



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département :Microbiologie

قسم:الميكروبيولوجيا

Mémoire représenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : *Ecologie Microbienne*

Intitulé :

Action de quelques antiseptiques sur certaines souches microbiennes potentiellement pathogènes.

Présenté et soutenu par: **TEBBOUNE INES**
AROUI ABIR

le : 02 /07/2018

Jury d'évaluation :

Présidente du jury:Mlle.**ABDELAZIZE Wided** (MAA - UFM Constantine 1).

Encadreur : Mme. **MERGOUD Lilia** (MAA -UFM Constantine 1).

Examinatrice : Mme. **ZERMANE Fériel**(MAA-UFM Constantine 1).

Année universitaire

2017-2018.

REMERCIEMENTS

Louange à Dieu, le clément, le miséricordieux le très miséricordieux de nous avoir guidé et toujours soutenu, durant toute notre vie et nos années d'étude.

Paix et salut soit sur son prophète Mohamed (SAW) qui sera toujours pour nous un modèle.

Au terme de la réalisation de ce mémoire, nous tenons à remercier :

Notre encadreur : Mme.MERGOUD Lilia, maitre assistante à la faculté des sciences de la nature et de la vie, université Constantine 1, Pour nous avoir dirigé et supervisé ce modeste travail, ainsi que pour sa patience avec nous, son aide, et sa grande gentillesse, ses conseils précieux et sa disponibilité entière toute au long de période de travail et aussi particulièrement la dernière année universitaire ;

Melle. ABDELAZIZE wided pour avoir aimablement accepté de présider le jury de soutenance ;

Mme. ZERMANE Fériel pour avoir aimablement accepté d'examiner le présent mémoire.

Ces remerciements ne seraient pas complets sans associer toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Merci à tous

Dédicace

*Je dédie ce modeste travail avec toute ma gratitude :
À mon père Mohamed*

Qui m'a transmise la vie, l'amour, le courage,

*À toi chère Maman Fouzia avec ma profonde gratitude pour tous ses
sacrifices, consentements appuis et ses espoirs.*

*À mes sœurs : Radia, Sonia, Dallel
À mes frères : Halim, Khaled*

*À toute ma famille loin et proche surtout Raid, Hassiba, Souad, Inès,
Amel, Aya, Houcine, Ghani, Nourdine.*

*À tous mes amis proches : Rania, Amira, Sara, Chaima, Nesrine,
Selma.*

*Et à qui je n'oublie pas à mon binôme, ma chère **ABIRA** avec qui j'ai
partagé la réalisation de ce travail.*

INES

Dédicace

Dédicace

Avec un énorme plaisir, je dédie ce modeste travail à mes très chers parents Djamel et Leïla, source de tendresse, de noblesse et d'amour, qui ont toujours été là pour moi, et qui m'ont donnée un magnifique modèle de labeur et de persévérance. J'espère qu'ils trouveront dans ce travail toute ma reconnaissance et tout mon amour.

*A ma chère sœur Selsabil pour son soutien moral,
Mon très cher frère Cumar et je vous souhaite beaucoup de réussite et de bonheur.*

Je dédie particulièrement à tous mes oncles et tantes, cousines et cousins et toute la famille AROUI.

*Je ne saurai terminer sans citer mes très chères amies : Mehdi,
Mouna, Amira, Rayene, Aya.*

Sans oublier mon binôme ma chère INES avec qui j'ai partagé les moments les plus difficiles pour la réalisation de ce mémoire.

*Et toujours je pris mon Dieu de les protéger.
Enfin je le dédie à tous mes amis que je n'ai pas cités, et à tous ceux qui me connaissent.*

A tous ceux que j'aime.

ABIR

Tables des Matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des photos

Liste des abréviations

Synthèse bibliographique

Introduction.....1

Chapitre 1 : étude bibliographique

1. Définitions.....	3
1.1. Antiseptique -antisepsie.....	3
1.2. Antibiotique.....	3
2. Objectifs d'utilisation des antiseptiques.....	4
3. Historique.....	5
4. Spectre d'activité théorique des antiseptiques.....	6
5. Classification des principales familles des antiseptiques.....	7
6. Critères de choix d'un bon antiseptique.....	16
7. Les facteurs influences l'activité des antiseptiques.....	17
7.1. La concentration.....	17
7.2. La température.....	17
7.3. Le temps de contact.....	17
7.4. L'acidité.....	18
8. Règles d'utilisations des antiseptiques.....	18
9. Modes d'actions des antiseptiques	18
10. Résistances bactériennes aux antiseptiques.....	20
11. Résistances bactériennes aux antibiotiques.....	21
13. Souches bactériennes.....	22
14. Souches fongiques.....	25

Chapitre 2 : matériels et méthodes

1. Lieu et durée du pratique.....	28
2. Objectif.....	28
3. Matériels biologique.....	28
4. Milieux de cultures	29
5. Réactivation des souches bactériennes	29
6. Réactivations souches des souches fongiques.....	29

7. Détermination de la sensibilité aux antiseptiques

Pour les espèces bactériennes.....30

7.1. Matériels et méthodes utilisées	30
7.1.1. Milieu de culture.....	30
7.1.2. Matériel chimique.....	30
7.1.3. Préparation des disques des antiseptiques.....	30
7.1.4. Technique de l'antiseptogramme.....	31
7.1.5. Dépôts des disques des antiseptiques.....	32

8. Détermination de la sensibilité aux antiseptiques

Pour Les champignons filamenteux.....29

8.1. Matériels et méthodes utilisées.....	29
8.1.1. Milieu de culture.....	29
8.1.2. Techniques de l'antiseptogramme	30
8.1.3. Préparation des témoins.....	30
9. Antibiogramme.....	33

Chapitre 3 : Résultats et Discussions

1. Sensibilité aux antiseptiques	35
1.1. Les bactéries à Gram positif.....	35
1.2. Les bactéries à Gram négatif.....	40
1.3. Les champignons filamenteux et <i>Candida albicans</i>	44
2. L'antibiogramme.....	48
Conclusion.....	54

Références bibliographiques.

Annexes

Liste des figures

Figure	Titre de figure	Page
01	Structure histologique de la peau	04
02	La Structure chimique de Polyvidone.	10
03	La Structure chimique de Chlorhexidine.	11
04	Structure chimique de la Noxytioline.	13
05	Structure chimique deChlorure de Benzalkonium.	13
06	Structure chimique de Triclocarban.	14
07	Structure chimique deL'Hexamidine.	15
08	Structure de la paroi des bactéries à Gram+ (A) et des bactéries à Gram-(B)	19
09	Site d'action des molécules antiseptiques et désinfectantes chez les bactéries	20
10	Structure de la paroi des Gram positifs.	21
11	Structure de la paroi des Grams négatifs.	21
12	Schéma illustrant le développement de la résistance aux antibiotiques	23
13	Les disques de papier Wattman avant et après stérilisation.	29
14	Exempledepréparation des disques de l'eau de javel et l'éosine aqueuse.	29
15	Préparation des disques d'antiseptiques.	29
16	Pourcentage sensibilités au Povidoneiodée.	34
17	Pourcentage Sensibilité des bactéries à l'Eosine aqueuse.	35
18	Pourcentage de sensibilité au Vitabact.	35
19	Les zones d'inhibition des antiseptiques testés pour <i>Bacillus subtilis</i> .	37
20	Les zones d'inhibitions des antiseptiques testés pour <i>Staphylococcus aureus</i> .	37
21	Les zones d'inhibitions des antiseptiques testés pour <i>Staphylococcus sp</i>	37
22	Les zones d'inhibition des antiseptiques testés pour <i>Proteus mirabilis</i> .	40
23	Les zones d'inhibition des antiseptiques testés pour <i>Escherichia coli</i> (souche 1).	40

24	Les zones d'inhibition des antiseptiques testés pour <i>Escherichia coli</i> (souche 2).	40
25	Les zones d'inhibition des antiseptiques testés pour <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	41
26	Les zones d'inhibition des antiseptiques testés pour <i>Enterobacter</i> .	41
27	Les zones d'inhibitions des antiseptiques testés pour <i>Klebsiella pneumoniae</i> .	41
28	Résultats d'antiseptogramme de <i>Candida albicans</i> .	43
29	Pourcentage desensibilité des souches fongiques au Dakin.	43
30	Pourcentage de sensibilité des souches fongiques à l'Eau oxygénée et au Povidone iodée.	43
31	Pourcentage de sensibilité des souches fongique à l'Eosine aqueuse, Alcool chirurgical, et le Vitabact.	44
32	La croissance mycélienne de <i>Fusarium</i> spen présence et en absence d'ATS.	45
33	La croissance mycélienne d' <i>Aspergillus niger</i> en présence et absence d'ATS.	46
34	Profil de sensibilité des souches testées aux antibiotiques.	48
35	Résultats de l'antibiogramme d' <i>Enterobacter</i> .	49
36	Résultats de l'antibiogramme de <i>Klebsiella pneumoniae</i> .	50

Liste Des tableaux

Tableau	Titre de tableau	Page
01	La comparaison entre les antibiotiques et les antiseptiques	04
02	Spectre d'activité des antiseptiques	07
03	Les différentes espèces microbiennes utilisées dans ce travail	28
04	Les concentrations des disques d'antiseptiques (ATS) testés.	28
05	profil de sensibilité aux ATS pour les bactéries Gram+.	33
06	profil de sensibilité aux ATS pour les bactéries à Gram ⁻ .	38
07	Profil de sensibilité des champignons aux antiseptiques	42
08	Les résultats de l'antibiogramme pour toutes les souches testées.	47

Liste Des abréviations

AES	Accident Exposition au Sang
AMC	AMOXICILLINE
AMM	Autorisation de mise sur le marché
ATM	AZTREOMAN
ATS	Antiseptique
CAZ	CEFTAZIDIME
CT	COLISTINE
CTX	CEFOTAXIME
CZ	CEFAZOLINE
E	ERYTHROMYCINE
ETP	ERTAPENEM
FOS	FOSFOMYCINE
FOX CTX	CEFOXITINE CEFOTAXIME
GN	GENTAMICINE
NA	ACIDE NALIDIXIQUE
ORL	Oto-rhino-laryngologie.
PIP	PIPERACILLINE
PVP-I	Polyvidone iodée
PRL	PEPIRACILLINE
SXT	SULFAMETHOXAZOLE+TRIMETOPRIME
TE	TETRACYCLINE
TIC	TICARCILLINE

Résumé :

Dans le but de contrôler la validité de 7 antiseptiques (alcool chirurgical, éosine aqueuse, povidone iodé, eau oxygénée, vitabact, dakin et saforelle), nous avons testé leur activité vis-à-vis sept souches bactériennes pathogènes ou potentiellement pathogènes (*E.coli*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus sp*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*) et envers cinq souches fongiques (*Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Fusariumsp*, *Alternariaalternata* et *Penicillium chrysogenum*) plus une levure *Candida albicans*.

La méthode appliquée « l'antiseptogramme » est similaire à celle de l'antibiogramme pour les bactéries. Mais celle impliquée pour les moisissures est la comparaison entre les diamètres des colonies en présence et en absence d'ATS.

Les résultats obtenus montrent que l'eau oxygénée est la plus efficace du fait qu'elle possède à la fois une activité bactéricide et fongistatique, ensuite elle vient lapovidone iodée qui a aussi un spectre large d'activité. Cependant les autres ATS ont une activité variable.

En consultant le profil de résistance des bactéries testées, il ressort que la plupart des cas de la résistance aux ATB est accompagnée d'une résistance aux ATS, pour d'autres bactéries ce n'est plus le cas (*E. coli* et *Enterobactersp*). En effet, la possibilité que l'exposition continue de microorganismes aux ATS puisse mener à l'émergence de souches résistantes reste une source de préoccupations

Mots clés : Antiseptique, antibiotique, résistance, bactérie, champignons.

Summary

In order to check the validity of 7 antiseptics (surgical alcohol, aqueous eosin, povidone iodine, hydrogen peroxide, vitabact, dakin and saforelle), we tested their activity against seven bacterial strains pathogenic or potentially pathogenic (*E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus sp*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*) and five fungal strains (*Aspergillusfumigatus*, *Aspergillusniger*, *Fusariumsp*, *Alternariaalternata* and *Penicilliumchrysogenum*) plus a yeast *Candida albicans*.

The method applied "the antiseptogram" is similar to that of the antibiogram for bacteria. But the one involved for mold is the comparison between the diameters of the colonies in the presence and absence of ATS.

The results obtained show that oxygenated water is the most effective because it has both a bactericidal and fungistatic activity, then it comes povidone iodine which also has a broad spectrum of activity. However, the other ATSs have a variable activity.

By consulting the resistance profile of the bacteria tested, it appears that most cases of resistance to ATB is accompanied by resistance to ATS, for other bacteria this is no longer the case (*E. coli* and *Enterobacter sp.*). Indeed, the possibility that continuous exposure of microorganisms to ATS may lead to the emergence of resistant strains remains a source of concern.

Key words: Antiseptic, antibiotic, resistance, bacteria, fungi.

الملخص

مطهرات (Alcool chirurgical, Eosine aqueuse, Povidone iodé, Eau oxygénée, Vitabact, Dakin et Saforelle) من اجل التحقق من نجاعة سبع

قمنا باختبار نشاطه ضد سبع سلالات بكتيرية مسببة للأمراض او يحتمل ان تكون ممرضة

(*E.coli*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus sp*,
Pseudomonas aeruginosa, *Bacillus subtilis*)

و ضد خمس سلالات فطرية

(*Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Fusarium sp*, *Alternaria alternata* et
Penicillium chrysogenum)

بالإضافة الى الخميرة *Candida albicans*

الطريقة « L'antiseptogramme » تشبه طريقة «L'antibiogramme» للبكتيريا لكن الطريقة المطبقة
المطبقة

بالنسبة لل moisissures تعتمد على المقارنة بين اقطار المستعمرات في وجود او غياب ATS.

تظهر النتائج المتحصل Eau oxygénée هو الاكثر فعالية لأنه يحتوي على كل من نشاط Bactéricide و
عليها ان

Fongistatique.

