en machine des systèmes optiques d'exploration
- Désinfection des circuits de dialyse
- Désinfection des bassins et des excréta
- Désinfection des containers ou des bennes pour les déchets hospitaliers (**Anonyme 1, 2000**).

### **3.2.2. Caractéristiques du désinfectant idéal**

Un désinfectant idéal doit répondre aux critères suivants :

- Avoir un spectre d'activité adapté aux objectifs fixés
- Avoir une action rapide
- Etre actif en présence de substances interférentes (sang, pus, eau dure)
- Avoir un effet prolongé dans le temps
- Etre compatible et dénué d'inconvénient pour le matériel
- Etre peu ou pas toxique pour le personnel
- Etre facile à doser
- Ne pas avoir d'odeur désagréable
- Avoir une certaine stabilité.

En outre, l'activité d'un désinfectant dépend de nombreux facteurs liés à la technique utilisée et à la nature du produit désinfectant. Parmi les facteurs liés au désinfectant, on peut citer : l'activité antimicrobienne du principe actif, la concentration en principe actif, l'effet des composants associés dans la solution commerciale, la température et le temps de contact.

Ainsi, un désinfectant contenant du glutaraldéhyde pourra être utilisé pour une désinfection de niveau bas, intermédiaire ou haut selon les conditions d'utilisation (**Anonyme 1**) (**Anonyme 4, 1998**).

### **3.2.3. Classes des désinfectants**

La classification est essentiellement basée sur le principe actif dominant. Il peut aussi y avoir des combinaisons de ces atomes actifs. Par exemple, plusieurs substances peuvent contenir à la fois du chlore et de l'oxygène. Dans certains cas c'est l'oxygène qui domine, par contre, dans d'autres c'est le chlore.

Pour savoir quel est le principe actif dominant, il faut lire le nom chimique, sur la fiche technique ou signalétique du produit ou sur l'étiquette, car le nom commercial, dans la plupart des cas, ne donne aucun indice sur le produit actif (**Khirani et al, 2015**).

Les différentes classes de désinfectants sont :

1. Halogènes à base de chlore

2. Aldéhydes
3. Alcools
4. Oxydants
5. Dérivés phénoliques
6. Ammonium quaternaire (**Khirani et al, 2015**).

#### 3.2.3.1. Les ammoniums quaternaires

On nomme ammoniums quaternaires les produits dont les molécules sont constituées d'un atome d'azote (N), auquel sont accrochés quatre groupes comportant entre 8 et 35 atomes de carbone. Le nom quaternaire provient du nombre de groupes (R) attachés à l'atome d'azote, soit quatre (**Anonyme 1, 2000**).

En outre, leur mode d'action dépend de leur liaison aux acides gras et aux groupes phosphates de la membrane cellulaire qui conduit à une fuite de constituants cellulaires et la lyse de la cellule (**Bulletin d'information du CAPP, 2007**).

Assurément, les ammoniums quaternaires sont des tensio-actifs cationiques ayant une action détergente. En effet, en raison de leur pouvoir détergent, ils entrent dans la composition de nombreux produits détergents-désinfectants pour sols, surfaces et mobiliers et en combinaison avec des détergents non ioniques et des produits pour la pré-désinfection des dispositifs médicaux.

Ils sont bactériostatiques sur les Gram négatifs et bactéricides sur les Gram positifs et ont une activité variable sur les virus enveloppés, et nulle sur les virus nus, ils sont également fongistatiques, par ailleurs n'ont aucune action sporicide.

Ainsi, leur activité est diminuée par les matières organiques et par l'eau dure, par contre, elle augmente avec la température. En plus, ils sont plus actifs à pH neutre ou légèrement alcalin (entre 7 et 11) et aucune activité à pH <3,5.

Ils sont incompatibles avec les détergents anioniques (savon), les ions calcium, magnésium et nitrates, d'autres dérivés halogénés, acides et la plupart des phénoliques (tableau 2). Ils sont hémolytiques et curarisants par voie orale (**Anonyme 1, 2000**).

**Tableau 2 : Composition des désinfectants à base d'ammonium quaternaire  
(Lyonnet, 2018)**

Nom	Spécialités	Commentaires
Les ammoniums quaternaires	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Produits DD pour sols, surfaces et mobilier.</li> <li>- Produits DD pour la prédésinfection du matériel et des instruments.</li> <li>- Dispersats dirigés pour désinfection des surfaces (spray).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Composition et concentration très variables :               <ul style="list-style-type: none"> <li>• Aldéhydes</li> <li>• Ammonium quaternaire</li> <li>• Biguanides</li> <li>• Enzymes ect...</li> </ul> </li> <li>- Gain de temps mais moindre efficacité détergente et encrassement des surfaces à longues (alternance détergent et détergent désinfectant)</li> <li>- Aucune action sporicide.</li> </ul>

#### **IV. Résistance bactérienne aux désinfectants**

##### **4.1. Définition**

D'après **Joly (1995)** et **Allion (2004)**, une population est dite résistante à un antiseptique ou à un désinfectant lorsque la Concentration Minimale Bactéricide (CMB) de ce produit vis-à-vis de la population considérée est significativement plus élevée que les CMB de ce produit vis à vis de la plupart des populations microbiennes.

Deux types de résistance aux antimicrobiens peuvent alors être distinguées : la résistance intrinsèque et la résistance acquise.

##### **4.1.1. Résistance intrinsèque**

La résistance intrinsèque ou naturelle est une caractéristique innée et stable des cellules appartenant à une espèce microbienne ou à un groupe d'espèces vis-à-vis d'un antimicrobien. Etant stable, elle permet de définir le spectre d'activité d'un biocide ensemble de microorganisme naturellement sensibles ou résistants à un antimicrobiens ou groupe d'antimicrobiens donné.

Etant donné que la structure et la composition de la surface des micro-organismes jouent un rôle important dans leur résistance naturelle (**Neidhardt et al, 1994 ; Khirani et al ; 2015**).

#### 4.1.1.1. Paroi des bactéries à Gram positif

Si l'on considère la paroi des bactéries à gram positif, on peut noter qu'elle est principalement constituée de la muréine (ou peptidoglycane), elle-même formée de chaînes polysaccharidiques linéaires dont l'unité de base est une alternance régulière de deux sucres aminés, la N-acétylglucosamine (NAG) et l'acide N-acétylmuramique (NAM) liés à un peptide (**Hancock, 1991 ; Allion, 2004**). Ce peptidoglycane assure la rigidité de la cellule et représente 30 à 50% du poids sec de la paroi cellulaire. A cette muréine, sont associés, en quantité moindre, d'autres polymères dispersés, en particulier des acides teichoïques, téichuroniques et lipotéichoïques et des protéines de surface (**Neidhardt et al, 1994 ; Allion, 2004**).

#### 4.1.1.2. Paroi des bactéries à gram négatif

La paroi des bactéries à Gram négatif, généralement plus mince, est, quant à elle constituée du peptidoglycane, recouvert d'une membrane externe dans laquelle peuvent s'insérer des protéines, des lipoprotéines et des lipopolysaccharides (LPS) (**Hancock, 1991 ; Neidhardt et al, 1994 ; Khirani et al, 2015**). La partie polysaccharidique des LPS extrêmement hydrophile, est orientée vers l'extérieur des cellules. Il est à noter que certaines bactéries à Gram négatif peuvent s'avérer être très hydrophobes, ce caractère est relié à la présence de protéines de surface.

Par conséquent, les différences de composition de l'enveloppe bactérienne entre bactéries à Gram positif et à Gram négatif mais également au sein d'une même espèce bactérienne entraînant une sensibilité variable des micro-organismes aux agents désinfectants.

Ainsi, l'enveloppe des bactéries à Gram positif ne possède pas de récepteurs spécifiques ou de perméases facilitant la pénétration des biocides dans les cellules (**Russell, 1991 ; Allion, 2004**).

Concernant les bactéries à Gram négatif, la membrane externe de la paroi peut jouer un rôle de barrière vis-à-vis des agents chimiques (**Joly, 1995 ; Khirani et al, 2015**). Il est à noter que chez les bactéries à Gram négatif, les petites molécules antimicrobiennes hydrophiles pourront pénétrer dans les cellules par la voie hydrophile via les porines (**Hancock, 1998 ; Khirani et al, 2015**). Alors que les composés lipophiles tels que les ammoniums quaternaires emprunteront la voie hydrophobe (diffusion à travers la membrane par les lipides et le lipopolysaccharide) (**Joly, 1995 ; Khirani et al, 2015**).

La cible de la plupart des antiseptiques et des désinfectants étant la membrane cytoplasmique, la résistance intrinsèque peut donc être corrélée avec son degré de protection.

Ainsi, la présence d'une enveloppe externe (bactérie à Gram négatif), d'une couche de cires (Mycobactéries) ou de tuniques sporales augmentera généralement la résistance des cellules microbiennes aux désinfectants (**Joly, 1995 ; Reverdy, 1995 ; Allion, 2004**).

Il est à noter que la résistance naturelle des bactéries aux biocides peut également être due à la présence de systèmes enzymatiques tels que la catalase ou la super oxyde dismutase chez *E. coli* permettant de détruire l'agent oxydant avant que la dégradation bactérienne n'ait eu lieu ou participant aux mécanismes de réparation cellulaire. D'autres systèmes enzymatiques, pompes d'efflux, permettent le rejet des agents désinfectants hors de la cellule (**Russell, 1997 ; Allion, 2004**)

#### **4.1.2. Résistance acquise**

La résistance acquise est due à un événement imprévisible qui, au sein d'une espèce, a pour conséquence l'apparition d'une ou plusieurs souches ayant une résistance plus élevée à un antimicrobien (**Joly, 1995 ; Carencu, 2017**). Une sélection de cette souche est ainsi possible quand les concentrations d'utilisation habituelles du produit sont inférieures à la concentration active. Ce phénomène étant connu, il est donc surveillé.

Cette résistance est le résultat de modifications génétiques soit sur le noyau de la cellule (résistance acquise chromosomique) soit apportée par un plasmide (résistance acquise plasmidique). Ces mutations génétiques peuvent alors se traduire par des évolutions biochimiques du micro-organisme déterminant ainsi l'intensité et la spécificité de la résistance.