ثم Povidone iodée الذي لديه ايضا مجموعة واسعة من النشاط ومع ذلك فان ATS الاخرى لها نشاط متغير .
يأتي

من خلال مقاومة البكتيريا المختبرة يبدو و ان معظم حالات ATB يرافقها مقاومة ATS و بالنسبة للبكتيريا
مقاومة

الاخرى لم تعد هذه (*E. coli* et *Enterobacter sp*) في الواقع لا يزال احتمال التعرض المستمر للكائنات
هي الحالة

الدقيقة الى ATS يؤدي الى ظهور سلالات مقاومة و التي تعد مصدرا للقلق .

الكلمات المفتاحية: مطهر؛ مضاد حيوي؛ مقاومة؛ بكتيريا؛ فطريات.

Introduction

Introduction

L'usage des antibiotiques (ATB) est une stratégie de lutte contre les bactéries pathogènes. Cependant, au cours de ces dernières décennies, l'utilisation massive et inappropriée des antibiotiques a entraîné le développement de mécanismes de résistances chez les espèces bactériennes, représentant un réel risque pour la santé publique. Un autre moyen de lutte contre ces bactéries est l'utilisation des antiseptiques (ATS) (**Dewilde-blanc et al ,2002**).

L'antisepsie a joué un rôle important dans la lutte contre les maladies infectieuses ; c'est surtout à partir de fin XIXème siècle, avec les progrès de la chimie, de la pharmacie et de la microbiologie qu'ont été établis les concepts et rédigées les règles d'utilisation en Médecine et en Chirurgie des antiseptiques (**Dewilde-blanc et al ,2002**).

Les antiseptiques et les biocides en général, sont largement utilisés dans l'élevage, la production alimentaire et les soins de santé.

La crainte est que cette utilisation généralisée de biocides puisse entraîner l'apparition ou la prolifération de bactéries nuisibles résistantes à la fois aux biocides et aux antibiotiques. De plus les antiseptiques peuvent être utilisés sans aucune forme de contrôle, contrairement aux antibiotiques dont l'utilisation est soigneusement contrôlée (**anonyme1**).

A ce contexte s'inscrit notre étude, qui vise à vérifier la validité d'usage de quelques produits antiseptiques(alcool chirurgical, éosine aqueuse, povidone iodé, eau oxygénée, vitabact, dakin et saforelle) en évaluant la sensibilité de certaines bactéries pathogènes(*E.coli*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus sp*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*) à une gamme de ces composés et en la comparant à celle enregistrée envers les antibiotiques.

Ainsi, un test de l'activité antifongique des produits cités a été réalisé sur contre cinq souches de moisissures (*Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Fusariumsp*, *Alternariaalternata* et *Penicillium chrysogenum*) et une levure *Candida albicans*.

Pour mener à bien cette étude, notre travail pratique se scindera en trois étapes:

- Evaluer la résistance des bactéries testées auxantiseptiques choisis ;
- Tester la résistance des bactéries étudiées aux antibiotiques;
- Apprécier la résistance des champignons aux antiseptiques étudiés;

Chapitre 1 : étude bibliographique

1. Définitions :

1.1. Antiseptiques et antiseptie :

➤ Antiseptique :

Le mot ANTISEPTIQUE (Du grec « anti » : oppose ou contre et « septikos » dérivé de « sepein » : corrompre) a été utilisé pour la première fois par PRINGLE en 1750 pour qualifier une substance compétente et capable d'annoncer la détérioration de la matière organique.

Au milieu du XIX^{ème} siècle, il s'applique à des procédés capables de résoudre les microbes pathogènes (**Kaita ,2004**).

Alors c'est un Produit ou substance chimique utilisée pour l'antiseptie dans des règlements définis. Si le produit ou le procédé est sélectif, ceci doit être exprimé. Ces substances chimiques permettent une activité antibactérienne et/ou antifongique et antivirale.

La dixième publication de la pharmacopée française (Janvier 1990) apporte quelques éléments complémentaires à cette explication :

Les antiseptiques sont des préparations ayant la propriété et la capacité d'éliminer ou de tuer les micro-organismes ou d'inactiver les virus sur la peau saine, les muqueuses, les plaies ; alors les antiseptiques sont destinés aux tissus vivants(**Fongoro, 2006**).

➤ Antiseptie :

C'est une action 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 et pour éviter la pénétration du microbe dans l'organisme(**Kaita ,2004**).

Au moment de cette action le résultat est limité aux micro-organismes présents (**Benmansour, 2015**).

1.2. Antibiotiques :

A la différence des antiseptiques et les désinfectants les antibiotiques sont *des substances antibactériennes naturelles ou chimiques ou synthétique d'origine microbienne, qui à des faibles concentrations ont la possibilité d'inhiber spécifiquement la croissance et de détruire les bactéries ou d'autres micro-organismes par un mécanisme particulier*(**Dewilde-blanc et al ,2002**).

La comparaison entre les antiseptiques et les désinfectants est organisés dans le tableau I

Tableau 1 :La comparaison entre les antibiotiques et les antiseptiques (anonyme 2).

/	Antiseptiques	Antibiotiques
Spectre d'activité	"Large" bactéries végétatives bactéries sporulées virus Champignons	"Etroit"
Voie d'administration	Externe	Interne
Vitesse d'action	Rapide Bactéries : 5 min Virus : 1 min	Lente
Température d'action	32 °C (Désinfectants : 20°C)	37°C
Inactivation par les matières organiques	Oui	Non

2. Objectifs d'utilisations des antiseptiques :

Les antiseptiques et les désinfectants peuvent être utilisés dans un but préventif, pour éviter la pénétration et la contamination bactérienne, ou dans un but curatif afin de lutter contre un processus septique.

La prévention regroupe l'antisepsie des mains et l'antisepsie de la zone opératoire.

Sur le plan curatif, l'antisepsie locale prend place dans la thérapeutique antibactérienne à côté de l'antibiothérapie. Elle permet de traiter les infections locales. Afin de limiter les risques de sélection de souches résistantes, les antibiotiques sont plutôt réservés à une utilisation systémique.

Les antiseptiques sont appliqués sur la peau qu'elle soit saine ou lésée. La peau, au niveau histologique est composée de 3 couches. La couche superficielle ou épiderme ; La couche intermédiaire ou derme et la couche profonde ou hypoderme(Fongoro, 2006).

La flore normale de la peau

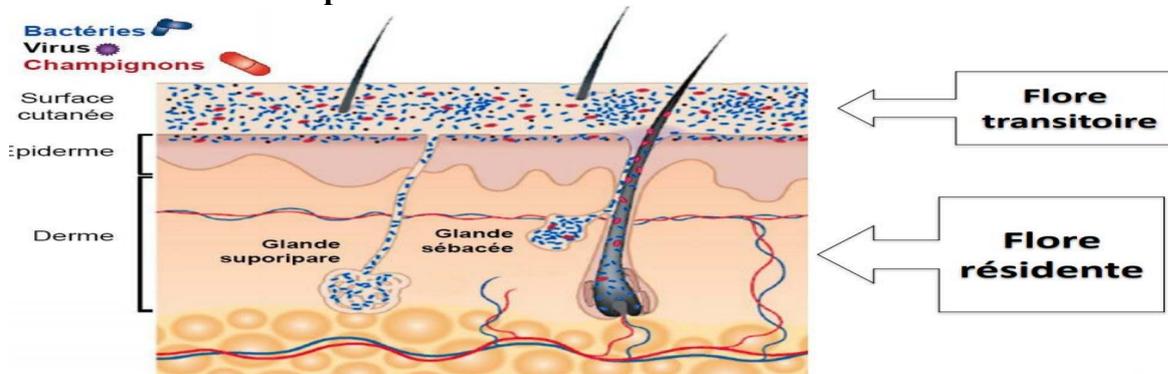


Figure1 : Structure histologique de la peau(anonyme3).

Si la peau est saine, les antiseptiques agissent localement et ne sont pas absorbés. Par contre, si elle est lésée, les antiseptiques peuvent (pour une certaine fraction) pénétrer jusqu'au derme voire jusqu'à l'hypoderme. Ces deux structures sont vascularisées, par conséquent les antiseptiques peuvent alors passer dans la circulation générale, ce qui peut être plus ou moins gênant en fonction de leur toxicité respective.

En médecine Humaine et Vétérinaire, les antiseptiques sont utilisés en Chirurgie :

-Sur la peau saine, ils sont destinés au lavage des mains du chirurgien et à la préparation du champ opératoire.

-Sur la peau ou les muqueuses lésées, ils sont utilisés lors de chirurgie thoracique ou abdominale ou lors de lavage articulaire.

En dermatologie, ils sont destinés au traitement des infections des plaies et sur les infections des muqueuses de la sphère O.R.L. et génitales (**Dewilde-blanc et al,2002**).

3. 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 prévenir le danger de contamination.

L'antiseptie et la désinfection sont connues depuis l'antiquité, comme la lutte contre le phénomène de putréfaction grâce aux épices, essences, huiles végétales, vins, vinaigres, miel étaient utilisées pour empêcher la putréfaction des plaies et l'infection des blessures.

Dans la Chine, l'Inde, l'Egypte, le soufre et le mercure ont été déjà utilisé comme « désinfectants ».

Pendant le Moyen Age, le vin et le vinaigre ont été employés dans le traitement des plaies et pour la cicatrisation des plaies aussi pour la protection et la prévention des infections (**Huber, 1988**).

Intuitivement, l'origine environnementale de certaines affections était reconnue. Certaines précautions étaient prises : eau bouillie, fumigation des salles d'opération.

Ainsi au cours du temps, les traitements empiriques intuitifs et parfois surnaturels ont évolué pour atteindre des bases scientifiques à la fin du XIV^{ème} Siècle.

C'est à FRACASTOR (1483-1553) que revient le mérite d'avoir jeté les bases du concept moderne de maladies contagieuses et décrit les différentes voies possibles de contamination, directes (D'homme à homme) et indirectes (air) par des micro-organismes.

C'est au XVIII^{ème} siècle que le mot antiseptique fut utilisé par PRINGLE.

PRINGLE : médecin militaire écossais classer un grand nombre de produits appliqués sur la peau et les plaies (camphre, acides..).

C'est également à cette époque que furent découvertes les principales particules utilisées actuellement (**Dewilde-blanc et al,2002**) ;(anonyme4).

SCHEELE(1749-1786) : chimiste suédois découvrit le chlore en 1774.

Il a été largement employé dans une solution aqueuse saturée en particulier à cause de son action déodorante car on pensait alors qu'il y avait une relation entre putréfaction et propagation de la maladie (**Huber, 1988 ;Dewilde-blanc et al,2002**);(anonyme4).

BERTHOLLET (1748-1822) : un chimiste français découvrit les hypochlorites En 1789.

Bernard COURTOIS (1777-1838) : un autre chimiste français isola l'iode à partir de cendres de plantes marines En 1811.

Pendant le XIX^{ème} siècle, des composés sont utilisés empiriquement pour leur action bactéricide. Ces composés sont encore utilisés actuellement, par exemple l'iode était employé dans le traitement des plaies nombreuses années avant que l'origine bactérienne des suppurations ne soit suspectée (**Huber, 1988**).

La démonstration de la transmission manu-portée, intra-hospitalière, de la fièvre puerpérale est due à deux médecins, l'un américain, **HOLMES (1843)** exerçant à Boston, l'autre, **SEMMELWEIS (1847)** médecin hongrois exerçant à Vienne.

Tous deux, de manière indépendante, montrèrent l'efficacité remarquable de l'antisepsie des mains des gynécologues, des sages-femmes et des étudiants avec de l'hypochlorite de calcium (**Huber, 1988; Dewilde-blanc et al, 2002**).

Le concept de maladie infectieuse, transmissible, d'origine microbienne a émergé progressivement au cours des siècles pour trouver sa confirmation scientifique à la fin du XIX^{ème} siècle et au début du XX^{ème} avec les travaux de Pasteur et de Koch.

Suite aux travaux de Pasteur, **LISTER**, chirurgien à Glasgow créa en 1867 le concept d'antisepsie en chirurgie, de décrire les règles de son application pratique et d'en prouver l'efficacité.

En diminuant le taux des infections postopératoires à des niveaux très faible. **LISTER** publie en **1870** dans Lancet les résultats suivants : « avant la période antiseptique 16 décès sur 35 cas, soit 1 décès pour 2 cas et demi ; durant la période antiseptique 6 décès pour 40 cas soit un décès pour 6 cas et demi (**Dewilde-blanc et al, 2002**).

Robert Koch, en 1881, fut 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.

L'époque moderne des antiseptiques et des désinfectants commence avec les travaux de **KRONIG** et **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*, travaux qui prélaudaient à l'établissement des normes modernes d'efficacité. Ils montrent la nécessité de standardiser le milieu de culture, l'inoculum, le temps de contact entre bactéries et antiseptiques, la nécessité de mesurer un effet léthal en vérifiant la neutralisation de l'antiseptique résiduel ; les procédures sont également décrites ainsi que des déductions sur le mode d'action des principaux produits désinfectants ou antiseptiques (**Dewilde-blanc et al, 2002**).

4. Spectre d'activité théorique des antiseptiques:

Le spectre théorique est défini généralement lors de la mise au point du produit ; peut être modifié lors de l'utilisation du produit ; l'ampleur des modifications dépend des possibilités d'acquisition d'une résistance (**Freney, 1995**) ; (**anonymes 5 ; 6**) ; (**Placet, 2001**).

Le spectre d'activités des antiseptiques et organisés dans le tableau 2

Tableau 2: Spectre d'activité des antiseptiques

Famille	Spectre d'activité					
	Gram+	Gram-	Champignons	Spores	Virus enveloppés	Virus nus
/						
HALOGENES	+++	+++	++	++	++	++
BIGUANIDES (chlorhexidine)	+++	++	+	0	+/-	0
NOXYTIOLINE	+/-	+/-	+	0	+/-	+/-
ALCOOL (éthylque 70°)	++	++	+	0	+	+/-
AMMONIUM QUATERNAIRES	+++	+	+	0	?	0
DIAMIDINES (hexamidine)	+	0	+	0	0	0
HEXITIDINE	+	0	+	0	0	0
CARBANILIDES (triclocarban)	++	+/-	0	?	?	0
DERIVES METALIQUES	+/-	+/-	0	0	0	0
PHENOLS	++	+	++	0	?	?
DERIVES MERCURIELS	+	+	+	0	0	0
OXYDANTS (h₂o₂ à 10 vol)	+	++	+/-	+	+/-	0
COLORANTS	+/-	+/-	0	0	0	0

Légende : activité létale forte : +++ ; moyenne : +/- ; faible : + ; lente ; / = non réalisé.

5. Classification des principales familles des antiseptiques :

La classification des antiseptiques peuvent être réalisés selon la famille chimique (halogénés : dérivés iodés, chlorés ...), et les indications (antisepsie de la peau saine, peau lésée ou plaie, muqueuses...) aussi par le spectre d'activité qui peut être modifié lors de l'utilisation du produit (anonyme5).

a. 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, 2001**).

b. 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**)).

b.1. Les antiseptiques majeurs :

1) Halogènes :

✚ Produit chlorés :

Depuis plus de deux siècles, les produits chlorés sont utilisés en milieu industriel et médical pour leurs propriétés blanchissantes, désodorisantes et désinfectantes(**Benmansour, 2015**).

✓ Principaux produits et présentation :

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, H₂O). Leur titre correspond à un nombre de grammes de chlore actif pour 100 mL de la solution.

- Eau de Javel à 0,016 ; 1,6 ; 1 ; 3 et 4° chlorométriques.
- 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 (**Fongoro, 2006**).

✓ Spectre d'activité :

Les dérivés chlorés ont un spectre d'activité étendu : bactéries (formes végétatives et sporulées), champignons, virus, spores (**Fongoro, 2006**).

✓ **Mode d'action :**

Le délai d'action est rapide, dès la première minute de contact. Le pouvoir oxydant provoque la destruction de protéines au niveau membranaire et chromosomique.

✓ **Facteurs influençant l'activité et la stabilité :**

• **PH :**

À pH < 5, il y a dégagement de chlore gazeux : la solution perd son activité.

À pH = 5, l'activité est maximale.

• **Température :**

Si elle augmente, la stabilité des solutions diminue mais l'action antimicrobienne est plus rapide à 37°C qu'à 22°C.

• Les matières organiques, les savons, réduisent le pouvoir antimicrobien.

• **Les minéraux :**

Le fer, cobalt, nickel, cuivre et manganèse diminuent la stabilité des solutions d'hypochlorites (**Fongoro, 2006**).

• Les rayons ultraviolets accélèrent la dégradation des produits chlorés (**Benmansour, 2015**).

✓ **Indications :**

• L'antisepsie de la peau, des muqueuses en particulier des plaies superficielles et le traitement d'appoint de certaines affections dermatologiques.

• L'utilisation particulière en cas d'accident d'exposition au sang (AES).

✓ **Contre-indication :** aucune contre-indication n'est mentionnée.

✓ **Précaution d'emploi :**

Ne pas utiliser sur une plaie souillée de sang et de pus car les matières organiques diminuent l'efficacité de l'hypochlorite

✓ **Effets indésirables :**

Sensations (subjectives) de brûlure ou d'irritation quand la peau est lésée.

✓ **Délai d'utilisation après ouverture du flacon :** 15 jours.

 **Produits iodés :**

Découvert en 1950, les produits iodophores, moins irritants et allergisants que l'iode, sont actuellement largement utilisés (**Benmansour, 2015**).

✓ **Principaux produits et présentations :**

1. L'iode et ses dérivés :

- Les solutions alcooliques d'iode (Alcool iodé, Teinture d'iode)
- Les solutions aqueuses d'iode (Solution de Lugol, Solution de Tarnier) :

Ces solutions sont très peu utilisées, même en gynéco-obstétrique ; cependant restent employées pour certaines colorations en laboratoire (**Benmansour, 2015**).

2. Les iodophores :

Les iodophores sont des préparations combinant des complexes organiques fixant et solubilisant l'iode ou des iodures. Considérés comme des « transporteurs d'iode », ils possèdent les fonctions suivantes :

- Augmentent la solubilité, la dispersion et la pénétration de l'iode,
- Constituent une réserve d'iode,
- Réduisent la concentration à l'équilibre de l'iode moléculaire libre.

Actuellement l'iodophore le plus efficace et utilisé est la polyvinylpyrrolidone iodée ou (PVP-I) (**Fongoro ,2006**).

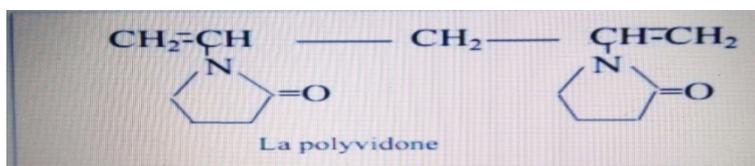


Figure2 : La structure chimique de polyvidone(**Fongoro ,2006**).

✓ **Spectre d'activité :**

Les produits iodés sont bactéricides, virucides, fongicides, et sporicides.

✓ **Mode d'action :**

L'iode sous forme moléculaire est capable de traverser rapidement la membrane cellulaire. Son action est due à son pouvoir oxydant comme les autres halogénés sur les protéines enzymatiques et membranaires. (**Benmansour, 2015**).

3) Biguanides :

Les biguanides sont utilisés généralement sous forme de digluconate ou de diacetate de chlorhexidine.

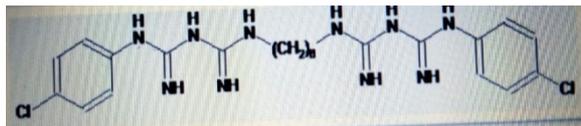


Figure3 : La structure chimique de chlorhexidine(Fongoro ,2006).

✓ **Principaux produits et présentations :**

• Solution aqueuse : Chlorhexidine aqueuse 0,05 % Gilbert®, Merfène® 0,05 % - Dosisepine 0,05 %®, Hibidil® 0,05 % (contenant un tensio-actif).

• Solution alcoolique : Chlorhexidine alcoolique à 0,5 % (Gilbert® – Gifrer®), Hibitane champ® 0,5 % (avec colorant) - Septéal® 0,5 % (Placet ,2001).

✓ **Spectre d'activité :**

- Bactéricide sur Gram positif et gram négatif.
- Peu actif sur les mycobactéries, seules les solutions alcooliques ont une action sur les mycobactéries.
- Non sporicide et Non virucide.
- Une résistance acquise a été décrite(Placet ,2001).

✓ **Mode d'action :**

A faible dose : destruction de la membrane cytoplasmique ;

A forte dose : précipitation des protéines et acides nucléiques(Placet ,2001).

✓ **Facteurs influençant l'activité :**

- Les protéines et les matières organiques diminuent l'activité.
- Les minéraux, l'eau dure et un $pH > 8$ provoquent une précipitation de la chlorhexidine.
- L'association avec les ammoniums quaternaires et l'alcool potentialise l'activité (Placet ,2001).

✓ **Contre-indication :**

La chlorhexidine ne doit pas être mise en contact avec l'oreille interne (risque de surdité neurosensorielle), le cerveau et les méninges(Placet ,2001).

✓ **Précautions d'emploi :**

- Éviter les badigeons étendus et les bains prolongés et concentrés.
- Limiter l'utilisation pour les prématurés et les nourrissons.

- L'Hibitane champ® 0,5% dilué ne se conserve pas plus de 10 jours

La chlorhexidine est irritante pour les muqueuses, si la concentration est supérieure à 0,02% (Benmansour ,2015).

4) Alcools :

✓ **Principal produit et présentations :**

Solutions de titre alcoolique divers par mouillage à l'eau de l'alcool absolu (éthanol) :

- Alcool éthylique 70 modifié (camphré) et coloré en jaune (tartrazine) 125 mL, 250 mL, 500 mL (Gifrer, Gilbert, Cooper).
- Alcool éthylique 70° coloré en bleu pour usage pédiatrique 125 mL (Gilbert).

✓ **Spectre d'activité :**

- Bactéricide et actif sur *Mycobacteriumtuberculosis*
- Fongicide faiblement ; virucide de façon variable et non sporicide.

✓ **Facteurs influençant l'activité:**

- Son hydratation facilite la pénétration dans les cellules bactériennes.
- Son efficacité est réduite en présence de matières organiques. Il coagule les protéines(Placet, 2001).

✓ **Indication:**

Antiseptie de la peau saine (injection intraveineuse, intramusculaire, sous cutanée) et utilisation en baisse (utilisation surtout pour les pansements alcooliques).

✓ **Contre-indications:**

- Ne pas appliquer sur les muqueuses et les plaies,
- Ne pas employer comme antiseptique pour dosage de l'alcoolémie,
- Ne pas utiliser sur des surfaces cutanées étendues des nourrissons de moins de 30 mois, en raison des risques d'intoxication alcoolique (Benmansour ,2015).

4) La noxytioline :

✓ Structure chimique :(figure 5) :

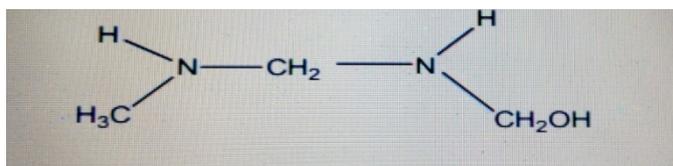


Figure 4 :Structure chimique de la noxytioline(Fongoro,2006).

✓ Mode d'action :

La noxytioline agirait en libérant lentement du formaldéhyde, qui agit par dénaturation des protéines enzymatiques et structurales et alkylation des acides nucléiques

✓ Précaution d'emploi :

Il existe une incompatibilité entre la noxytioline et certains antiseptiques (polyvidoneiodée, mercurobutol).

La noxytioline est bien tolérée, à condition d'éviter de l'associer avec les produits incompatibles (Fongoro,2006).

✓ Indications :

Noxytioline est utilisée dans le traitement local ou la prévention de diverses infections (Fongoro,2006).

b.2. Les antiseptiques mineurs et intermédiaires :

1) Ammoniums quaternaires :

✚ **Le Chlorure de benzalkonium :**

✓ Structure chimique :

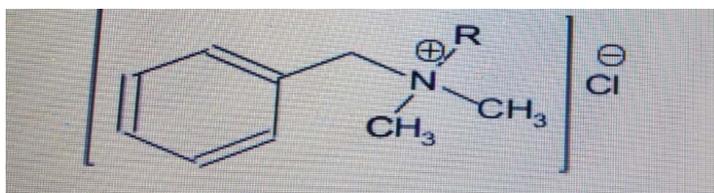


Figure 5 :Structure chimique deChlorure de benzalkonium(Fongoro,2006).

Le chlorure de benzalkonium est un mélange de chlorure de benzododécinium (n = 11) et de myristalkonium (n = 13).

✓ **Mode d'action :**

L'activité antibactérienne a été attribuée à plusieurs mécanismes :

- Dénaturation plus ou moins sélective de protéines ou d'enzymes, par solubilisation et dépolymérisation, responsable de l'inactivation de déshydrogénases.
- Fixation au niveau des ribosomes avec arrêt de la synthèse protéine
- Lyse de la membrane cellulaire avec perturbation des échanges osmotiques (**anonyma2**).

✓ **Précautions d'emploi :**

L'activité antimicrobienne est variable en fonction des conditions :

- Un pH alcalin et une température de 37° sont favorisants, il n'a aucune activité à pH < 3,5.
- Inactivé par les composés anioniques (savons), les eaux trop dures, les matières organiques (pus, sang).
- Les fibres cellulosiques et le coton inhibent l'activité antibactérienne des antiseptiques externes cationique (ammoniums quaternaires) en solution aqueuse (**anonyme 2**).

2) **Les carbanildes :**

✚ **Triclocarban (3, 4, 4'-Trichlorocarbanilide) :**

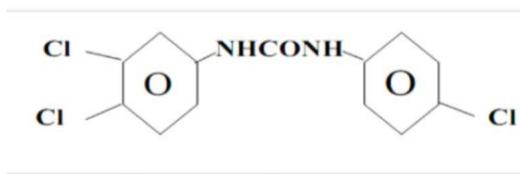


Figure 6 : Structure chimique de triclocarban.(Fongoro,2006).

✓ **Mode d'action :**

Le triclocarban agirait en inhibant la croissance des bactéries (surtout les Gram positifs), c'est un antiseptique bactériostatique.

3) **Les diamidines :**

✚ **L'Hexamidine :**

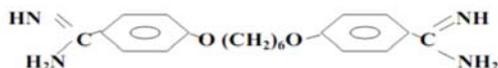


Figure 7 : Structure chimique de L'Hexamidine(Fongoro,2006).

✓ **Mode d'action :**

L'hexamidine se comporte comme un agent antibactérien cationique et présente des propriétés tensio-actives. Le délai d'action in vitro est de 5 minutes.

4) **L'hexétidine:**

Produit de synthèse qui fut d'abord sélectionné pour sa propriété d'inhiber la glycolyse et de s'adsorber sur des substances de nature protéinique ; l'hexétidine est un antiseptique qui entre dans la composition des préparations à usage bucco-dentaire et pharyngé (Fongoro,2006).

✓ **Mode d'action:**

L'hexétidine agit sur le métabolisme bactérien; elle entraîne un découplage de la phosphorylation oxydative et empêche la synthèse d'ATP.

5) **Les dérivés métalliques :**

✓ **Mode d'action :**

L'ion métallique, même à de très faibles concentrations, forme des complexes avec les protéines contenant des groupements thiols, carboxyles, phosphates, hydroxyles, amines, imidazolés ou indoles et avec les bases des acides nucléiques(anonyme 2).

✓ **Principaux produits et indications :**

•**Nitrate d'argent** : Solutions aqueuses et crayons à 0,5%, 1%, et 2%. Utilisé pour l'antisepsie des plaies (en particulier dans le cas d'eczémas suintants) ; il a en outre, un pouvoir asséchant et cicatrisant.

•**Protéinate d'argent à 1%, 2% et 5%** : Antisepsie des muqueuses dans les infections nasales ou de la gorge ou en gynécologie.

•**Sulfates de cuivre et de zinc** : Traitement d'appoint des affections dermatologiques primitivement bactériennes ou susceptibles de se surinfecter

b.3.Les antiseptiques à déconseiller :

1) **Dérivés mercuriels:**

✓ **Mode d'action :**

Le mécanisme d'action de dérivés mercurielles est en rapport avec la propriété que possède le mercure ionisé (Hg^{++}) de se fixer sur les radicaux SH (groupements thiols) des protéines chez les microorganismes. La fixation du mercure entraîne leur altération et le blocage des fonctions de la cellule, voir sa destruction(Placet ,2001).