##### 4.1.2.1. Résistance acquise chromosomique

Il s'agit d'une mutation stable et héréditaire d'un gène du chromosome et le produit du gène muté est ainsi lui-même modifié. Généralement, la résistance est acquise lorsque la mutation concerne un ou plusieurs gènes structuraux de la cellule, codant soit pour un élément cible de l'antimicrobien, soit pour un élément de fixation ou de pénétration du désinfectant.

Ainsi le mécanisme biochimique de base de la résistance chromosomique bactérienne peut être lié à une modification de la membrane cellulaire empêchant ainsi la fixation et la pénétration du produit (**Joly, 1995 ; Maillard, 2005**).

De nombreuses études (**Reverdy, 1995a ; Jones et al, 1989 ; Thomas et al, 2000 ; Lundén et al, 2003 ; Khirani et al, 2015**) ont montré que la croissance d'une souche sensible avec des concentrations sublétales d'un désinfectant pouvait entraîner l'acquisition d'une résistance à cet antimicrobien. Cette diminution de sensibilité s'accompagne généralement d'une évolution de l'enveloppe bactérienne et plus particulièrement de la composition lipidique membranaire des bactéries à gram négatif (**Méchin et al, 1999 ; Langsrund et al, 2003 ; Tabata et al, 2003**) et des bactéries à gram positif (**To et al, 2002**).

Ces variations de composition de la paroi cellulaire (teneur en acides gras, lipides, protéines) peuvent ainsi engendrer une évolution des propriétés physico-chimiques de surface des micro-organismes, hydrophobie, charge de surface (**Loughlin et al, 2002**) entraînant donc une

modification des interactions entre cellules microbiennes et agents antimicrobiens (**Sakagami et al, 1989 ; Allion, 2004**).

Cependant, cette résistance peut être réversible (**Jones et al, 1989 ; Allion, 2004**). Il s'agit alors d'un phénomène adaptatif gouverné par des gènes chromosomiques.

#### 4.1.2.2. Résistance acquise plasmidique (extra-chromosomique)

Les micro-organismes ayant acquis une résistance extra-chromosomique hébergent des plasmides R (facteurs de résistance) véhiculant des gènes dont le produit confère la résistance à un ou plusieurs antimicrobiens. Ce phénomène, fréquent et varié, a été largement étudié dans le cas des antibiotiques. Des plasmides induisant une augmentation de résistance à certains agents désinfectants (ammonium quaternaire, Chlorhexidine, bomure d'éthyldium et acridines) ont également pu être mis en évidence chez des souches responsables d'infections nosocomiales (**Russell, 1997 ; Khirani et al, 2015**).

D'autres mécanismes biochimiques de résistance bactérienne tels que l'inactivation de l'agent antimicrobien (cas des sels de mercure) et l'altération de la surface cellulaire (modification de la synthèse des protéines de la membrane externe des bactéries à Gram négatif) peuvent également être liés à ces plasmides (**Russell, 1997 ; Khirani et al, 2015**),

# **PARTIE PRATIQUE**

## 1. Objectif

Notre étude a pour objectif d'évaluer l'efficacité d'un désinfectant (l'ammonium quaternaire) et d'un antiseptique (le Dakin) utilisés en Algérie dans les milieux hospitaliers pour la désinfection des sols, des surfaces et des plaies superficielles, sur différentes souches bactérienne afin de déterminer l'effet bactériostatique et bactéricide.

## 2. Matériel et méthode

### 2.1. Matériel

#### ❖ Choix des bactéries

Le choix des bactéries a porté sur :

- ✓ Trois souches de référence sensibles aux désinfectants (*E coli* CIP 55.30, *Pseudomonas aeruginosa* CIP A22 et *Staphylococcus aureus* CECT 59) provenant du laboratoire de médecine préventive et santé publique de l'université de cartuja, département de pharmacie, Grenade, Espagne.
- ✓ Trois souches de référence sensibles aux antibiotiques (*E coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27923, ATCC : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) provenant du service de microbiologie de l'hôpital « Ibn Badis » de Constantine CHU.
- ✓ Deux souches isolées au niveau de l'hôpital « Ibn Badis » de Constantine CHU et résistantes aux antibiotiques (*Serratia marcesseus*, *Acinetobacter*).

### 2.2. Méthode

#### 2.2.1. Evaluation de l'efficacité du désinfectant

La technique utilisée dans cette étude est la méthode recommandée par la norme Afnor NF T72\_150 (1995), nécessitant l'utilisation d'un neutralisant, d'un désinfectant et de bactéries Cette méthode a été répétée trois fois dans le temps.

#### 2.2.2. Préparation des cultures bactériennes

L'ensemencement des souches bactériennes est effectué sur des milieux spécifiques pour chaque bactérie :

- ✓ Gélose nutritive (GN) : pour les *Pseudomonas aeruginosa* ;
- ✓ Gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (VRBL) : pour les *Escherichia coli* ;
- ✓ Chapman : pour les *Staphylococcus aureus* ;
- ✓ Héктоen : pour *Serratia marcesseus* et *Acinetobacter*.

Les boîtes de Pétri sont ensuite incubées à 37°C pendant 24 à 48h.

### 2.2.3. Préparation de la suspension bactérienne

Elle nécessite le transfert dans des conditions aseptiques, d'une colonie bactérienne dans un tube stérile contenant 10mL de diluant, l'agitation se fait jusqu'à l'obtention d'une suspension bactérienne homogène.

### 2.2.4. Ajustement de la suspension mère au spectrophotomètre

La suspension mère de chaque bactérie est ajustée à 620 nm jusqu'à l'obtention des valeurs suivantes :

- 0,2 - 0,3 pour les bactéries à Gram négatif
- 0,3-0,4 pour les bactéries à Gram positif
- La suspension mère est ajustée de façon à contenir  $1-3 \cdot 10^8$  bactérie /mL.

### 2.2.5. Préparation des dilutions à partir de la suspension mère

Six tubes à essai sont préparés afin d'établir les différentes dilutions de la suspension bactérienne (tableau 3).

Les dilutions sont préparées comme suit :

**Tableau 3 :** Préparation des dilutions bactériennes.

N°	1	2	3	4	5	6
Dilution	[1/10]	→ [1/10]	→ [1/10]	→ [1/10]	→ [1/5]	→ [1/20]
Suspension en diluant (ml)	0,4 en 3,6	0,4 en 3,6	0,4 en 3,6	0,4 en 3,6	0,8 en 3,2	0,2 en 3,8
Concentration Bactérienne				$1-3 \times 10^4$	$2-6 \times 10^3$	$1-3 \times 10^2$

Afin de vérifier que les dilutions ont bien été effectuées :

Deux (2) ml de la dilution numéro 6 ( $1-3 \times 10^2$  bactéries/ml) sontensemencés dans deux boites de Pétri distinctes et sont ensuite incubées à 37°C pendant 24h à 48h (selon les souches étudiées), la concentration bactérienne doit correspondre à la valeur de  $1-3 \times 10^2$  bactéries/ml.

### 2.2.6. Préparation du neutralisant

Le neutralisant se prépare à simple concentration et à double concentration. Cinq tubes du neutralisant à simple concentration contenant chacun 2,25ml sont préparés pour l'essai.

Le choix et la préparation des neutralisants ont été effectués selon **Sheikh (1981), Espigares et al, (2003) et la norme ENOR (2006).**

### **2.2.7. Préparation des dilutions du désinfectant et de l'antiseptique**

Les dilutions sont préparées à la concentration (C /0,9). Ces dernières sont constituées de six tubes d'ammonium quaternaire et du Dakin à différentes dilutions (1/2, 1/4, 1/8, 1/16,1/32). La dilution est réalisée avec de l'eau distillée stérile.

### **2.2.8. Essai de l'efficacité des désinfectants sur les bactéries avec neutralisation**

L'essai est effectué comme suit :

#### 2.2.8.1. Les dilutions du désinfectant + suspension bactérienne

Dans l'opération suivante il est très important de contrôler le temps, en utilisant un chronomètre. 0,1ml de la suspension mère ( $1-3 \times 10^8$  bactéries/ml) sont ajoutés à chaque tube du désinfectant à différentes dilutions, ce dernier doit être agité et conservé à une température de 20°C pendant 5 minutes.

#### 2.2.8.2. L'ajout du neutralisant aux tubes (suspension mère et dilutions du désinfectant)

Zéro vingt-cinq (0,25) ml de la composition obtenue (suspension mère + désinfectant) dans chaque tube sont ajoutés aux cinq tubes du neutralisant (2,25ml à concentration simple), ces derniers sont agités et maintenus à une température de 20°C pendant 10 minutes.

#### 2.2.8.3. Ensemencement

Un (1) mL de chaque tube contenant la suspension mère, les dilutions du désinfectant et le neutralisant, est ensemencé dans les boîtes de Pétri. L'incubation de ces dernières se fait pendant 48h à 37°C.

### **2.2.9. Essai du neutralisant**

Le neutralisant a été testé comme suit :

Deux tubes contenant chacun :

Tube A) : Un (1) mL d'eau distillée stérile.

Tube B) : Un (1) mL de désinfectant à une concentration maximale de 1/5

Dans les opérations suivantes il est très important de contrôler le temps en utilisant un chronomètre et les opérations sont effectuées sur les tubes dans le même ordre :

- Un (1) mL du neutralisant à double concentration est agité dans chacun des tubes (A et B) et est ensuite agité et conservé à une température de 20°C pendant 10 minutes.

- Zéro un (0,1) mL de la dilution bactérienne N°5 ( $2-3 \times 10^3$  bactéries/ml) est agité dans chaque tube et est conservé à une température de 20°C pendant 5 minutes.

-Un (1) mL de chaque tube est ensemencé, et incubé pendant 48h à 37°C. Seules les boîtes dont les colonies sont comprises entre 15 et 300 sont prises en considération.

### 3. Résultats

#### 3.1. Evaluation de l'efficacité de l'ammonium quaternaire et du Dakin

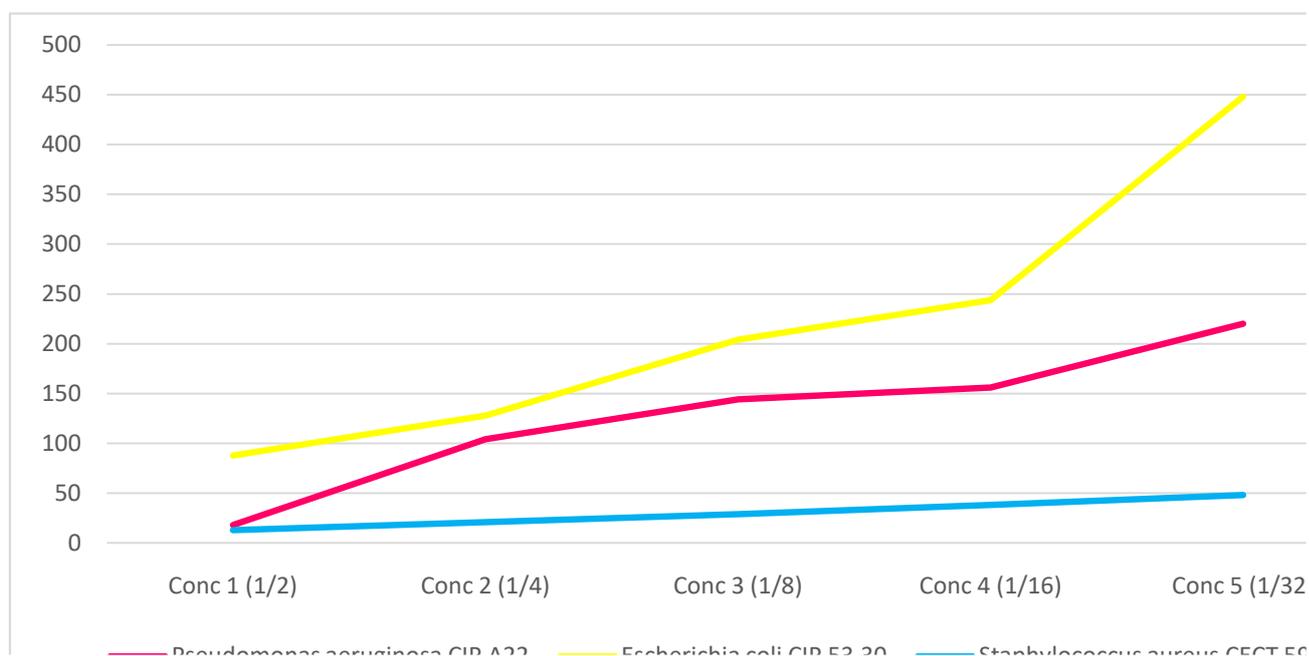
##### 3.1.1. Efficacité de l'ammonium quaternaire sur les différentes souches bactériennes

Le tableau 4 et la figure 1, montrent l'effet de l'ammonium quaternaire à différentes concentrations sur les souches de référence : *Pseudomonas aeruginosa* CIP A22, *Escherichia coli* CIP 53.30 et *Staphylococcus aureus* CECT 59.

**Tableau 4 :** Moyenne du nombre de colonies (ufc/ml) des souches de référence (CIP A22, CIP 53.30, CECT 59) sous l'effet de l'ammonium quaternaire à différentes concentrations

Souches	Conc*				
	Conc 1 (1/2)	Conc 2 (1/4)	Conc 3 (1/8)	Conc 4 (1/16)	Conc 5 (1/32)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> CIP A22	18	104	144	156	220
<i>Escherichia coli</i> CIP 53.30	88	128	204	244	448
<i>Staphylococcus aureus</i> CECT 59	13	21	29	38	48

\*Conc : concentration du produit, 1 colonie bactérienne = 1 ufc



**Figure 1 :** Effet de l'ammonium quaternaire à différentes concentrations sur les trois souches de référence (CIP A22, CECT 59, CIP 53.30)

Selon le tableau 4 et la figure 1 ci-dessus, la souche la plus sensible à l'ammonium quaternaire est *Staphylococcus aureus* CECT 59. En effet, cette souche montre une faible

poussée à la concentration 1/2 (n=13), suivie de *Pseudomonas aeruginosa* CIP A22 avec une poussée un peu plus élevée à la même concentration (n=18). Par contre, ces deux souches montrent respectivement une augmentation au fur et à mesure que les dilutions du désinfectant changent (conc 1/32, n=48, n=220).

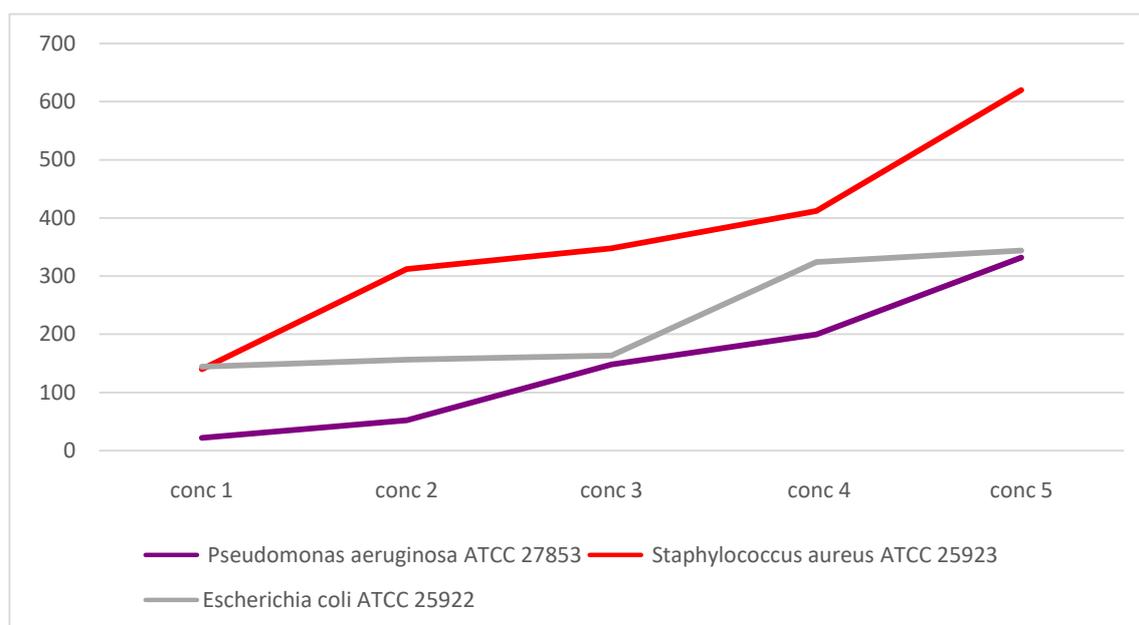
Par ailleurs, ce désinfectant semble inefficace sur *Escherichia coli* CIP 53.33. Assurément, cette souche a montré une poussée élevée dès la concentration 1/2 (n=88), et qui augmente au fur et à mesure du changement des dilutions du désinfectant (n=448, conc 1/32).

Le tableau 5 et la figure 2, montrent l'effet du même désinfectant à différentes concentrations sur les souches suivantes : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Escherichia coli* ATCC 25922.

**Tableau 5 :** Moyenne du nombre de colonies (ufc/ml) des différentes souches ATCC sous l'effet de l'ammonium quaternaire à différentes concentrations

Souches \ Conc	Conc 1 (1/2)	Conc 2 (1/4)	Conc 3 (1/8)	Conc 4 (1/16)	Conc 5 (1/32)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	22	52	148	200	332
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	140	312	348	412	620
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	144	156	163	324	344

\*Conc : concentration du produit.



**Figure 2 :** Effet de l'ammonium quaternaire à différentes concentrations sur les trois souches ATCC

D'après le tableau 5 et la figure 2, la souche la plus sensible à l'ammonium quaternaire est *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 avec la poussée la plus faible à la concentration 1/2 (n=22), qui augmente avec le changement des dilutions du désinfectant.

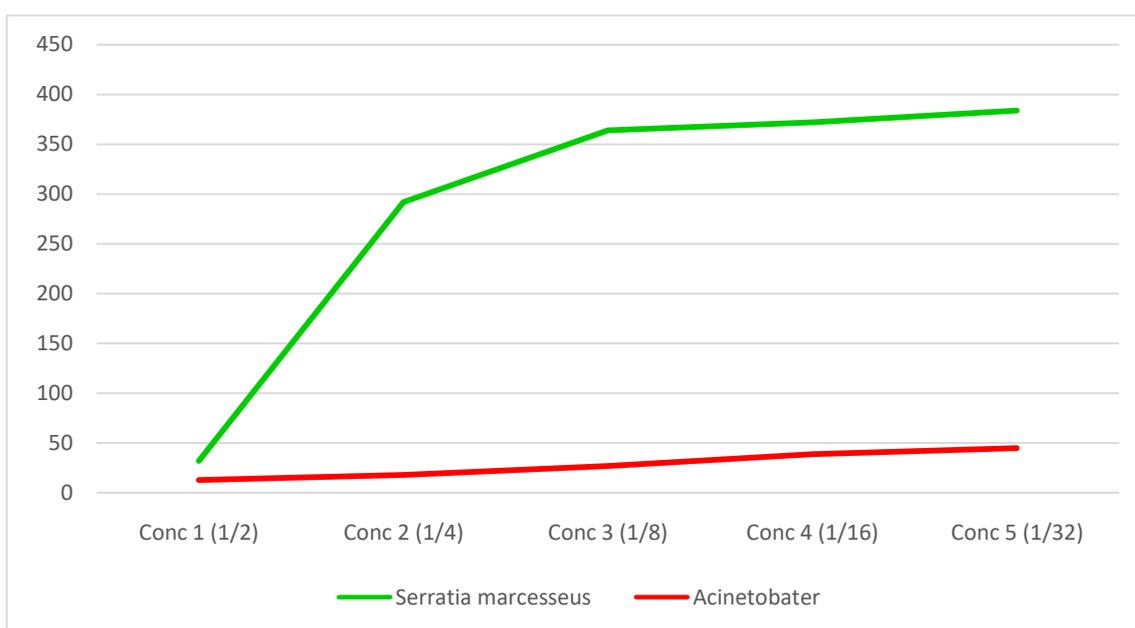
A l'opposé, le désinfectant semble être moins efficace sur *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. En effet, ces deux souches montrent respectivement une poussée élevée dès la première concentration 1/2 (n=144, n=140), qui augmente au fur et à mesure que les dilutions de l'ammonium quaternaire changent pour arriver à la dernière concentration (1/32) à des valeurs respectives de 344 et 620 colonies.