2) Les composés phénoliques :

Actuellement, le phénol et ses dérivés sont peu utilisés comme antiseptiques mis à part quelques composés comme le métacrésol. D'autres comme les bisphénols (hexachlorophène) et leurs dérivés qui étaient très utilisés autrefois le sont de moins en moins du fait de leur toxicité et leur spectre limité surtout aux bactéries à Gram positif.

✓ Mode d'action :

Les phénols agissent par dénaturation des protéines cellulaires et de la membrane cytoplasmique. Si la concentration utilisée est insuffisante, elle sera seulement inhibitrice des systèmes enzymatiques (anonyma3).

b.4. Les produits considérés à tort comme antiseptiques :

1) Oxydants :

Le produit principal est l'eau oxygénée (peroxyde d'hydrogène) dont la concentration usuelle pour l'usage antiseptique est de 3%. La concentration s'exprime également en volume d'oxygène dégagé par le volume de solution. Le peroxyde d'hydrogène est plus actif sur les bactéries à Gram négatif que sur les bactéries à Gram positif. Son activité sur les mycobactéries atypiques reste mal connue. A température ambiante, il est lentement sporicide. Il possède une activité lente sur les levures et les virus. Si l'activité du peroxyde d'hydrogène s'accroît à pH acide, son activité est limitée en présence de matières organiques. L'eau oxygénée est utilisée en chirurgie dentaire pour ses propriétés antiseptiques et hémostatiques ainsi que dans l'antisepsie des plaies gangrenées ou des délabrements tissulaires nécrotiques (Benmansoure, 2015).

2) Colorants :

Ceux ne sont pas des antiseptiques, cependant certains groupes de colorants sont connus pour leurs faibles propriétés antiseptiques comme l'éosine alcoolique. Ces colorants sont bactériostatiques vis à vis des germes à Gram positif. En outre, les colorants tannent et assèchent la peau et sont considérés comme traitement d'appoint des affections dermatologiques non infectée (anonyme3).

6. Critères de choix d'un bon antiseptique :

Le choix de l'antiseptique doit intégrer plusieurs éléments :

- Nature de la cible microbienne : préférer un antiseptique de large spectre,

- Intensité de l'action antimicrobienne : effet bactéricide préférable en particulier sur les plaies et chez les sujets fragilisés,
- Délai d'action, intérêt d'une action rémanente,
- Terrain d'application,
- Stabilité et solubilité du produit,
- Qualité du conditionnement,
- Tolérance,
- Propriétés annexes de la formulation : action détergente, desséchante (**anonyme7**).

7. Les facteurs influençant l'activité des antiseptiques :

Ces produits vont réagir avec certaines parties de ces micro-organismes (la paroi cellulaire, le noyau, ...) par une interaction chimique afin d'obtenir la mort de la bactérie, du virus, du champignon, ... Cette interaction chimique sera changée en fonction de différents bases (**BOUTELDA, 2011**).

1. La concentration :

Le produit utilisé doit être à la bonne concentration pour avoir une activité microbiologique. Si ce produit est trop dilué, il y aura une diminution de son activité. On pourra obtenir une action bactériostatique, virostatique ou fongistatique, voire nulle. A l'inverse, s'il est trop concentré, il sera agressif, insupportable pour les tissus vivants ; ou destructif pour le matériel, les surfaces ... et pourra l'abîmer (**BOUTELDA, 2011**).*

2. La température :

Les micro-organismes se propagent plus ou moins vite suivant la température. Une chaleur importante peut même entraîner leur mort. A l'inverse, on conserve les aliments à basse température dans un réfrigérateur pour limiter le développement microbien(**BOUTELDA, 2011**).

3. Le temps de contact :

Comme pour toute réaction chimique, il faut un temps de contact minimum entre le produit chimique et le micro-organisme pour le tuer. Si le temps de contact est trop bref, le produit chimique n'a pas le temps d'agir, il n'aura alors qu'une action bactériostatique, virostatique ou fongistatique, voire nulle. A l'inverse, si le temps de contact est plus long que celui préconisé par le laboratoire, le produit chimique pourra être agressif, irritant pour les tissus vivants ; ou corrosif pour le matériel, les surfaces ... et pourra abîmer le matériel, les surfaces ...(**BOUTELDA, 2011**).

4. L'acidité :

Ce facteur intervient principalement sur la croissance et la survie des microorganismes. Suivant son acidité, un antiseptique sera plus ou moins actif (**BOUTELDA, 2011**).

5. Les substances interférentes :

- Les ions (Calcium, Magnésium, Iode, Mercure, ...) :

Ils agissent au niveau de la dureté de l'eau, selon la concentration des ions calciques et magnésiques, un produit chimique sera plus ou moins actif. Certains ions lorsqu'ils sont en présence, peuvent précipiter et former un composé très agressif pour les tissus.

- Les matières organiques biologiques :

Les protéines contenues dans ces matières organiques biologiques entraînent une réaction chimique qui diminue la concentration du produit chimique, donc son activité en sera affaiblie(**BOUTELDA, 2011**).

8.Règles d'utilisations des antiseptiques :

-Un antiseptique utilisé sur la peau ou les muqueuses ne doit pas être utilisé pour la désinfection du matériel.

-Il doit être appliqué sur des tissus propres ; en effet, un antiseptique est inhibé par les matières organiques ; ainsi, un nettoyage préalable est souvent nécessaire, suivi d'un rinçage et d'un séchage avant l'antiseptie (**LAURENCE et BOIKO-ALAU, 2006**).

-Un antiseptique doit être utilisé en fonction des indications de l'autorisation de mise sur le marché (AMM) et des recommandations des fiches techniques des produits(**Placet ,2001**). Tout en respectant le temps de contact indiqué par le laboratoire : l'antiseptie chez le patient sera réalisée (**anonyme7**).

9. Modes d'actions des antiseptiques sur les bactéries à Gram positif et à Gram négatif :

Les antiseptiques sont essentiellement actifs contre les bactéries. Il existe deux grands types de bactéries : Les bactéries à Gram- et les bactéries à Gram+qui ont des parois bactériennes différentes.

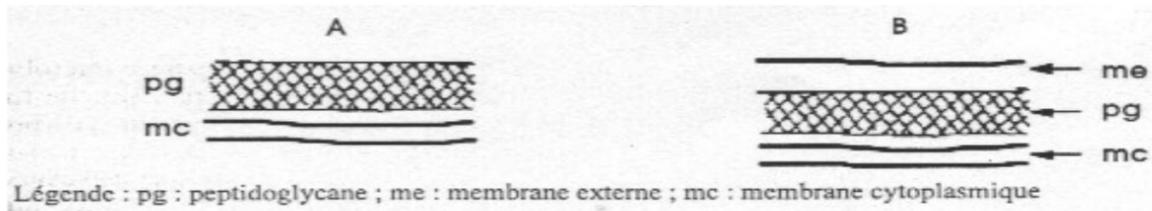


Figure 8 :Structure de la paroi des bactéries à Gram+ (A) et des bactéries à Gram- (B)(Genevois, 1992).

La membrane cytoplasmique bactérienne a la même sensibilité aux antiseptiques qu'il s'agisse d'une bactérie à **Gram+** ou à **Gram-**(Genevois, 1992).

Mais chez les bactéries à **Gram+**, la membrane cytoplasmique est presque directement en contact avec le produit car il se fixe sur la couche de peptidoglycane revêtue d'acides téchoïques et de lipides à laquelle la membrane cytoplasmique est intimement liée (Genevois, 1992).

Chez les bactéries à **Gram-**, au contraire, la membrane cytoplasmique n'est pas liée au peptidoglycane et surtout l'enveloppe externe constitue un écran important. Sa structure est assez différente de la membrane cytoplasmique ; elle contient en particulier moins de phospholipides, plus de protéines et de lipo-polysaccharides.

Pour être actif, le produit doit d'abord se fixer sur l'enveloppe externe et la traverser. Ces phénomènes sont fonction de la structure et de la polarité de la molécule d'une part et d'autre part de la composition de l'enveloppe. (Genevois, 1992).

En effet les molécules hydrophobes interagissent avec les lipo-polysaccharides et les lipides tandis que les molécules hydrophiles dépendent également des porines qui leur sont indispensables pour traverser la membrane.

L'action des antiseptiques est en générale plus **rapide** que celle des antibiotiques car elle est dirigée directement contre les sites fonctionnels des bactéries. Dans un premier temps, le produit se fixe à la surface du germe. La nature de l'antiseptique ainsi que la concentration interviennent. Une fois fixé, l'antiseptique agit à différents niveaux (Genevois, 1992).

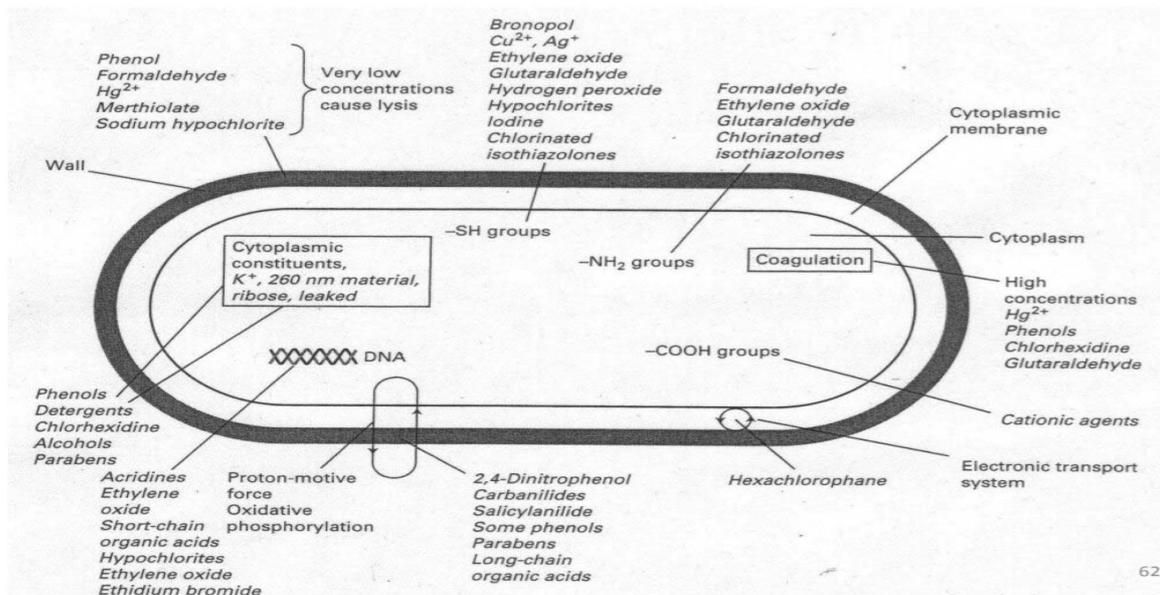


Figure 9: Site d'action des molécules antiseptiques chez les bactéries (Genevois, 1992).

Le mode d'action sur les virus est encore mal connu. Certains antiseptiques, comme le chlore ou le phénol, inactivent la plupart des virus, d'autres n'agissent que sur les virus dotés d'une enveloppe lipidique.

Les spores bactériennes sont très résistantes aux antiseptiques, peu d'entre eux arrivent à pénétrer à l'intérieur de la spore. De plus, le cytoplasme étant au repos, leurs actions anti métaboliques sont inefficaces (Genevois, 1992).

10. Résistance bactérienne aux antiseptiques :

Certaines formes végétatives de germes présentent une résistance à certains antiseptiques. L'élément majeur de cette résistance est la paroi de la cellule bactérienne. En effet la majorité des antiseptiques exercent leur action essentiellement au niveau de la membrane cytoplasmique et doivent donc traverser la paroi. Chez les souches devenues résistantes, ces mécanismes de passage sont altérés. Ainsi, les mycobactéries, dont la membrane externe est très épaisse sont plus résistantes que les bactéries à GRAM-, elles-mêmes plus résistantes que les bactéries à GRAM+ (**anonyme 8**).

-Il existe deux types de résistances :

➤ **La résistance naturelle ou intrinsèque :**

La résistance naturelle est un caractère inné, stable, de l'espèce ou de la souche bactérienne. Elle détermine le spectre d'activité des antiseptiques et des désinfectants (**anonyme 8**).

➤ **La résistance acquise :**

La fréquence des résistances acquises aux antiseptiques est nettement inférieure à la fréquence des résistances acquises aux antibiotiques (**Dumartin, 2000**).

Il existe deux types de résistances acquises

➤ **La résistance acquise chromosomique :**

Qui peut être obtenue expérimentalement en faisant cultiver certaines espèces bactériennes (bacilles à GRAM-) en présence de concentrations sub-létales de produit (chlorhexidine, ammoniums quaternaires, peroxyde d'hydrogène, formol, PVPI)(Dumartin ,2000).

➤ **La résistance acquise extra chromosomique :**

Lors de laquelle le caractère de résistance à un ou plusieurs antibactériens est porté par un plasmide, petit fragment d'ADN indépendant du chromosome, transmissible d'une bactérie à l'autre et héréditaire (Dumartin ,2000).

Dans la pratique, le problème se pose lorsque les bactéries sont résistantes à des concentrations proches ou supérieures de la concentration d'emploi. Une diminution de la concentration du produit peut entraîner l'émergence d'une résistance des bactéries.

Il est donc nécessaire de respecter strictement les conditions 'd'utilisation des produits (concentrations et mode d'emploi) afin d'éviter l'émergence de souches résistantes (Dumartin ,2000).

➤ **Conséquences d'une résistance aux antiseptiques :**

L'apparition de résistance croisée entre antiseptiques et antibiotiques a été démontrée avec certaines souches de bactéries .Ainsi l'exposition aux antiseptiques pourrait conduire à une efficacité réduite des antibiotiques lors de certaines infections bactériennes chez les patients. Des études complémentaires sont nécessaires (Poole, 2002).

11. Résistance bactériennes aux antibiotiques :

Dans la nature des bactéries peuvent disposer des mécanismes de résistance contra des molécules auxquelles elles sont naturellement confrontée dans leur environnement, en particulier certains antibiotique secrètes par les plantes ou champignons pour leur propre défense (la pénicilline et de nombreux antibiotiques,contre laquelle la bactérie doit donc résister) est aussi une stratégie développée par certaines bactéries pour éliminer leurs compétitrices dansl'environnement. Ces bactéries productrices d'antibiotiques ont développé plusieurs enzymes et mécanismes leur permettant de résister à la molécule qu'elles produisent.