Le tableau 6 et la figure 3, montrent l'effet du même désinfectant à différentes concentrations sur les deux souches isolées en milieu hospitalier : *Serratia marcescens* et *Acinetobacter*.

**Tableau 6 :** Moyenne du nombre de colonies (ufc/ml) des souches hospitalières sous l'effet de l'ammonium quaternaire à différentes concentrations

Conc Souches	Conc 1 (1/2)	Conc 2 (1/4)	Conc 3 (1/8)	Conc 4 (1/16)	Conc 5 (1/32)
<i>Serratia marcescens</i>	32	292	364	372	384
<i>Acinetobacter</i>	13	18	27	39	45

\*Conc : concentration du produit.



**Figure 3 :** Effet de l'ammonium quaternaire à différentes concentrations sur *Serratia marcescens* et *Acinetobacter*

Le tableau 6 et la figure 3, affichent une plus grande efficacité du désinfectant vis-à-vis de la souche *Acinetobacter* (n=13, conc 1/2 et n=45, conc 1/32). En effet, *Serratia marcescens*

montre la présence de 32 colonies bactériennes à la première concentration (1/2), et qui augmentent au fur et à mesure que les dilutions du désinfectant changent (n=384, conc 1/32).

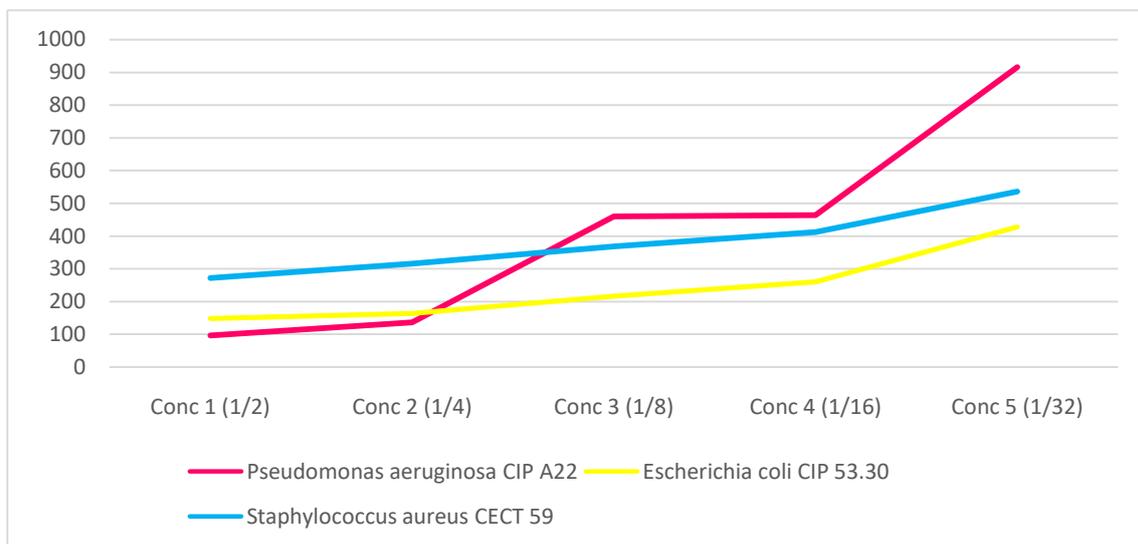
### 3.1.2. Efficacité du Dakin sur les différentes souches bactériennes

Le tableau 7 et la figure 4, montrent l'effet du Dakin à différentes concentrations sur les trois souches de référence : *Pseudomonas aeruginosa* CIP A22, *Escherichia coli* CIP 53.30 et *Staphylococcus aureus* CECT 59.

**Tableau 7 :** Moyenne du nombre de colonies (ufc/ml) des souches de référence sous l'effet du Dakin à différentes concentrations.

Conc* / Souches	Conc1 (1/2)	Conc 2 (1/4)	Conc 3 (1/8)	Conc 4 (1/16)	Conc 5 (1/32)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> CIP A22	96	136	460	464	916
<i>Escherichia. Coli</i> CIP 53.30	148	164	216	260	428
<i>Staphylococcus aureus</i> CECT 59	272	316	368	412	536

\*Conc : concentration



**Figure 4 :** Effet du dakin à différentes concentrations sur les trois souches de référence (CIP A22, CIP 53.30, CECT 59)

D'après le tableau 7 et la figure 4, *Pseudomonas aeruginosa* CIP A22 est la souche la plus sensible au Dakin. Assurément, cette souche montre une faible poussée bactérienne à la concentration 1/2 (n=96), qui augmente au fur et à mesure du changement des dilutions de

l'antiseptique pour arriver à son maximum à 916 colonies bactériennes, à la concentration (1/32).

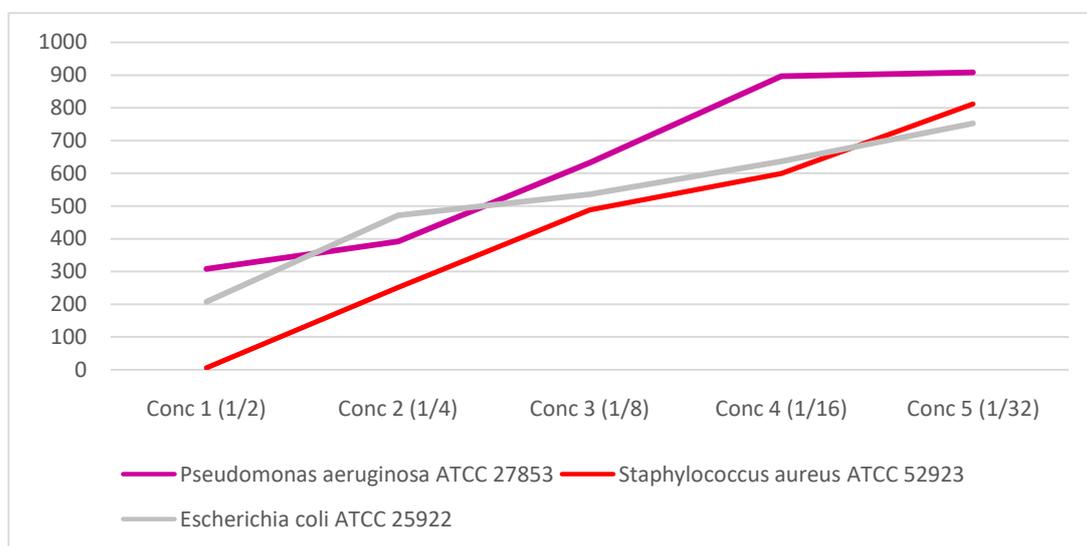
Par ailleurs, l'antiseptique semble être moins efficace respectivement sur *Escherichia coli* CIP 53.30 et *Staphylococcus aureus* CECT 59 dès la première concentration (n=148, n=272).

Le tableau 8 et la figure 5, montrent l'effet du Dakin à différentes concentrations sur les souches, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Escherichia coli* ATCC 25923.

**Tableau 8 :** Moyenne du nombre de colonies (ufc/ml) des ATCC sous l'effet du Dakin à différentes concentrations (ufc/ml).

Souches	Conc 1 (1/2)	Conc 2 (1/4)	Conc 3 (1/8)	Conc 4 (1/16)	Conc 5 (1/32)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	308	392	632	896	908
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	6	252	488	600	812
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	208	472	536	636	752

\*Conc : concentration



**Figure 5 :** Effet du dakin à différentes concentrations sur les trois souches de référence ATCC

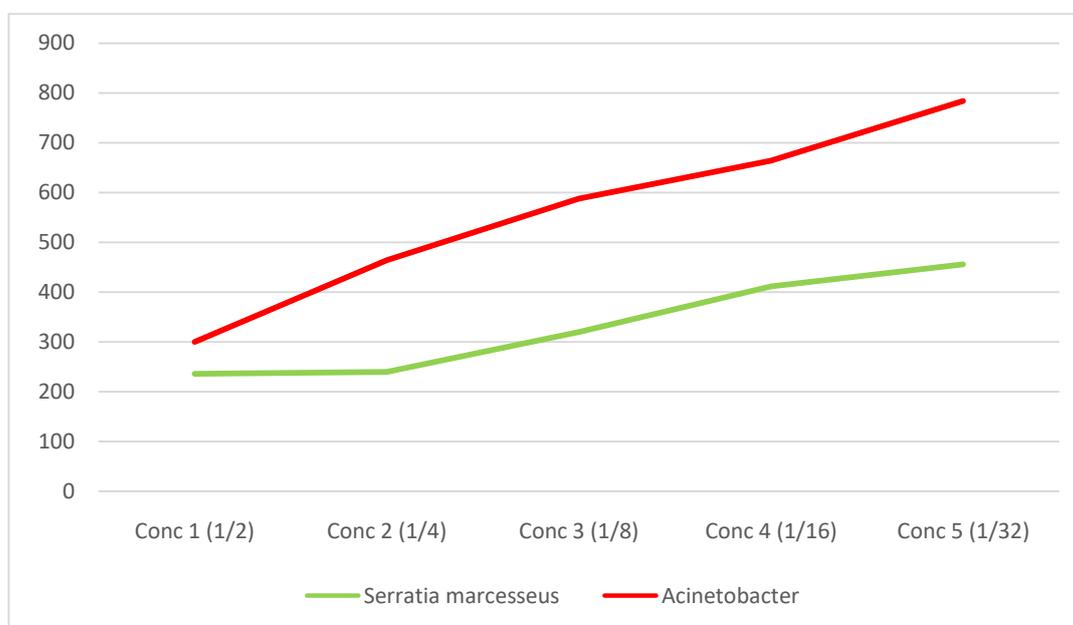
Le tableau 8 et la figure 5, montrent que *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 est la souche la plus sensible au Dakin avec une très faible poussée à la première concentration (n=6).

Cependant, l'antiseptique semble être moins efficace sur *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 avec des valeurs respectives de colonies bactériennes de 208 et 308 à la première concentration et de 752 et 908 à la dernière concentration (1/32). Le tableau 9 et la figure 6, montrent l'effet du Dakin à différentes concentrations sur les deux souches isolées en milieu hospitalier : *Serratia marcescens* et *Acinetobacter*.

**Tableau 9** : Moyenne du nombre de colonies (ufc/ml) de *Serratia marcescens* et d'*Acinetobacter* sous l'effet du Dakin à différentes concentrations

Conc	Conc 1 (1/2)	Conc 2 (1/4)	Conc 3 (1/8)	Conc 4 (1/16)	Conc 5 (1/32)
<i>Serratia marcescens</i>	236	240	320	412	456
<i>Acinetobacter</i>	300	464	588	664	784

\*Conc : concentration



**Figure 6** : Effet du dakin à différentes concentrations sur *Serratia marcescens* et *Acinetobacter*

D'après le tableau 9 et la figure 6 ci-dessus, le dakin n'est pas totalement efficace sur *Acinetobacter* et *Serratia marcescens*. En effet, ces dernières montrent respectivement une poussée bactérienne élevée dès la première concentration (n=300, conc 1/2 et n=784, conc 1/32), (n=236, conc 1/2 et n=456, conc 1/32).

### 3.2. Détermination de la réduction logarithmique de chaque produit

Selon la norme AFNOR (1995), pour qu'une concentration de désinfectant soit bactéricide, il faut que la réduction soit au minimum de  $10^5$  c'est-à-dire :  $\log(N \cdot 10^4) - \log n > 5$  tout en

sachant que « N' » représente le nombre de colonies de la suspension bactérienne ( $10^6$ ) et « n » est le nombre de colonies obtenues pour chaque dilution.

### 3.2.1. Ammonium quaternaire

Le tableau 10 représente la réduction logarithmique de l'ammonium quaternaire.

**Tableau 10** : Réduction logarithmique de l'ammonium quaternaire.

Conc* Souches	Conc1 (1/2)	Conc 2 (1/4)	Conc 3 (1/8)	Conc 4 (1/16)	Conc 5 (1/32)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> CIP A22	<b>5,04</b>	4,28	4,14	4,1	3,95
<i>Escherichia coli</i> CIP 53.33	4,35	4,19	3,99	3,91	3,64
<i>Staphylococcus aureus</i> CECT 59	<b>5,18</b>	4,97	4,83	4,72	4,61
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	4,95	4,58	4,13	4	3,77
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	4,15	3,8	3,75	3,68	3,5
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	4,14	4,1	4,08	3,79	3,76
<i>Serratia marcescens</i>	4,79	3,83	3,74	3,73	3,71
<i>Acinetobacter</i>	<b>5,18</b>	<b>5,04</b>	4,86	4,7	4,64

\*conc : concentration

D'après le tableau 10 ci-dessus, la concentration bactéricide de l'ammonium quaternaire est de (1/2) pour *Pseudomonas aeruginosa* CIP A22 et *Staphylococcus aureus* CECT 59 (5,04 ; 5,18) et est de (1/2) et (1/4) pour la souche hospitalière *Acinetobacter* (5,18 ; 5.04).

Par ailleurs, il n'existe aucune dose bactéricide pour les autres souches testées.

### 3.2.2. Dakin

Le tableau 11 représente la réduction logarithmique du dakin.

**Tableau 11 : Réduction logarithmique du Dakin.**

<b>Conc*</b> <b>Souches</b>	<b>Conc 1 (1/2)</b>	<b>Conc 2 (1/4)</b>	<b>Conc 3 (1/8)</b>	<b>Conc 4 (1/16)</b>	<b>Conc 5 (1/32)</b>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> CIP A22	4,31	4,16	3,64	3,63	3,33
<i>Escherichia coli</i> CIP 53.33	4,13	4,08	3,96	3,88	3,66
<i>Staphylococcus aureus</i> CECT 59	3,86	3,8	3,73	3,68	3,57
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	3,81	3,7	3,5	3,35	3,34
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<b>5,52</b>	3,89	3,61	3,52	3,39
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	3,98	3,62	3,57	3,49	3,42
<i>Serratia marcescens</i>	3,93	3,92	3,79	3,68	3,64
<i>Acinetobacter</i>	3,82	3,63	3,53	3,47	3,4

\*Conc : concentration

Selon le tableau 11, la concentration bactéricide du Dakin est de (1/2) pour la souche *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Par ailleurs, il n'existe aucune dose bactéricide pour les autres souches testées.

## 4. Discussion

### 4.1. Ammonium quaternaire

Nos résultats sont identiques à ceux obtenus par **Chaidez et al (2007)** qui ont rapporté que l'ammonium quaternaire est efficace sur *Staphylococcus aureus*. Tandis, qu'*Escherichia coli* était la souche la moins sensible.

Nos résultats sont également similaires à ceux obtenus par **Gottenbos (2001)** qui a rapporté une sensibilité des souches de référence *Staphylococcus aureus* ATCC 12600, *Staphylococcus epidermidis* HBH2 102 et de *Pseudomonas aeruginosa* AKI, vis-à-vis de l'ammonium quaternaire.

Cependant, les résultats de notre étude sont différents de ceux obtenus par **Singh et al (2002)** qui ont observé une inefficacité de l'ammonium quaternaire sur 50% des souches *Staphylococcus spp.* isolés et une sensibilité d'*Escherichia coli ATCC 11229* à l'ammonium quaternaire et dont les concentrations de tetradecyldiméthylbenzyl ammonium chloride (TAC) de 5 à 10 µg/ml inhibent la croissance de cette souche.

D'autre part, nos résultats ont montré que l'ammonium quaternaire n'est pas efficace sur toutes les *Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853*, *Staphylococcus aureus ATCC 25923* et *Escherichia.coli ATCC 25922* étudiées.

Ces résultats sont différents de ceux obtenus par **Hualpa et Ludeña (2015)**, qui ont démontré que l'ammonium quaternaire est efficace jusqu'à 5 à 10 minutes d'exposition à *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, à une concentration de 1 %.

Par ailleurs, nos résultats sont similaires aux résultats obtenus par **Elamrani (2014)** qui ont prouvé que le désinfectant à base de chlorure de didécylméthylammonium a été inefficace sur les souches de *Staphylococcus aureus* isolées à partir de la surface, de l'air des locaux, des étuves et des réfrigérateurs de l'unité d'hygiène alimentaire au laboratoire régional de diagnostic épidémiologique et d'hygiène du milieu de Fès, Maroc (LRDEHM).

Globalement, les résultats de notre étude démontrent que *Pseudomonas ATCC 27853*, *Escherichia coli ATCC 25922* et la souche isolée en milieu hospitalier (*Serratia marcescens*) sont les souches les moins sensibles à l'ammonium quaternaire et *Staphylococcus aureus CECT 59*, *Pseudomonas aeruginosa CIP A22* et *Acinetobacter* sont les souches les plus sensibles, ayant montrées des doses bactéricides. Ces résultats sont partiellement identiques à ceux obtenus par **Inga Anna Schroder Albin (1966)** qui a démontré que les souches à Gram<sup>-</sup> telles que : *E. coli 198*, *Pseudomonas. vulgaris*, *Pseudomonas. Aeruginosa*, *Pseudomonas. flourescens MI*, *Pseudomonas. fragi*, *Pseudomonas. saliciperda*, *Pseudomonas. syringae*, et *Serratia. Marcescens*, sont résistantes au même désinfectant testé, avec des degrés de résistance obtenus en ppm d'ammonium quaternaire élevés (250, 500, 2000, 2000, 1000, 500, 500 et 2000) et que *Staphylococcus aureus* (Gram<sup>+</sup>) est sensible à ce désinfectant avec un degré de résistance en ppm d'ammonium quaternaire de (10).

La différence dans les résultats obtenus, peut être due à la résistance de certaines espèces bactériennes aux désinfectants. En effet, selon **Russell (2000)**, les désinfectants à base d'ammonium quaternaire tels que le chlorure de benzalconium, le chlorure de cétypyridinium, le cetramide et le detizor, sont fréquemment utilisés dans les hôpitaux pour désinfecter et empêcher la propagation des agents pathogènes et cela suggère que l'utilisation

intensive de l'ammonium quaternaire pourrait générer une pression sélective et contribuer à l'apparition de microorganismes résistants à la désinfection.

En outre, d'après **Russell (1991)** les différences de composition de l'enveloppe bactérienne entre bactéries à Gram positif et à Gram négatif mais également au sein d'une même espèce bactérienne entraînent une sensibilité variable des micro-organismes aux agents désinfectants. Selon **Joly (1995)** la cible de la plupart des antiseptiques et des désinfectants étant la membrane cytoplasmique, la résistance intrinsèque peut donc être corrélée avec son degré de protection. Ainsi, la présence d'une enveloppe externe (bactérie à Gram négatif), d'une couche de cires (mycobactéries) ou de tuniques sporaes augmente généralement la résistance des cellules microbiennes aux désinfectants.

Selon les résultats observés dans notre étude, l'ammonium quaternaire n'est pas efficace sur la bactérie isolée en milieu hospitalier et résistante aux antibiotiques (*Serratia marcescens*). Effectivement, des phénomènes de résistance naturelle et acquise aux désinfectants ont été observés chez les bactéries dont les gènes de résistance sont généralement portés sur des plasmides (**Chopra, 1990**). Et selon (**Russell, 1997**), les microorganismes ayant acquis une résistance extra-chromosomique hébergent des plasmides R (facteurs de résistance) véhiculant des gènes dont le produit confère la résistance à un ou plusieurs antimicrobiens. Ce phénomène, fréquent et varié, a été largement étudié dans le cas des antibiotiques. Des plasmides induisant une augmentation de résistance à certains agents désinfectants ont également pu être mis en évidence chez des souches responsables d'infections nosocomiales.