De manière générale, la résistance aux antibiotiques résulte d'une évolution par section naturelle, les antibiotiques exerçant une pression sélective très forte, en éliminant les bactéries sensibles,on suppose que le cas le plus fréquent est une adaptation rapide des bactéries à un nouvel écosystème, qui nait de mutations génétiques aléatoires(Carattoli , 2001)..Leur permettant d'y survivre, et de continuer à se reproduire, en transmettant à leur descendance leur gènes de résistance (transfert vertical) (figure 12), ou qui se fait suite à des échanges de gènes de résistances entre des bactéries (transformation génétique, transduction ou

conjugaison) qui habitent dans divers écosystèmes, y compris les humains, les animaux et l'environnement.

Ce phénomène de changement génétique, soit par mutation ou après acquisition des gènes de résistance par transfert horizontal, est appelé *antibiorésistance* qui est définie par la capacité permettant à un microorganisme de croître en présence d'une concentration plus élevée d'antibiotique que la concentration qui inhibe la majorité des souches de la même espèce (Avorn, 2001).

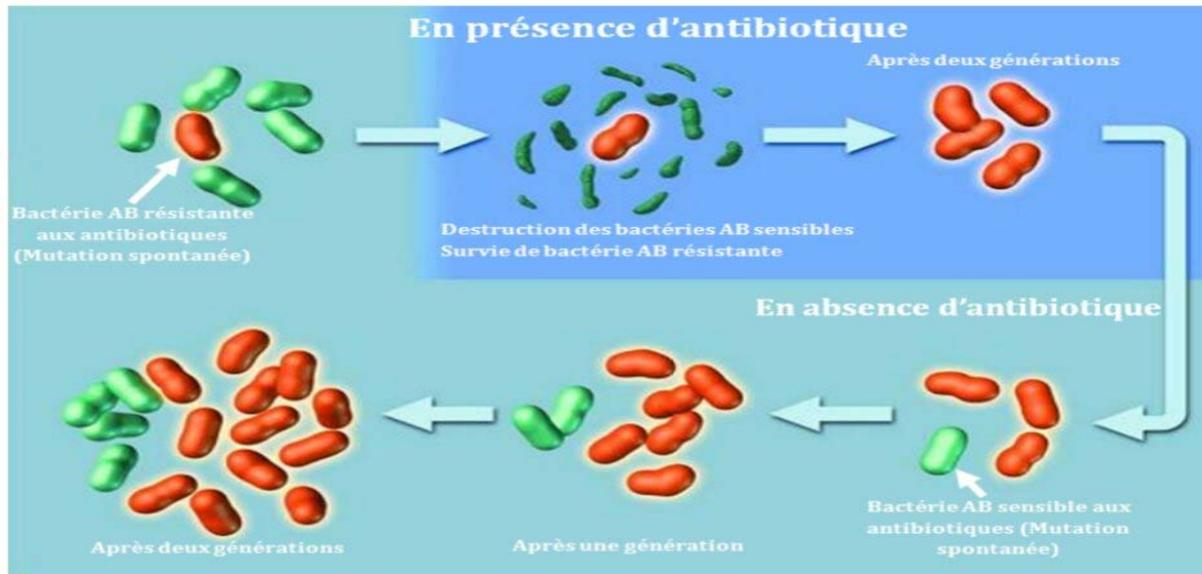


Figure 12 : Schéma illustrant le développement de la résistance aux antibiotiques (George et khchatourians, 1998)

Commençant à l'angle supérieur gauche, une mutation spontanée dans une population de bactéries sensible aux antibiotiques conduit à une résistante. Cependant en absence d'antibiotique (en bas à droite),

Les bactéries résistantes peuvent perdre leur résistance par une mutation spontanée. Après plusieurs générations, les proportions de bactéries sensibles et résistantes atteignent un nouvel équilibre (George et khchatourians, 1998).

12. Souches bactériennes :

✓ *Staphylococcus aureus* :

Les infections à *S. aureus* sont très polymorphes, allant d'atteintes cutanées bénignes comme les furoncles ou les panaris à des pathologies mettant en jeu le pronostic vital comme les septicémies, les endocardites, les pneumopathies et les infections du système nerveux central. C'est l'un des principaux agents étiologiques des infections suppuratives superficielles et profondes ainsi que des syndromes liés à l'action des toxines (Lowy, 1998).

✓ ***Pseudomonas aeruginosa* :**

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie opportuniste qui provoque rarement des infections chez les sujets en bonne santé. Il s'agit alors :

- D'infestations massives par exemple chez les nageurs de piscines contaminées.
- Ou d'inoculations traumatiques directes dans un tissu ou une cavité (méningites ou ostéomyélite d'inoculation (**souley et moustapha, 2002**)).

✓ ***Escherichia coli* :**

Le colibacille est responsable d'infection intestinale et extra intestinale, ces souches sont classées dans des variétés pathogènes (**Joly et Reynauld , 2003**).

Leur facteur de pathogénicité se distingue dans la capsule qui est de nature polysaccharidique, les adhésines qui peuvent induire une adhésion à des globules rouges ou à des cellules épithéliales, elle a la capacité de produire des toxines (**Nauciel, 2000**).

✓ ***Klebsiella pneumoniae* :**

Les *Klebsiella* sont des germes opportunistes chez les malades fragilisés qui peuvent être impliqués dans des infections nosocomiales généralement les infections urinaires, les pneumopathies et les septicémies (**Sougakoff et Trystam , 2003**).

Elles provoquent aussi des surinfections des bronches chez les bronchitiques chroniques mais elle est naturellement résistante à l'ampicilline par production de pénicillinase chromosomique (**Pierre et Marie, 2003**).

✓ ***Bacillus subtilis* :**

B. subtilis est connue pour ses propriétés antifongiques et donc utilisée dans le contrôle biologique d'un grand nombre de maladies de plantes et d'animaux (**Chaurasia et al, 2005**).

Ce bacille peut produire des antibiotiques spécifiques, comme la difficidine et l'oxydifficidine (**Zimmerman et al, 1987**), mais aussi des antibiotiques plus communs, comme la bacitracine, la bacilline et la bacillomycine B (**Parry et al, 1983**).

✓ ***Proteus mirabilis* :**

Proteus mirabilis est une espèce non pathogène mais qui provoque une infection urinaire avec une fréquence la plus élevée parmi toutes les espèces de *Proteus*.

Elle est impliquée dans les infections compliquées et les infections chez les patients cathétérisés pendant une longue durée (**Philips, 1955**).

✓ ***Pseudomonas aeruginosa* :**

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie opportuniste qui provoque rarement des infections chez les sujets en bonne santé. Il s'agit alors :

- D'infestations massives par exemple chez les nageurs de piscines contaminées.
- Ou d'inoculations traumatiques directes dans un tissu ou une cavité (méningites ou ostéomyélite d'inoculation (**souley et moustapha, 2002**)).

✓ ***Escherichia coli* :**

Le colibacille est responsable d'infection intestinale et extra intestinale, ces souches sont classées dans des variétés pathogènes (**Joly et Reynauld , 2003**).

Leur facteur de pathogénicité se distingue dans la capsule qui est de nature polysaccharidique, les adhésines qui peuvent induire une adhésion à des globules rouges ou à des cellules épithéliales, elle a la capacité de produire des toxines (**Nauciel, 2000**).

✓ ***Klebsiella pneumoniae* :**

Les *Klebsiella* sont des germes opportunistes chez les malades fragilisés qui peuvent être impliqués dans des infections nosocomiales généralement les infections urinaires, les pneumopathies et les septicémies (**Sougakoff et Trystam , 2003**).

Elles provoquent aussi des surinfections des bronches chez les bronchitiques chroniques mais elle est naturellement résistante à l'ampicilline par production de pénicillinase chromosomique (**Pierre et Marie, 2003**).

✓ ***Bacillus subtilis* :**

B. subtilis est connue pour ses propriétés antifongiques et donc utilisée dans le contrôle biologique d'un grand nombre de maladies de plantes et d'animaux (**Chaurasia et al, 2005**).

Ce bacille peut produire des antibiotiques spécifiques, comme la difficidine et l'oxydifficine (**Zimmerman et al, 1987**), mais aussi des antibiotiques plus communs, comme la bacitracine, la bacilline et la bacillomycine B (**Parry et al, 1983**).

✓ ***Proteus mirabilis* :**

Proteus mirabilis est une espèce non pathogène mais qui provoque une infection Urinaire avec une fréquence la plus élevée parmi toutes les espèces de *Proteus*.

Elle est impliquée dans les infections compliquées et les infections chez les patients cathétérisés pendant une longue durée (**Philips, 1955**).

Proteus mirabilis est plus fréquemment isolée à partir des échantillons cliniques. Elle est l'un des principaux agents pathogènes de l'appareil urinaire humain chez les patients hospitalisés. Ces infections urinaires peuvent donner lieu à des bactériémies hautement mortelles et qui sont difficiles à traiter et souvent fatale. Qui peuvent être opportunistes et causer des lésions septiques sur d'autres sites du corps (**Holt, 1986**).

Dans les infections urinaires communautaires ou nosocomiales. *Proteus mirabilis* grâce à son uréase puissante peut alcaliniser les urines et être responsable de lithiases. Sur le plan des infections des voies respiratoires surtout en milieu hospitalier peut provoquer une infection ORL et pneumopathies (Maryse et Danielle ,2004).

✓ ***Enterobacter* :**

Les *Enterobacter* sont responsables d'infections nosocomiales à l'hôpital (Delarras, 2007).

Dont les deux principales espèces qui sont *E. aerogenes* et *E. cloacae* peuvent être isolés à partir d'infection nosocomiales urinaire ou de plaie (Koenig, 1995).

13. Souches fongiques :

✓ ***Candida albicans* :**

Les levures du genre *Candida* sont les plus fréquentes en pathologie humaine. Elles représentent près de 83% de toutes les levures isolées de l'homme. L'espèce *Candida albicans* est la plus fréquente.

Une dizaine d'autres espèces peuvent se retrouver sur la peau ou dans le tube digestif. (Koenig, 1995)

Les candidoses sont des affections fongiques cosmopolites provoquées par ces levures.

Les levures du genre *candida* sont à l'origine d'infections superficielles qui peuvent affecter aussi bien le revêtement cutané et les phanères (ongles, poils, cheveux), que les muqueuses (digestives et urogénitales), ou de mycoses profondes qui touchent de nombreux organes, notamment le foie, la rate, les reins, les os et les articulations.

De nombreux facteurs locaux ou généraux favorisent la survenue de ces infections.

Les candidoses génitales impliquant dans la majorité des cas espèce *Candida albicans* (Bouchara et al. 2010).

✓ ***Aspergillus sp* :**

Ces champignons sont présents en abondance dans la nature où ils se développent en saprophyte sur les débris végétaux et les matières organiques en décomposition et les spores font partie de la flore fongique aérienne.

Ils sont à l'origine d'affections opportunistes, souvent mortelles.

Les aspergilloses sont des mycoses Cutanées opportunistes cosmopolites et infectieuses, le plus souvent pulmonaires, provoquées par le développement de champignons filamenteux appartenant au genre *Aspergillus* (Rousseau et al, 2005).

✓ ***Fusarium sp et Penicillium chrysogenum* :**

Ces moisissures sont des micro-organismes saprophytes du sol, se retrouvant facilement grâce à leur spore sur les aliments (notamment les fruits et les céréales, sur lesquels ils se développent) mais aussi sur les milieux de culture des laboratoires.

Les *Penicillium sp* : généralement non pathogènes sauf *Penicillium marneffei* (atteinte disséminée) et *Pinicellium chrysogenum* produit des mycotoxines. Elles sont aussi utilisées dans l'industrie alimentaire (fromages, saucissons secs...).

Les êtres humains sont donc en contact quotidien avec ces champignons. Malgré cela, les pathologies liées à ces moisissures ne sont pas fréquentes, et rencontrées chez les personnes immunodéprimées : ce sont donc des micro-organismes pathogènes opportunistes. Les voies de pénétration dans l'organisme humain sont principalement aérienne (respiratoire) d'une part, cutanée (lorsqu'une blessure est contaminée) d'autre part. *Fusarium sp* provoque l'atteinte cutanée chez les brûlés, disséminés (**anonyme9**).

Chapitre 2 : matériels et méthodes

1. Lieu et durée de la pratique :

Ce travail a duré environ un mois de (22 avril au 22 mai).
Il a été réalisé au niveau de laboratoire 14 de microbiologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université des frères Mentouri Constantine.

2. Objectif :

Cette étude consiste à déterminer la sensibilité de quelques espèces bactériennes et fongiques vis-à-vis une gamme de produits antiseptiques commercialisés en Algérie.

3. Matériel biologique :

Nous avons étudié 14 espèces microbiennes différentes, les six espèces fongiques sont identifiées au niveau de laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie, les huit espèces bactériennes sont identifiées au niveau de laboratoire al Aziza cité Sidi Mebrouk Constantine.

Tableau 3 : Les différentes espèces microbiennes utilisées dans ce travail.

Bactérie à Gram positif	Bactérie à Gram négatif	Espèce fongique
1- <i>Staphylococcus aureus</i>	4- <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1- <i>Fusarium sp</i>
2- <i>Staphylococcus sp</i>	5- <i>Escherichia coli</i> (souche 1)	2- <i>Aspergillus fumigatus</i>
3- <i>Bacillus subtilis</i>	6- <i>Escherichia coli</i> (souche 2)	3- <i>Aspergillus niger</i>
	7- <i>Klebsiella pneumoniae</i>	4- <i>Candida albicans</i>
	8- <i>Proteus mirabilis</i>	5- <i>Penicillium chrysogenum</i>
	9- <i>Enterobacter</i>	6- <i>Alternaria alternata</i>

Matériel chimique (Les antiseptiques) :

Pour la réalisation de ce travail, quelques produits antiseptiques et désinfectants vendus en pharmacie et fabriqués par des laboratoires de régions différentes du pays ont été utilisés

Le tableau représente les indications inscrites sur les flacons de ces produits (annexe 2).

Tableau 4: Les concentrations des disques d'antiseptiques (ATS) testés.

Antiseptique	Concentration
Eau oxygénée	3%
Alcool chirurgical	70°
Eosine aqueuse	2%
Povip	10%
Vitabact	0.05%
Soluté de dakin	0.5%
Saforelle	/

4. Milieux de culture :

Gélose Nutritive (GN)(**annexe 1**).