#### **4.2. Dakin**

Nos résultats ont montré que le Dakin est inefficace sur la souche de référence *Staphylococcus aureus* CECT 59 et *Escherichia coli* CIP 53.30. Ces résultats sont différents des résultats obtenus par **Rossoni et Gaylarde (2000)** qui ont constaté que la concentration du Dakin (hypochlorite de sodium) (100 et 200 ppm) a pu réduire le nombre de cellules de *Staphylococcus aureus* (isolées à partir de carcasses de poulet) adhérentes à l'acier inoxydable de « 28,0 à 0,0 cellule », après 10 min d'exposition au produit à une température ambiante et de ceux obtenus par **Eriksson et al (2017)** qui ont rapporté que l'éradication des biofilms de *Staphylococcus aureus* (provenant de la peau lésionnelle de patients atteints de la dermatite atopique) in vitro a été observée dans des concentrations de dakin allant de 0,01% à 0,16% et la microscopie confocale à balayage laser. En plus, lorsque la peau humaine

à dermatite atopique a été soumise au Dakin (hypochlorite de sodium) dans un modèle in vivo, une dose de 0,04% a réduit les bactéries dérivées de cette peau

Cette différence dans les résultats observés dans notre étude, peut être due à la différence de concentrations du produit, le temps de contact et/ou la température ambiante.

En outre, nos résultats sont différents de ceux obtenus par **Sharma et Beuchat (2003)** qui ont démontré que le traitement avec une concentration de 100% de nettoyeurs contenant du NaOH ou du KOH et de l'hypochlorite de sodium (Dakin) a entraîné des réductions significatives d'*Escherichia coli O157:H7* (souche FRIK 816-3) obtenue auprès de Charles Kaspar à l'Université du Wisconsin, Madison.

Par ailleurs, nos résultats ont aussi démontré l'efficacité du Dakin sur *Staphylococcus aureus ATCC 25923* et son inefficacité sur les deux autres souches, *Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853* et *Escherichia coli ATCC 25922*.

Ces résultats sont identiques aux résultats obtenus par **Abdallah et Abakar (2017)**, qui après avoir testé l'efficacité de différentes concentrations (5%, 4%, 2,5% et 1,25%) du Dakin (d'hypochlorite de sodium) pendant les intervalles de temps suivants : (1 min, 3 min et 5 min), ont pu prouver que ce produit a été en mesure de promouvoir une réduction significative du nombre de *biofilm Staphylococcus aureus* isolées à partir de différents hôpitaux de l'Etat de Khartoum en fonction du temps d'exposition.

Cependant, nos résultats qui ont montré l'inefficacité du dakin sur la souche *Escherichia coli ATCC 25922* sont différents des résultats observés par **Eldaly et al (2017)**, qui ont démontré que la réduction de la souche de référence *Escherichia coli O157:H7* après contact avec le Dakin (hypochlorite de sodium) à 50 ppm pendant 20 minutes était de 0,53 log ufc/g (70,49 %).

En outre, nos résultats sont identiques aux résultats rapportés par **Suk-Nam Kang et al (2013)** qui ont prouvé que la souche *Escherichia coli KFRI836* (obtenue par l'institut coréen de recherche alimentaire) est peu sensible au Dakin (hypochlorite de sodium) à 0,5 %. En revanche, ils sont différents, des mêmes résultats observés par **Suk-Nam Kang et al (2013)** concernant *Pseudomonas aeruginosa KFRI252* et *Staphylococcus aureus KFRI240* (obtenue par l'institut coréen de recherche alimentaire) qui étaient significativement sensibles au dakin. Nos résultats confirment les observations enregistrées par **Mazzola et al (2006)**, qui démontrent que les bactéries à Gram-négatif sont plus résistantes que les bactéries à Gram positif à des agents tels que l'acide chlorhydrique, l'alcool éthylique et l'hypochlorite de sodium.

De plus, les résultats obtenus dans notre étude ont démontré la résistance des deux souches isolées en milieu hospitalier : *Serratia marcescens* et *Acinetobacter* vis-à-vis du Dakin.

Ces résultats sont différents de ceux obtenus par **Gomes et al (2016)** qui ont montré que l'inhibition de la croissance complète d'*Acinetobacter calcoaceticus* (isolé de l'eau potable) est produite avec du Dakin (NaOCl) à 125 mg/L.

Nos résultats sont également différents des résultats observés par **Wei-Lun Liu et al (2014)** qui ont enregistré dans une étude in vitro de l'IRAB (imipenem resistant *Acinetobacter baumannii*) provenant du Centre médical Chi Mei, campus de Liouying, l'hôpital régional situé dans le sud de Taiwan) immergée dans différentes concentrations de Dakin (hypochlorite de sodium) que 0,5 % de ce produit éradique l'IRAB après 30 secondes d'inoculation. Cependant, 0,08 % seulement réduit la charge bactérienne.

## Conclusion

Les résultats de notre étude nous ont permis de connaître le degré d'efficacité d'un antiseptique et d'un désinfectant utilisés en Algérie pour la désinfection des milieux hospitaliers et des plaies superficielles, sur différentes souches bactériennes.

Ainsi, l'ammonium quaternaire testé dans notre étude est efficace sur trois souches : *Pseudomonas aeruginosa* CIP A22, *Staphylococcus aureus* CECT 59 et *Acinetobacter* et inefficace sur toutes les autres souches testées.

Quant au dakin testé, il est efficace seulement sur la souche *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et inefficace sur toutes les autres souches.

D'après ces résultats, nous pouvons conclure que ces deux produits, ni sont pas bactériostatiques, ni efficaces (bactéricides) à 100% sur toutes les souches bactériennes et sont ainsi plus efficaces sur les bactéries à Gram positif que les bactéries à Gram-négatif.

Cette étude est très importante, car elle permet de déterminer les souches les plus sensibles à l'ammonium quaternaire et au dakin, et les concentrations efficaces afin de prévenir les infections dues aux différents micro-organismes et d'éviter l'apparition des phénomènes de résistance aux antibiotiques et aux désinfectants. Par conséquent, face aux problèmes thérapeutiques et de prévention des infections nous ne pouvons que recommander la rigueur et insister sur l'importance de la formation des personnels utilisateurs d'antiseptiques et désinfectants.

En outre, la résistance bactérienne à l'ammonium quaternaire et au Dakin de certaines souches isolées en milieu hospitalier, nous interpelle et nous oriente vers la recherche des gènes de résistance aux désinfectants.

## Références bibliographiques

**1. Abdallah WA ; Abakar MAA. 2017**

Effet de la chlorhexidine et de l'hypochlorite de sodium sur le biofilm de *Staphylococcus aureus*.

*J Prev Infect Control*; Vol. 3 No.2.

**2. Allion. A. 1<sup>er</sup> Juin 2004**

Environnement des bactéries et sensibilité aux biocides ; Mise au point d'une technique rapide pour déterminer *in situ* l'efficacité bactéricide d'agents antimicrobiens ; Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaires ; Pour l'obtention du grade de Docteur de l'ENSIA. Spécialité : Sciences Alimentaires ; 188 p.

**3. BECLIN. E. 2016**

Utilisation des antiseptiques en EMS, 8<sup>ème</sup> journée de et d'information, Jeudi 19 Mai 2016, centre hospitalier de Bethune, 24 p.

**4. Benmansour. N.2015.**

Contrôle de qualité d'un antiseptique de fabrication locale vendu en pharmacie : l'eau de Dakin, Université ABOU-BEKR BELKAID – Tlemcen, Pour l'obtention du diplôme de : MASTER EN CHIMIE, Option : Chimie Physique et Analytique, 59 p.

**5. Bocary. F. 2006.**

Evaluation de la prescription et l'utilisation des antiseptiques dans le service de chirurgie pédiatrique, Faculté de Médecine ; de Pharmacie et d'Odonto Stomatologie ; BAMAKO. 123 P.

**6. Bouaziz. A ;Boureni. A.R. 2013.**

Evaluation de l'efficacité bactéricide de deux désinfectants sur trois souches de référence ; Mémoire pour obtenir le diplôme de DOCTEUR VETERINAIRE ; 40 p.

**7. Bulletin d'information du CAPP**

(Contact Avis Pharmacologique et Pharmaceutique) ; N°46, juin 2007.

**8. Carencio. P. Juin 2017.**

Informations du réseau national de prévention des infections associées aux soins ; Bulletin CClin-Arlin ; 9 p.

**9. Chaidez. C; Lopez.J and Castro-delCampo.N. 2007.**

Quaternary ammonium compounds: an alternative disinfection method for fresh produce wash water; *Journal of Water and Health* ; p 329-333.

**10. Chopra I.1990.**

Bacterial resistance to disinfectants, antiseptics, and toxic metal ions. *Soc Appl Bacteriol Tech Ser* 27,45–64.

**11. Dewilde-Blanc. NIJ ; 2002.**

Les antiseptiques : substituts aux antibiotiques en médecine vétérinaire, in école nationale vétérinaire D'Alfort, la faculté de médecine de Créteil. Pour obtenir le diplôme de : DOCTORAT VETERINAIRE, 116 p.

**12. Dorson. M ; Michel. C. 20 February 1987.**

Evaluation de l'efficacité de cinq ammoniums quaternaires sur les principaux virus et bactéries pathogènes pour les salmonidés ; INRA, Laboratoire d'Ichtyopathologie, Route de Thiverval, 78850 Thivervab-Grignon ; France ; p 61-66.

**13. Elamrani. S. 2014.**

Evaluation de l'activité antibactérienne de divers produits sur les germes isolés de l'environnement du LRDEHM de la ville de Fès ; Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Faculté Des Sciences et Techniques ; Pour obtenir le diplôme de Licence Sciences et Techniques (LST) ; 71 p.

**14. Eldaly.E.A ; Elshater.M.A ; Hussein.M.A and SharafEldin.A.M. 2017.**

Efficacy of warm water, Sodium hypochlorite and Trisodium phosphate on *E.coli*O157: H7 and *Salmonella typhimurium*artificiallyinoculated in *Telapianilotica*fillets. *Research Journal of Food Science and Nutrition*;Volume 2. Page 15-19.

**15. ENOR (2006):** Norma UNE-EN 1040. Antisépticos y desinfectantes químicos. Actividad bactericida básica. Método de ensayo y requisitos (fase 1). AENOR. Madrid.

**16. Eriksson. S; Van der Plas. M.J.A; Mörgelin. M; Sonesson. A. 2017.**

Antibacterial and antibiofilmeffects of sodium hypochlorite against *Staphylococcus aureus* isolatesderivedfrom patients withatopicdermatitis. *British Journal of Dermatology*, p 513-521.

**17. Espigares E, Bueno A, Fernández-Crehuet M y Espigares M.2003.**

Efficacy of someneutralizers in suspensionstests determiningtheactivity of disinfectants. *Journal of Hospital Infection* 55, 137–140.

**18. Gautier. C; Boyer. F; Castel. O ; Couquet. H ; Larroude. P ; Lasheras-Bauduin. A, Vaudel. Gomes.I.B ; Simões.M ; Simões.L.C. 2016.**

The effects of sodium hypochlorite against selected drinking water-isolated bacteria in planktonic and sessile states; *Science of the Total Environment*; Pages 40–48.

**19. Gottenbos. B ; Henny C. van der. M ; Klatter. F ; Nieuwenhuis. P and Busscher. H.J. 2001.**

The development of antimicrobialbiomaterial surfaces; In *vitro* and *in vivo* antimicrobialactivity of covalentlycoupledquaternary ammonium silane coatings on silicone rubber ;University of Groningen; 100 p.

**20. Hancock R.E.W. 1991.**

Microbial Cell Surface Architecture. In *Microbial Cell Surface Analysis : Structural and Physicochemical Methods*, eds, pp 21-59.

**21. Hancock R.E.W. 1998.**

Resistance Mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* and other Nonfermentative Gram-Negative Bacteria. *Clinical Infection Disease*, 27 (suppl 1), pp S93-S99.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11028962>

**22. Hualpa. D and Ludeña. F. 2015.**

Evaluation Germicidal of Disinfectants on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*; *Journal of Bacteriology & Parasitology* ; 6: 232.

**23. Inga Anna Schroder Albin. Juin 1996.**

Effect of quaternary ammonium compounds on bacteria: comparison of sensitive and resistant strains of the same species ; Oregon State University ; Pour obtenir le diplôme de : MASTER OF SCIENCE ; 83 p.

**24. Joly. B.1995.**

La résistance microbienne à l'action des antiseptiques et désinfectants. Dans : *antiseptie et désinfection* ; Editions Eska, pp 52-65.

**25. Jones M.V. Herd T.M. and Christie H.J. 1989.**

Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* amphoteric and quaternary ammonium bicides.

*Microbios*, 58, pp 49-61.

**26. Khirani Selma, Soltani Sarra. 2015.**

Evaluation de la résistance de huit souches bactériennes isolées à partir de produits de la mer par l'eau de javel, à l'Institut des Sciences Vétérinaires d'El-Khroub ; Pour obtenir le diplôme de docteur vétérinaire; 48 p.

**27. KHLIL. N ; AUSALAH. N ; KISSA.J. Mercredi 15 Décembre 1999.**

Les antiseptiques en parodontie, Service de Parodontologie ; Faculté de Médecine Dentaire de Casablanca ; le courrier du dentiste.

[www.lecourrierdudentiste.com/dossiers-du-mois/les-antiseptiques-en-parodontie.html](http://www.lecourrierdudentiste.com/dossiers-du-mois/les-antiseptiques-en-parodontie.html).

16/30/2018.

**28. Labayle. D. 2001.**

« Guide Pharmaco » ; édition lamare, Paris ; 568 p.

**29. Langsrund S; Sundheim G. and Borgmann-Strahsen R. 2003.**

Intrinsic and acquired resistance to Quaternary Ammonium compound. In food-related *Pseudomonas spp.*

*Journal of Applied Microbiology*, 95, pp 874-882.

**30. Loughlin M.F; Jones M.V. and Lambert P.A. 2002.**

*Pseudomonas aeruginosa* cells adapted to Benzalkonium show resistance to other membrane-active agents but not to clinically relevant antibiotics.

*Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 49, pp 631-639.

**31. Loughlin M.F, Jones M.V and Lambert P.A. 2002.**

*Pseudomonas aeruginosa* cells adapted to benzalkonium show resistance to other membrane membrane-active agents but not to clinically relevant antibiotics.  
*Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 49, pp631-639.

**32. Ludovic, 2009.**

Eau de Dakin : composition d'un antiseptique pour nettoyer plaies et muqueuses, web-libre.org, lundi 29 juin 2009. <http://www.web-libre.org/dossiers/eau-dakin,7011.html>.  
08/03/2018.

**33. Lundén J ; Autio T ; Markkula A ; Helström S and Korkeala H. 2003.**

Adaptative and cross-adaptative response of persistent and non-persistent *Listeria monocytogenes* strains to disinfectants.  
*International Journal of Food Microbiology*, 68, pp 4194-4200.

**34. Lyonnet. F.2018**

IDE hygiéniste EOH CH Roanne  
Antiseptiques et Désinfectants ; 59 p.

**35. Maillard.JY. 2005.**

Antimicrobial biocides in the health care environment. Efficacy, usage, policies, and perceived problems.  
*Therapeutics and Clinical Risk Management* 2005;1(4)307-320.

**36. Mazzola PG, Martins AM, Penna TC. (2006).**

Chemical resistance of the gram-negative bacteria to different sanitizers in a water purification system. *BMC Infect Dis.* 6:131

**37. Méchin L ; Dubois-Brissonnet F ; Heyd B. and Leveau J.Y. 1999.**

Adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 to didecyl dimethyl ammonium bromide induces changes in membrane fatty acid composition and in resistance of cells.  
*Journal of Applied Microbiology*, 86, pp 859-866.

**38. Neidhardt F.C ; Ingraham J.L. et Schaechter M.1994.**

Physiologie de la cellule bactérienne : une approche moléculaire. Ed ; Masson, 487p.

**39. Placet-Thomazeau.N. 2001.**

Le bon usage des antiseptiques ; groupe de travail CCLIN Sud-Ouest ; version n°1-juin 2001.  
58 P.

**40. Reverdy M.E. 1995a.**

Les ammoniums quaternaires. *Antiseptie et désinfection*, Fleurette J. et Freney J. et Reverdy M.E ; eds ; Editions Eska, 174-198.

**41. Rossoni. EM et Gaylarde. CC. 2000.**

Comparaison de l'hypochlorite de sodium et de l'acide peracétique comme agents désinfectants pour les surfaces de traitement des aliments en acier inoxydable utilisant la microscopie à épifluorescence.

*Int J Food Microbiol* ; 61 (1) : 81-5.

**42. Russel A.D. 1997.**

Plasmids and bacterial resistance to biocides.  
*Journal of Applied Microbiology* ; 82 ; 155-165.

**43. Russel A.D. 1991.**

Principles of Antimicrobial Activity. In : *Desinfection, Sterilization and Preservation*. Block S.S ; ed ; Lea and Febiger, pp 29-58.

**44. Russell, A. D. 2000**

Do biocides select for antibiotic resistance?  
*Journal Pharmacy and Pharmacology* 52, 227–233.

**45. Sakagami Y ; Yokoyama H ; Nishimura H ; Ose Y and Tashima T. 1989.**

Mechanism of Resistance to Benzalkonium Chloride by *Pseudomonas aeruginosa*.  
*Applied and Environmental Microbiology*; 55; pp 2036-2040.

**46. Sautter. A.2004.**

Antiseptiques et désinfectants, cours infirmières de salle d'opération. Lignes directrices pour les activités des infirmières en salle d'opération. Ordre des infirmières et infirmiers du Québec. 50 p.

**47. Sharma.M etBeuchatL.R. 2003.**

Sensibilité d'*Escherichia coli* O157 : H7 aux nettoyants alcalins disponibles dans le commerce et à la résistance subséquente à la chaleur et aux désinfectants ; Medline Google Scholar, Société américaine de microbiologie, <http://aem.asm.org/content/70/3/1795.full>

**48. Sheikh W.**

Development and validation of a neutralizer system for in Vitro evaluation of some antiseptics.  
*Antimicrobial Agents Ch* 1981; 19: 425-434.

**49. Singh, M. S., Heir, E., Leegaard, T., Wiger, K. & Holck, A. 2002.**

Frequency of disinfectants resistance genes and genetic linkage with  $\beta$ -Lactamase transposon Tn552 among clinical Staphylococci; *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 46, 2797–2803.  
*Society for Applied Bacteriology, Technical* 27: 45-64.

**50. Suk-Nam Kang; Kui-Jin Kim; Joung-Hyun Park ; Kyung-Tack Kim and Ok-Hwan Lee. 2013.**

Effect of antimicrobial activity of sodium hypochlorite and organic acids on various food borne pathogens in Korean ginseng root;  
*African Journal of Microbiology Research*; Vol. 7(22), pp. 2724-2729.

**51. Tabata A ; Nagamune H ; Maeda T ; Murakami K ; Miyake Y and Kourai H. 2003.**

Correlation between Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* Quaternary Ammonium Compounds and Expression of Outer Membrane Protein OprM.  
*Antimicrobiol Agents and Chemotherapy*; 47; pp 2093-2099.

**52. Thomas L ; Maillard J-Y ; Lambert R.J.W and Russel A.D. 2000.**

Development of resistance to Chlorhexidine diacetate in *Pseudomonas aeruginosa* and the effect of a « residual » concentration.  
*Journal of hospital infection*; 46, pp 297-303.

**53. To M.S; Favrin S; Romanova N and Griffiths M. 2002.**

Postadapational Resistance to Benzalkonium Chloride and Subsequent Physicochemical Modification of *Listeria monocytogenes*.  
*Applied and environmental Microbiology*, 68, pp 5258-5264.

**54. Wei-Lun Liu ; Hsueh-Wen Liang ; Mei-Feng Lee ; Lin Hsin-Lan ; Yu-Hsiu Lin ; Chi-Chung Chen ; Ping-Chin Chang ; Chih-Cheng Lai ; Yin-Ching Chuang et Hung-Jen Tang. 2014.**

L'impact d'une désinfection terminale inadéquate sur une éclosion d'*Acinetobacter baumannii* résistant à l'imipénème dans une unité de soins intensifs ; *Plos one*  
*A Peer-Reviewed, Open Access Journal* ; 9 (9) ;  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4177873/>.