Potato Dextrose Agar (PDA)(**annexe1**).

5. Réactivations des souches bactériennes :

Le repiquage est une méthode qui permet d'obtenir des souches bactériennes pures et jeunes à partir d'un échantillon âgé.

La technique la plus utilisée est la technique des stries qui consiste à étaler sur la surface de la boîte (qui contient un milieu de gélose nutritive stérile pour la croissance des espèces bactériennes).

Les stries sont faites à l'aide d'une anse de platine stérile. L'étalement est réalisé selon un protocole précis.

- On dépose l'échantillon bactérien sur le bord de la boîte puis on étale en larges stries.
- puis en stries serrées et on recommence l'ensemencement tout en respectant les conditions stériles pour éviter la contamination.

Après l'incubation des boîtes 24 heures à 37°C dans l'étuve, on observe chaque colonie bien individualisée.

6. Réactivations des souches fongiques :

Le repiquage des souches des champignons filamenteux est différent par rapport à la méthode de repiquage bactérien.

La technique la plus utilisée est la technique de transfert d'un morceau de gélose avec du mycélium et le déposer sur la surface de la boîte (qui contient le milieu de culture PDA stérile pour la croissance des champignons).

Le transfert des morceaux de gélose avec les mycéliums est fait à l'aide d'une anse de platine stérile.

- On dépose le morceau de gélose avec du mycélium au centre de la boîte .
- on recommence le transfert, toujours en respectant les conditions stériles pour éviter la contamination.

Après l'incubation des boîtes une semaine à 30°C dans l'étuve, on observe chaque boîte contenant le mycélium bien développé.

7. Détermination de la sensibilité aux antiseptiques Pour les espèces bactériennes.

7.1. Matériels et méthodes utilisées

7.1.1. Milieu de culture :

Mueller-Hinton (MH) milieu sélectif pour la croissance des bactéries. (**Annexe 2**).

7.1.3. Préparation des disques des Antiseptiques :

- **Confection et Stérilisation :**

Cette étape de préparation est réalisée par un perforateur, on coupe le papier wattman par le perforateur en petits disques et on les dépose dans le coton puis dans la boîte de Pétri en verre, enfin on fait la stérilisation des disques par autoclavage



Figure 13: Les disques de papier Wattman avant et après stérilisation.

- **Imbibition et séchage des disques :**

Après la stérilisation des disques de papier, On imbibe vingtaine disques dans chaque produit utilisé puis on les dépose dans une boîte de Pétristérile pour séchage pendant 24 heures, cette étape est réalisée avec une pince stérile sous la haute à flux laminaire pour éviter la contamination.

Note : à la fin de l'imbibition des disques pour chaque produit on trempe la pince stérile dans l'alcool pour éviter l'intrication des colorants des produits entre eux.

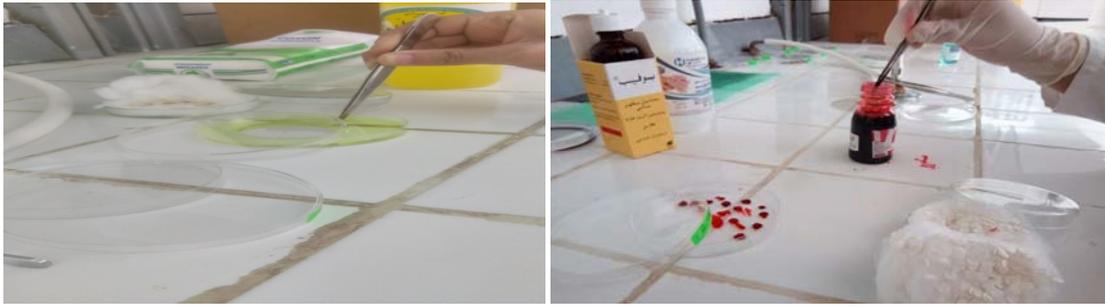


Figure 14: Exemple de préparation des disques de l'eau de javel et l'éosine aqueuse.



Figure 15: Préparation des disques d'antiseptiques.

7.1.4. Technique de l'Antiseptogramme.

Un **Antiseptogramme** est une technique de laboratoire visant à tester l'efficacité des produits à concentrations connues sur les souches bactériennes ou fongiques. Dans notre étude, on a utilisé des disques de papier wattman qui sont déjà préparés.

- **Principe :**

La méthode de diffusion ou antiseptogramme standard sont les plus utilisées par les laboratoires de diagnostic. Des disques de papier wattman imprégnés d'antiseptiques à tester sont déposés à l'aide d'une pince stérile à la surface d'un milieu Muller-Hinton, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier.

- **Technique :**

1. **Réalisation d'une suspension :**

A l'aide d'une pipette Pasteur stérile, on prélève une colonie bien isolée d'une culture de 18h à 24h, puis on décharge la pipette dans un tube contenant de l'eau physiologique stérile sous agitation à l'aide d'un vortex. La concentration de la suspension doit être équivalente à 0.5 McFarland.

2. **Ensemencement par inondation :**

L'ensemencement par inondation doit se faire dans les 15 min qui suivent la préparation de l'inoculum. Il est réalisé par l'inondation de la suspension bactérienne sur la totalité de la surface gélosée de la boîte de pétri.

On va laisser absorber 30 secondes, enfin on va ré aspirer l'excès de la suspension à la pipette Pasteur stérile, et on laisse la boîte sécher 15 minutes. Cette opération se fait pour toutes les suspensions bactériennes.

7.1.5. Dépôts des disques des antiseptiques:

Les disques préparés sont posés à l'aide d'une pince stérile. Les disques doivent être parfaitement appliqués à plat sans glissement. Une distance doit séparer un disque périphérique au bord de la boîte et deux disques doivent être éloignés à 3 cm pour que les zones d'inhibition ne se chevauchent pas.

Après l'incubation des boîtes 24 heures à 37°C dans l'étuve, on observe l'existence de zone d'inhibition autour des disques.

- **Incubation et lecture :**

Après l'incubation à 37°C pendant 24h, la lecture s'effectue en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition de chaque disque d'antiseptique et désinfectants à l'aide d'une règle. Le diamètre de la zone varie selon la sensibilité de la souche.

8. Détermination de la sensibilité aux antiseptiques pour les champignons filamenteux.

8.1. Matériels et méthodes utilisés :

8.1.1. Milieu de culture :

Potato Dextrose Agar (PDA) milieu sélectif pour les champignons (**annexes 1**).

8.1.2. Techniques de l'antiseptogramme pour les champignons filamenteux et *Candida albicans*.

- **Préparation des témoins :**

Les témoins sont réalisés dans les mêmes conditions mais sans antiseptique et les mesures sont faites après 72 heures d'incubation.

- **Techniques :**

- ✓ **Champignons filamenteux :**

Pour étudier l'action des antiseptiques sur les moisissures, nous avons utilisé la méthode de contact directe. Elle consiste à verser 1 ml des concentrations différentes d'antiseptiques et désinfectants (1 ml/boîte), une quantité suffisante du milieu de culture PDA est coulé dans des boîtes de Pétri stériles à raison de 15 ml pour chaque boîte.

Des cylindres mycéliens issus des cultures âgées des espèces étudiées sont ensuite déposés au centre de chaque boîte (1 disque /boîte).

✓ *Candida albicans* :

Pour cette levure, nous avons utilisé la même technique d'antiseptogramme réalisée pour les bactéries. La concentration de la suspension doit être équivalente à 0.01 Mc Farland.

• **Incubation et lecture :**

Après l'incubation à 30°C à l'étuve pendant une semaine (144 heures), la lecture s'effectue en mesurant le diamètre de la zone de croissance de l'espèce fongique à la surface du milieu PDA à l'aide d'une règle, puis on les compare avec les témoins et aux valeurs précédents. Pour *candida albicans*, l'incubation à 30°C pendant 48h, la lecture s'effectue en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition de chaque disque d'antiseptique et désinfectants à l'aide d'une règle. Le diamètre de la zone varie selon la sensibilité de la souche.

La mesure de ces diamètres permet de classer les résultats obtenues en deux catégories : **Présence de lyse, Absence de lyse.**

9. Antibiogramme:

• **Lieu d'étude :**

L'étude a été réalisée au niveau de laboratoire de Bactériologie du centre hospitalier universitaire de Constantine (CHU).

La sensibilité de toutes les souches identifiées (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* (souche 1), *Escherichia coli* (souche2), *Enterobacter*, *Bacillus subtilis*, *Proteus mirabilis*) est testé vis-à-vis des antibiotiques par la méthode d'antibiogramme standard par diffusion sur gélose **Mueller-Hinton** selon les recommandations du Comité Française de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CFA-SFM).

• **Ensemencement et incubation :**

On prélève 3 à 5 colonies et on les dissocie dans 5 ml d'eau physiologique stérile;

- On ensemence par écouvillonnage les boîtes de gélose Mueller- Hinton;
- On dépose les disques d'antibiotiques à tester;
- On incube les boîtes pendant 24 heures à 37°C.

• **Lecture :**

La mesure se fait à l'aide d'un pied à coulisse ; les différents diamètres des zones d'inhibition obtenues autour les disques des antibiotiques.

L'interprétation en **sensible(S) ou résistante (R)** est effectuée selon les critères définis par le **CFA-SFM (Annexe 2)**.

Chapitre 3 : résultats et discussions

1. Sensibilité aux antiseptiques :

1.1. Les bactéries à Gram positif :

Le test de l'antiseptogramme a été réalisé selon la même méthode utilisée pour les antibiogrammes, par la technique de diffusion sur milieu gélosé. La lecture donc est semblable, on cherche des zones claires autour des disques d'antiseptiques et on mesure leurs diamètres.

Les résultats d'antiseptogramme pour les bactéries Gram+ sont récapitulés dans le tableau 5.

Tableau 5 : profil de sensibilité aux ATS pour les bactéries Gram+.

Produit	Spectre d'activité		
	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus sp</i>
Soluté de Dakin	6 mm	6 mm	6 mm
Eau oxygénée	30 mm	28 mm	45mm
Alcool chirurgical	6 mm	6 mm	6 mm
Eosine aqueuse	27 mm	6 mm	6 mm
Vitabact	18mm	6 mm	6 mm
Povidone iodée	20mm	9 mm	8 mm
Saforelle	/	8 mm	/

Légende :

/ : Test non réalisé

✓ La sensibilité au soluté de Dakin

Dans notre étude toutes les souches testés à Gram⁺ montrent une résistance complète (100%) au soluté de Dakin (figures 19,20,21), cette résistance peut s'expliquer par le fait que ces bactéries possèdent des mécanismes évolués leur permettant d'échapper de l'action bactéricide de ce produit, il s'agit d'un nombre de modifications qui interviennent au niveau de la membrane externe ce qui empêche la fixation et la pénétration de cet ATS à l'intérieur (La détermination de la résistance

touche surtout les gènes qui codent les pompes d'efflux, ces gènes peuvent être nés dans les plasmides des espèces à Gram⁺ ou codés dans les chromosomes d'espèces à Gram⁻ (Benmansoure,2015).

✓ **La sensibilité à L'eau oxygénée**

Les bactéries à Gram⁺ présente une sensibilité totale à l'eau oxygénée (100%). Malgré que les souches testées sont catalase positive, c.à.d. elles peuvent le dégrader, mais il se peut que la concentration dépasse leur tolérance à ce produit (figures 19, 20, 21).

✓ **La sensibilité au Povidone iodée**

Les résultats montrent une sensibilité pour une seule souche de Gram⁺ (*Bacillus subtilis*) à cette solution antiseptique (figure 19), cette sensibilité s'explique par le fait que cette bactérie est distante de la zone d'utilisation de cet ATS. Par contre les deux souches de *Staphylococcus* sont résistantes (figures 20,21), ce qui explique que le contact répété entre ces souches avec la Povidone iodée provoque une résistance acquise contre ce produit. Ces résultats sont similaires à ceux rapportés par (Fongoro ,2006) qui a évalué la prescription et l'utilisation des ATS dans le service de chirurgie pédiatrique.

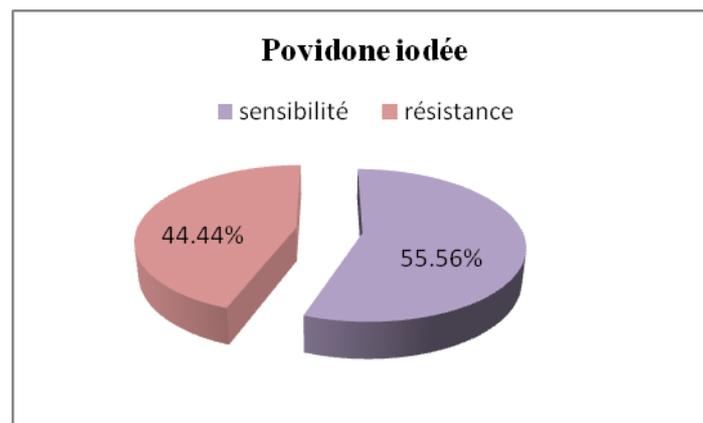


Figure 16 : Pourcentage sensibilités au Povidone iodée.

✓ **La sensibilité à L'alcool chirurgical**

L'ensemble des bactéries à Gram⁺ montre une résistance envers l'alcool chirurgical (100%) c'est pour cette raison que ce produit n'est plus employé dans le cas d'une infection cutanée soit superficielle ou profonde, mais demeure utilisé pour la désinfection de la peau saine avant injection et prise de sang ou autres actes nécessitant l'asepsie. De plus, ces bactéries sont toujours en contact avec la zone d'utilisation de ce produit (peau) de ce fait elles ont développés une résistance à l'encontre de celui-ci (figures 19,20, 21).

✓ La sensibilité à l'éosine aqueuse

Seule *Bacillus subtilis* qui présente une forte sensibilité (figure 17) à l'éosine aqueuse (figure 19). Sachant que cette bactérie est d'origine tellurique, donc loin de la zone d'utilisation de ce produit et cela explique sa sensibilité en premier contact. Par contre, les souches de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus sp* sont résistantes (voir figures 20, 21) à cause d'une adaptation avec cet ATS conduisant à une résistance acquise.

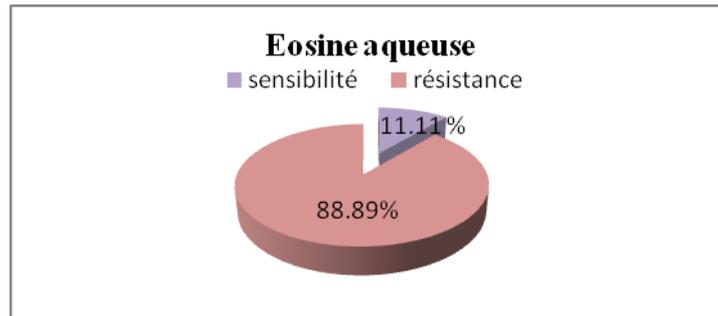


Figure 17: Pourcentage Sensibilité des bactéries à l'Eosine aqueuse.

✓ La sensibilité au vitabact

Concernant ce produit, la souche *Bacillus subtilis* était sensible à cette ATS (figures 18,19), par contre les deux souches de *Staphylococcus* ont été résistantes (figures 20,21) car ces derniers souches faisant partie de la flore cutanée donc exposées à l'effet de ce produit surtout lors d'écoulement de l'excé.

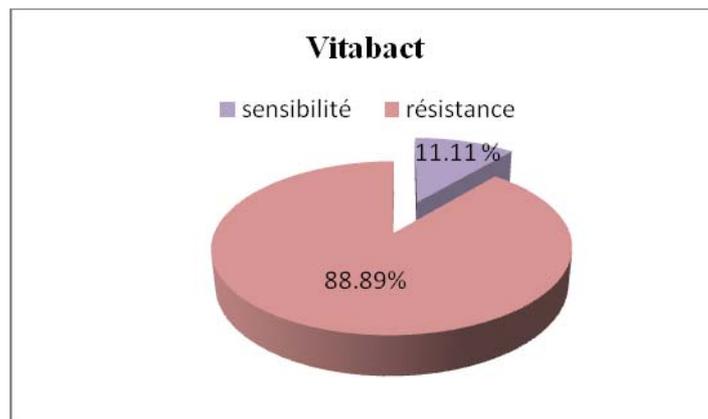


Figure 18: Pourcentage de sensibilité au Vitabact.

✓ **La sensibilité au Safforelle**

Toujours dans le but d'étudier l'effet des antiseptiques, on a choisi le produit Safforelle connu par son utilisation comme soin des voies génitales, il a été testé sur deux microorganismes capables de provoquer une infection vaginale : *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*. Notre résultat montre que la souche de *Staphylococcus aureus* est légèrement sensible à ce produit (figure 20), ce résultat est cohérent car cette souche fait partie de la flore cutanée donc toujours en contact direct avec ce produit.

Les résultats d'antiseptogramme vis-à-vis les bactéries à Gram+

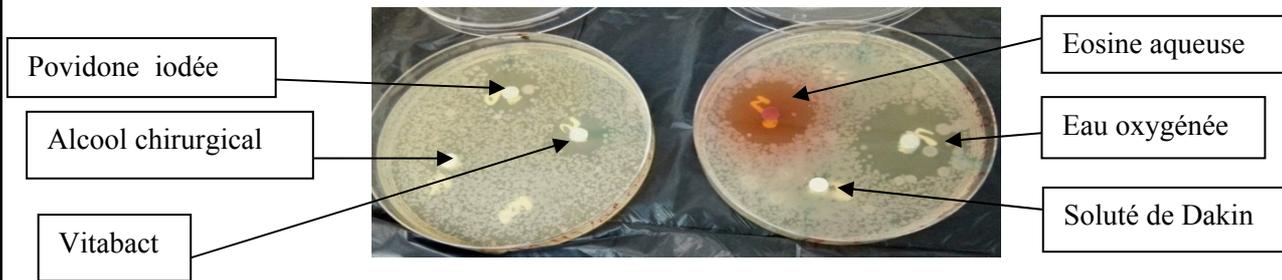


Figure 19: Les zones d'inhibition des antiseptiques testés pour *Bacillus subtilis*.

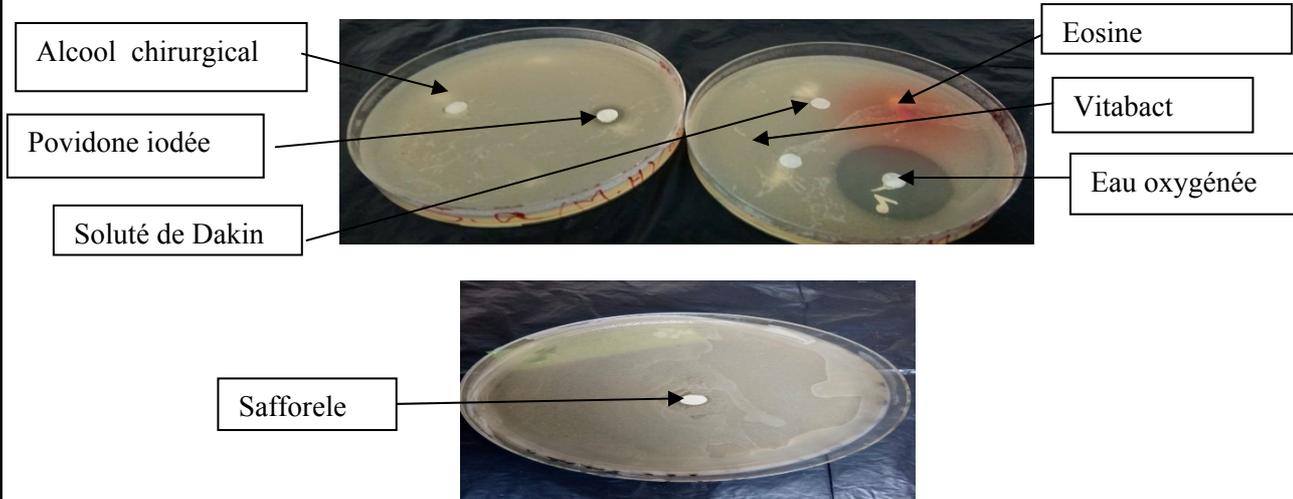


Figure 20 : Les zones d'inhibitions des antiseptiques testés pour *Staphylococcus aureus*.



Figure 21 : Les zones d'inhibitions des antiseptiques testés pour *Staphylococcus sp*

1.2. Les bactéries à gram négatif :

Pour les bactéries Gram -, les résultats d'antiseptogramme sont récapitulés dans le tableau 06.

Tableau 06 : profil de sensibilité aux ATS pour les bactéries à Gram⁻.

Produit	Spectre d'activité					
	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>E. coli (souche 1)</i>	<i>E. coli (souche 2)</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Soluté de dakin	7 mm	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm
Eau oxygénée	45 mm	35mm	25mm	34 mm	35 mm	33 mm
Alcool chirurgical	7 mm	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm
Eosine aqueuse	9 mm	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm
Vitabact	6 mm	9 mm	9 mm	8 mm	6 mm	6 mm
Povidone iodée	15 mm	9 mm	9 mm	15 mm	10mm	13 mm

✓ **La sensibilité au soluté de Dakin**

Les bactéries à Gram⁻ testées montrent une résistance au soluté de dakin à (100%), cette résistance peut s'expliquer par le fait que cet ATS est utilisé comme désinfectant plus que ATS car les Entérobactéries sont trouvées dans la matière fécale, en contaminant les mains, elles sont toujours en contact avec ce produit (figures 23,24,25,26 et 27).

✓ **La sensibilité à l'eau oxygénée**

En ce qui concerne les bactéries à Gram⁻ on a remarqué une sensibilité totale à l'eau oxygénée (100%) (figures 23, 24, 25, 26 et 27). Étant donné que ces souches sont des catalase positives et qui normalement peuvent agir contre ce produit, ce comportement peut provenir de sa forte concentration (3%) Ce résultat est similaire à celui rapporté par (Fongoro, 2006).

✓ **La sensibilité à l'éosine aqueuse**

Les bactéries à Gram⁻ ont une très grande résistance (100%) contre l'éosine aqueuse donc ils ont développés une résistance (acquise) contre ce produit car ils sont fréquemment en contact avec la zone d'utilisation de l'éosine aqueuse pour la raison

de son utilisation superficielle pour le séchage des plaies et des muqueuses humides (figures 23, 24, 25, 26 et 27).

✓ **La sensibilité au Vitabact**

Toutes les bactéries à Gram⁻ sont résistantes au Vitabact car ces bactéries possèdent une résistance naturelle contre ce produit (figures 23, 24, 25, 26 et 27).

✓ **La sensibilité au Povidone iodée**

L'effet bactéricide du **Povidone iodée** chez les Gram⁻ a été marqué contre les quatre souches (*Proteus mirabilis*, *Enterobacter* et *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*) (figures 22, 25, 26, 27). Cette sensibilité est expliquée par le fait que l'effet du Povidone iodée est combiné de deux ATS (Teinture iode + Alcool iodée). Tandis que les deux souches *d'E. Coli* ont été résistantes pour cet ATS, ce résultat est en accord avec ceux rapportés par (Tran et al ,2016).

✓ **La sensibilité à L'alcool chirurgicale**

L'ensemble des bactéries à Gram⁻ montre une résistance envers l'alcool chirurgical (100%), cela résulte de l'acquisition d'une résistance contre ce produit, de plus ces bactéries sont éloignées de la zone d'utilisation de ce produit (la peau), (figures 22, 23, 24, 25, 26 et 27).

Résultats d'antiseptogramme vis-à-vis les bactéries à Gram⁻

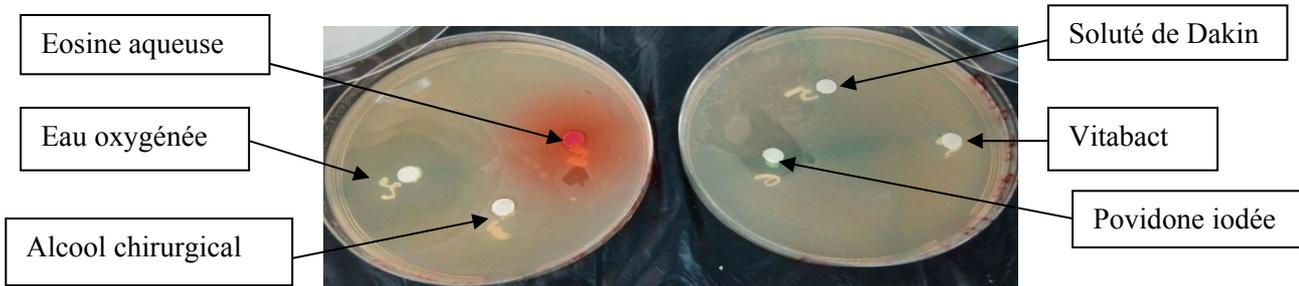


Figure 22: Les zones d'inhibition des antiseptiques testés pour *Proteus mirabilis*.



Figure 23: Les zones d'inhibition des antiseptiques testés pour *Escherichia coli* (souche 1).



Figure 24: Les zones d'inhibition des antiseptiques testés pour *Escherichia coli* (souche 2).



Figure 25: Les zones d'inhibition des antiseptiques testés pour *Pseudomonas aeruginosa*.

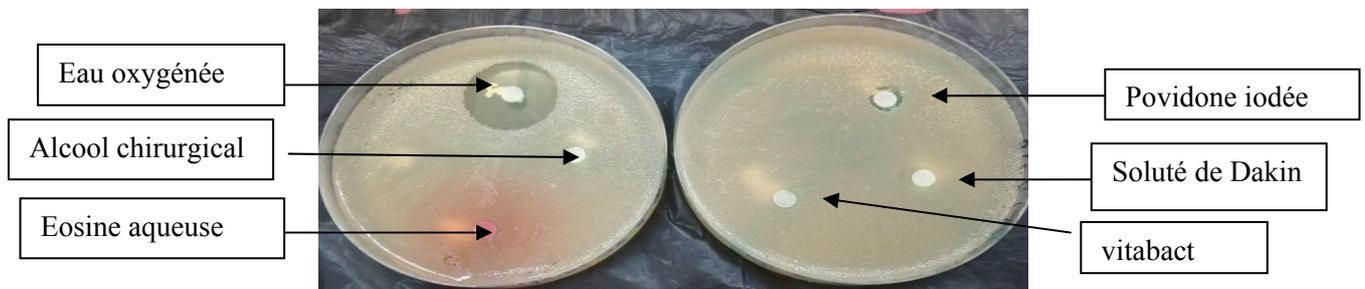


Figure 26: Les zones d'inhibition des antiseptiques testés pour *Enterobacter*.

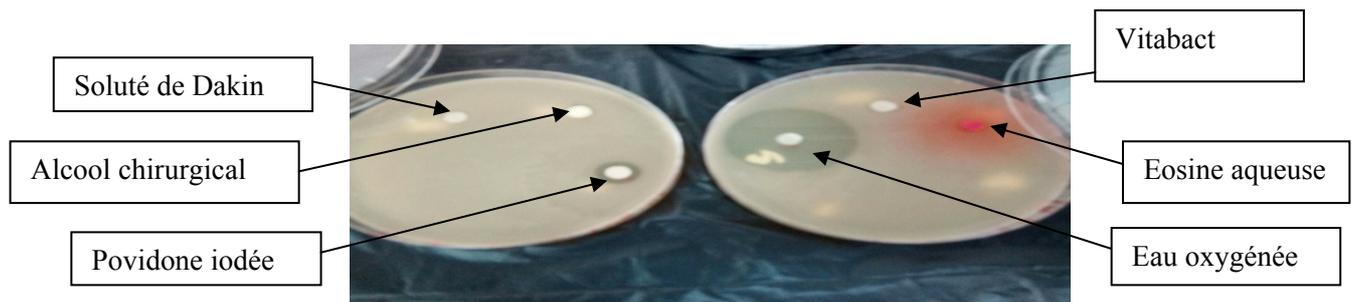


Figure 27: Les zones d'inhibitions des antiseptiques testés pour *Klebsiella pneumoniae*.

1.3. Les champignons filamenteux et *Candida albicans*:

✓ **Les champignons filamenteux :**

L'activité antifongique des produits testés est révélée par la présence ou l'absence de la croissance mycélienne. La lecture de l'antiseptogramme consiste à déduire à partir de la mesure des diamètres des croissances mycéliennes en présence et en absence d'antiseptique.