## Annexe 1

### 1. Composition du milieu de culture « Chapman » :

Sa composition, en grammes par litre d'eau distillée, est la suivante :

<b>Peptones</b>	<b>11,0 g</b>
<b>Extrait de viande</b>	<b>1,0 g</b>
<b>Chlorure de sodium</b>	<b>75 g</b>
<b>Mannitol</b>	<b>10,0 g</b>
<b>Rouge de phénol</b>	<b>0,025 g</b>
<b>Agar</b>	<b>15 g</b>
<b>Eau distillée (qsp)</b>	<b>1000 mL</b>

### 2. Composition du milieu de culture « Gélose nutritive » :

Composants :	Concentration :
Peptone	6 g/l
Extrait de bœuf	1 g/l
Extrait de levure	2 g/l
Chlorure de sodium	5 g/l
Agar	14 g/l

### 3. Composition du milieu de culture « Héktoen » :

Peptone pepsique de viande .....	12g
Extrait autolytique de levure .....	3g
Lactose .....	12g
Saccharose .....	12g
Salicine .....	2g
Sels biliaires .....	9g
Chlorure de sodium .....	5g
Thiosulfate de sodium .....	5g
Citrate ferrique ammoniacale .....	1.5g
Bleu de Bromothymol .....	65mg
Fuchsine acide .....	40mg
Agar agar bactériologique .....	13.5g

**4. Composition du milieu de culture « Gélose lactosée bilée au cristal violet et au rouge neutre (VRBL) :**

Composition (g) pouvant être modifiée pour 1 litre de milieu :

Peptone pepsique de viande .....	7,0.
HiVeg peptone .....	7,0 (Himedia HiVeg).
Extrait autolytique de levure .....	3,0.
Lactose .....	10,0.
Sels biliaires .....	1,5.
Chlorure de sodium .....	5,0.
Rouge neutre .....	0,030.
Cristal violet .....	0,002.
Agar agar .....	12,0 (Biokar) / 15,0 (Difco - Himedia - Himedia HiVeg).

## تقييم فعالية مطهر الأمونيوم الرباعي ومعقم الداكين على ثمانية سلالات بكتيرية

ملخص:

التطهير والتعقيم هما عمليتان ذات نتائج مؤقتة تسمح بالقضاء على الكائنات الدقيقة أو قتلها و/أو تعطيل الفيروسات غير المرغوب فيها التي تحملها الوسائط الحية أو الأنسجة الخاملة الملوثة، وفقا للأهداف المحددة. نتيجة هذه العمليات متعلقة بالكائنات الدقيقة و/أو الفيروسات المتواجدة أثناء العملية.

الهدف من دراستنا هو تقييم فعالية مطهر الأمونيوم الرباعي ومعقم الداكين على ثلاثة سلالات بكتيرية مرجعية:

*Staphylococcus aureus* CECT, *Pseudomonas aeruginosa* CIP A22, *Escherichia coli* CIP 53.30

59, ثلاثة سلالات حساسة تجاه المضادات الحيوية: *Escherichia coli* ATCC 25922:

*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

وسلالتان معزولتان من بيئة المستشفى:

*Serratia marcescens*, *Acinetobacter*

التقنية المستعملة هي الطريقة الموصى بها من طرف المعيار أفنور ان اف تي 72\_150 (1995)، التي تتطلب استعمال محايد، مطهر و بكتيريا.

نتائجنا أظهرت أن تركيز الأمونيوم الرباعي المبيد للبكتيريا هو (2/1) بالنسبة

(5.18, 5.04) *Staphylococcus aureus* CECT 59, *Pseudomonas aeruginosa* CIP A22

وهو (2/1) و(4/1) بالنسبة لسلالة المستشفى (5.18, 5.04). من جهة أخرى، لا يوجد أي تركيز قاتل بالنسبة للسلالات المجربة الأخرى.

إضافة إلى ذلك، لوحظ تركيز الداكين القاتل للبكتيريا هو (2/1) بالنسبة

*Staphylococcus aureus* ATCC25923

من جهة أخرى، لا يوجد أي تركيز قاتل بالنسبة للسلالات المجربة الأخرى.

هذه النتائج مكننا من تحديد فعالية المطهر والمعقم المجربين.

هذين المنتجين ليست لهما فعالية كبيرة على كل الكائنات الدقيقة التي بإمكانها أن تسبب العدوى وهما فعلا أكثر على البكتيريا إيجابية الغرام. معرفة التركيز والجرعة القاتلة لكل معقم و مطهر مستعمل يمكن أن تقي من العدوى التي تسبب بها الكائنات الدقيقة المختلفة وتجنب ظهور ظاهرة مقاومة المضادات الحيوية و المطهرات.

### الكلمات الرئيسية:

كائنات دقيقة

مطهر

معقم

الأمونيوم الرباعي

الداكين



# Evaluation of the efficiency of a quaternary ammonium disinfectant and Dakin antiseptic on eight bacterial strains

## Summary

Disinfection and antisepsis are operations with momentary results that eliminate or kill microorganisms and/or inactivate unwanted viruses carried by inert media or contaminated living tissue, according to the objectives set. The result of these operations is limited to microorganisms and/or viruses present at the time of the operation.

The objective of our study is to evaluate effectiveness of quaternary ammonium disinfectant and Dakin antiseptic on three reference strains: *Escherichia coli* CIP 53.30, *Staphylococcus aureus* CECT 59 and *Pseudomonas aeruginosa* CIP A22, three reference strains sensitive to antibiotics: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and two antibiotic resistant strains isolated in a hospital: *Serratia marcescens* et *Acinetobacter*.

The technique used is the method recommended by the standard Afnor NF T72-150 (1995), requiring the use of a neutralizer, a disinfectant and bacteria.

Our results showed that the bactericidal concentration of quaternary ammonium is (1/2) for *Pseudomonas aeruginosa* CIP A22 and *Staphylococcus aureus* CECT 59 (5,04 ; 5,18) and is (1/2) and (1/4) for the hospital strain *Acinetobacter* (5,18 ; 5,04).

Moreover, there is no bactericidal dose for the others strains tested.

In addition, it has been noted that the bactericidal concentration of Dakin is (1/2) for *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Moreover, there is no bactericidal dose for the others strains tested.

These results allowed us to determine the effectiveness of the disinfectant and antiseptic tested. Both products are not highly effective on all micro-organisms that can cause infections and are more effective on Gram-positive bacteria. The knowledge of bactericidal concentrations and doses of each antiseptic and disinfectant used can prevent infections caused by different micro-organisms and prevent the appearance of antibiotic and disinfectant resistance phenomena.

## Keywords:

Micro-organisms

Disinfectant

Antiseptic

Quaternary ammonium

Dakin

Resistance

<b>Noms et Prénoms :</b> Chouiter Menal	<b>Date de soutenance :</b> 01/07/2018	
<b>Thème :</b> Evaluation de l'efficacité d'un désinfectant « ammonium quaternaire » et d'un antiseptique « Dakin » sur huit souches bactériennes.		
<p><b>Résumé :</b></p> <p>La désinfection et l'antisepsie sont des opérations aux résultats momentanés permettant d'éliminer ou de tuer les micro-organismes et/ou d'inactiver les virus indésirables portés par des milieux inertes ou tissus vivants contaminés, en fonction des objectifs fixés. Le résultat de ces opérations est limité aux micro-organismes et/ou virus présents au moment de l'opération.</p> <p>L'objectif de notre étude est d'évaluer l'efficacité d'un désinfectant « Ammonium quaternaire » et d'un antiseptique « Dakin » sur trois souches de référence sensibles aux désinfectants : <i>Escherichia coli</i> CIP 53.33, <i>Staphylococcus aureus</i> CECT 59 et <i>Pseudomonas aeruginosa</i> CIP A22, trois souches de référence sensibles aux antibiotiques : <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922, <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 et <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 et deux souches isolées en milieu hospitalier résistantes aux antibiotiques : <i>Serratiamarcescense</i> et <i>Acinetobacter</i>.</p> <p>La technique utilisée est la méthode recommandée par la norme Afnor NF T72_150 (1995), nécessitant l'utilisation d'un neutralisant, d'un désinfectant et de bactéries.</p> <p>Nos résultats ont démontré que la concentration bactéricide de l'ammonium quaternaire est de (1/2) pour <i>Pseudomonas aeruginosa</i> CIP A22 et <i>Staphylococcus aureus</i> CECT 59 (5,04 ; 5,18) et est de (1/2) et (1/4) pour la souche hospitalière <i>Acinetobacter</i> (5,18 ; 5.04). Par ailleurs, il n'existe aucune dose bactéricide pour les autres souches testées.</p> <p>De plus, il a été noté que la concentration bactéricide du Dakin est de (1/2) pour <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923. Par ailleurs, il n'existe aucune dose bactéricide pour les autres souches testées.</p> <p>Ces résultats nous ont permis de déterminer l'efficacité du désinfectant et de l'antiseptique testés. Ces deux produits n'ont pas une grande efficacité sur tous les micro-organismes pouvant entraîner des infections et sont plus efficaces sur les bactéries à Gram positif. La connaissance des concentrations et des doses bactéricides de chaque antiseptique et désinfectant utilisés peut prévenir les infections dues aux différents micro-organismes et éviter l'apparition des phénomènes de résistance aux antibiotiques et aux désinfectants.</p>		
<p><b>Mot clés :</b></p> <p>Micro-organismes, désinfectant, antiseptique, ammonium quaternaire, dakin, résistance</p>		
<p><b>Laboratoires :</b></p> <p>Laboratoire de Gestion de la santé et productions animales (GSPA).</p>		
<p><b>Président de jury :</b> Mr Bererhi El-Hacene</p> <p><b>Rapporteur :</b> M<sup>lle</sup> Dib Amira Leila</p> <p><b>Examinatrice :</b> M<sup>me</sup> Youcef Ali Mounia</p>	<p><b>Professeur</b></p> <p><b>Maitre de conférences « A »</b></p> <p><b>Maitre de conférences « B »</b></p>	<p><b>UFM, Cne 1</b></p> <p><b>UFM, Cne 1</b></p> <p><b>UFM, Cne 1</b></p>