Les résultats des diamètres des colonies fongiques (champignons) sont récapitulés dans le tableau 07.

Tableau 07 : Profil de sensibilité des champignons aux antiseptiques.

Produit	Spectre d'activité					
	<i>Aspergillus Fumigatus</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Fusarium sp</i>	<i>Penicillium chrysogenum</i>	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Candida albicans</i>
Soluté de dakin	43 mm	60 mm	60mm	50 UFC	63 mm	6 mm
Eau oxygénée	Diffuse (tapie)	47 mm	44mm	4 UFC	40 mm	8 mm
Alcool chirurgical	Diffuse (tapie)	57 mm	62 mm	34 UFC	62 mm	6 mm
Eosine aqueuse	Diffuse (tapie)	60mm	62 mm	90 UFC	39 mm	6 mm
Vitabact	Diffuse (tapie)	66 mm	61mm	20 UFC	51 mm	6 mm
Povidone iodé	Diffuse (tapie)	64mm	65 mm	10 UFC	33mm	60 mm
Saforelle	/	/	/	/	/	20 mm
Témoins	80 mm	80 mm	80 mm	100 UFC	80 mm	/

Légende :

/ = test non réalisé.

✓ ***Candida albicans* :**

Après incubation, les disques d'ATS ont été entourés de zones d'inhibition circulaires correspondant à une absence de culture (activité antifongique). La lecture de l'antiseptogramme consiste à déduire la sensibilité à partir de la mesure des diamètres de ces zones (tableau 7).



Figure 28: Résultats d'antiseptogramme de *Candida albicans*.

✓ La sensibilité au soluté de dakin:

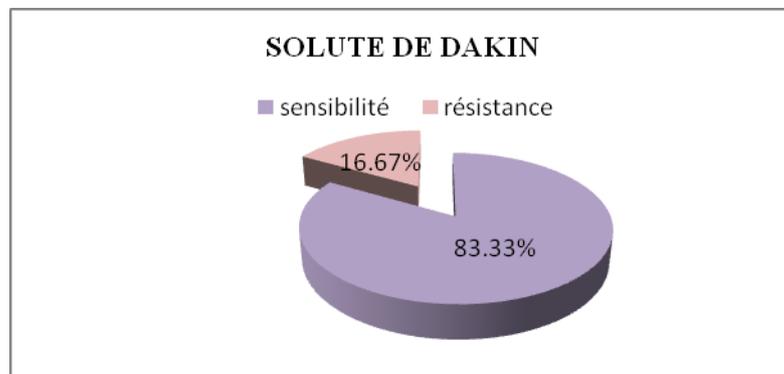


Figure 29 : Pourcentage de sensibilité des souches fongiques au Dakin.

D'après les résultats obtenus, on constate que l'ensemble des moisissures testées sont sensibles au **Soluté de Dakin** (voir figure 29). Cette sensibilité est due à l'activité antifongique de cet ATS. En revanche *Candida albicans* apparaît résistante à ce produit.

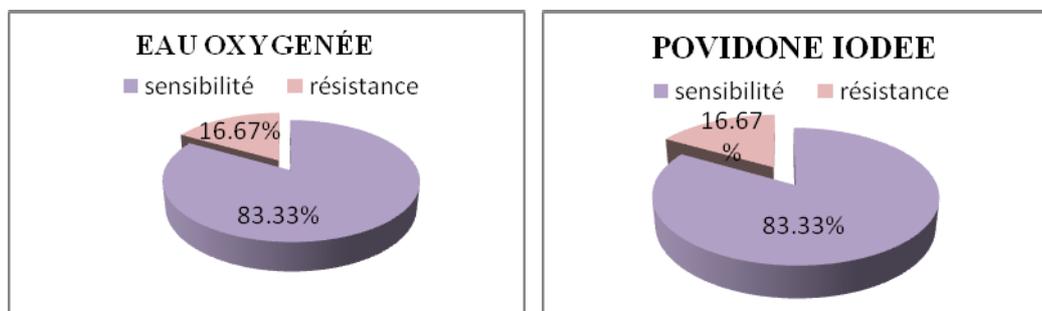


Figure 30: Pourcentage de sensibilité des souches fongiques à l'Eau oxygénée et au Povidone iodée.

En ce qui concerne l'eau oxygénée / Povidone iodée, On remarque que la quasi-totalité des souches fongiques testées se montrent sensibles mis à part *Aspergillus fumigatus* qui était résistant pour les deux antiseptiques (voir figure 30).

Cette sensibilités résulte peut être de forte concentration de ces ATS et de leur activité à large spectre (action fongicide).

L'action de l'eau oxygénée est due à la production des radicaux hydroxyles qui attaquent la membrane cellulaire et capable de traverser rapidement la membrane cellulaire. Et celle de Povidone revient à son pouvoir oxydant (comme les autres halogénés) sur les protéines enzymatiques et membranaires.

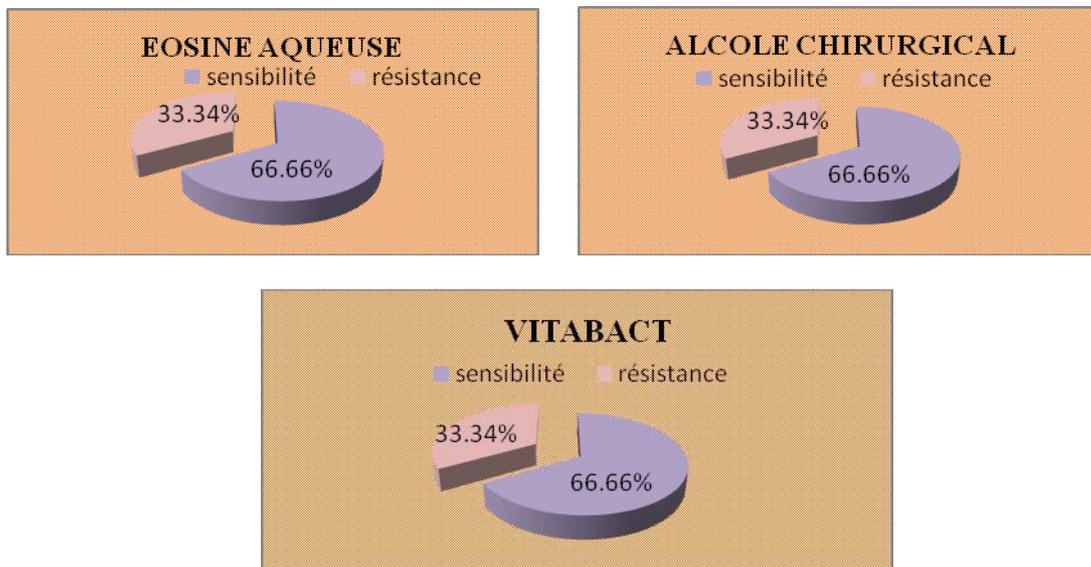


Figure 31: Pourcentage de sensibilité des souches fongique à l'Eosine aqueuse, Alcool chirurgical, et le Vitabact.

Les résultats obtenus pour **Eosine aqueuse, Alcool chirurgical, Vitabact** sur les souches testés (*Aspergillus niger, Fusarium sp, Penicillium chrysogenum, Alternaria alternata*) sont les mêmes, on enregistre un taux de sensibilité élevée (66.66%), ce qui valide leur utilisation superficielle épidermique qui est capable de sécher les mycoses superficielles que causent ces souches (voir figure 31).

Par contre *Aspergillus Fumigatus* et *Candida albicans* présentent une résistance de (33.34 %) (Voir figure 33) à ces ATS ; cela résulte de l'acquisition d'une résistance contre ces produits. En plus de l'action fongicide de ces ATS qui est faible sur ces deux souches.

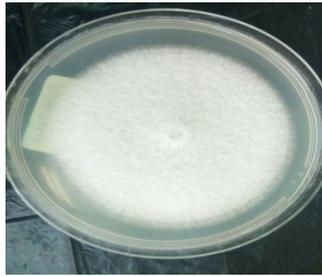
✓ Sensibilité au Saforelle :

A partir des résultats obtenus, *Candida albicans* présente une forte sensibilité pour le Saforelle (voir figure 28) ce qui confirme l'efficacité de ce produit et justifie son utilisation pour traiter les candidoses génitales.

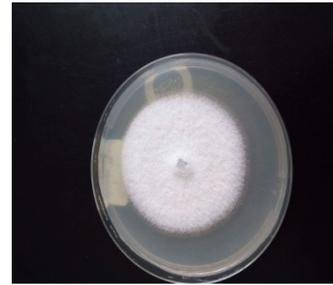
Les résultats d'antiseptogrammes pour les moisissures (*Fusarium sp* et *Aspergillus niger*) sont illustrés par les figures (32 et 33).



PDA + Eosine aqueuse



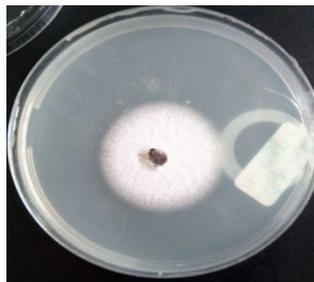
PDA + soluté de Dakin



PDA + Alcool chirurgical



PDA + Vitabact



PDA + Eau oxygénée



PDA + Povidone iodée



Témoin

Figure 32 : La croissance mycélienne de *Fusarium sp* en présence et en absence d'ATS.

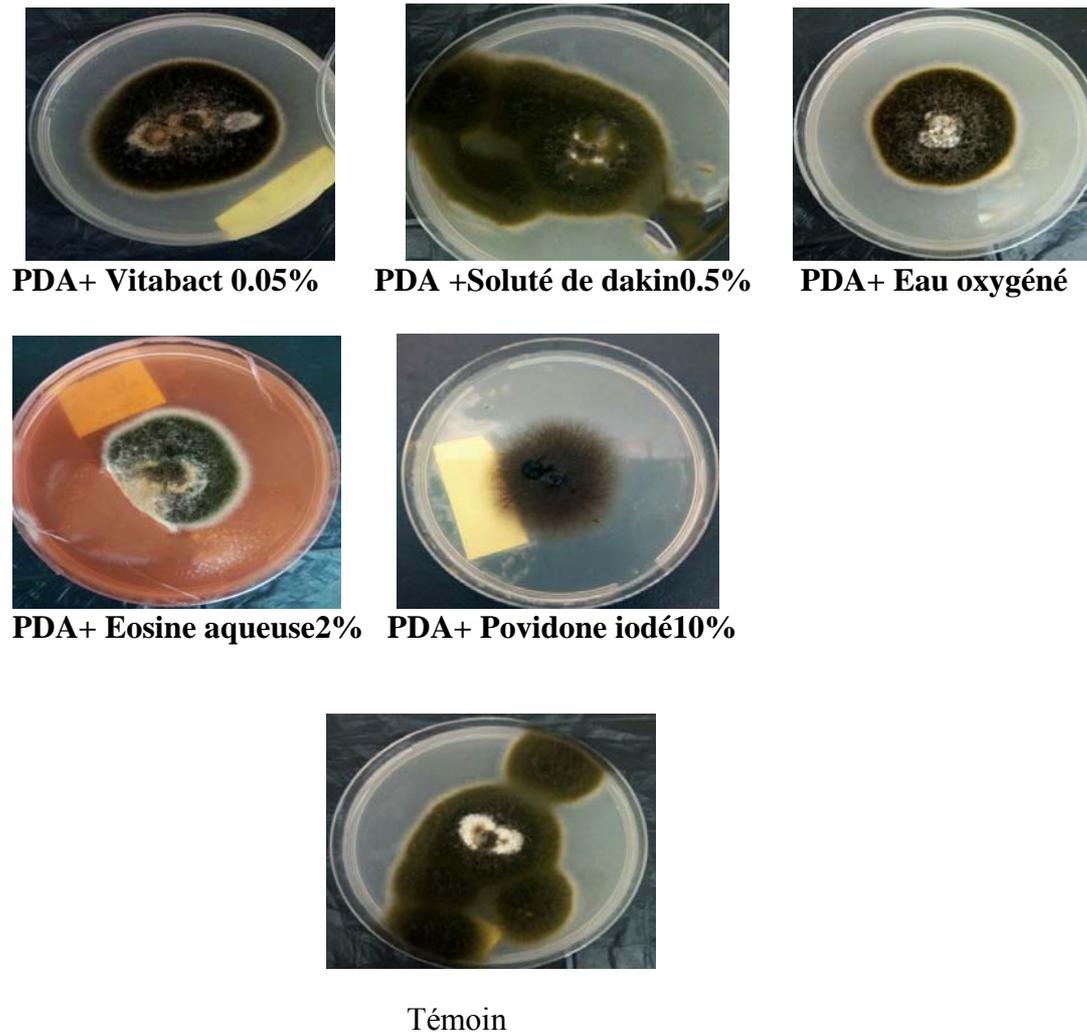


Figure 33: La croissance mycélienne d'*Aspergillus niger* en présence et absence d'ATS.

2. L'antibiogramme :

L'antibiogramme a été réalisé par la méthode de diffusion sur gélose Mueller-Hinton et interprété après la mesure des diamètres d'inhibition selon les recommandations du Comité d'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie CA-SFM 2018. (Voir Annexe 3).

L'interprétation du test de l'antibiogramme a été faite par la méthode de détermination de la sensibilité d'une souche de bactérie vis-à-vis de divers antibiotiques.

L'interprétation des résultats est simple ce qui explique son intérêt :

- Une souche est dite sensible à un antibiotique si sa croissance peut être réduite par un traitement à base de cet antibiotique
- Une souche est dite intermédiaire à un antibiotique si elle n'est pas atteinte par un traitement standard ; mais si une augmentation de la dose d'antibiotique permet de détruire ce germe.

-Une souche est dite résistante à un antibiotique si elle ne peut être atteinte par ce traitement même en augmentant les doses d'antibiotique.

Les résultats de l'antibiogramme, sont reportés dans le tableau 08.

Tableau 08 : Les résultats de l'antibiogramme pour toutes les souches testées.

Souche/ATB	<i>Pseudomona s aeruginosa</i>	<i>E. coli</i> (1)	<i>E. coli</i> (2)	<i>Klebsiella pneumonia e</i>	<i>Proteus mirabili s</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
TICARCILLINE (TIC)	I (20mm)	R (<6mm)	R (<6mm)	R (9mm)	R(<6m m)	S (25mm)	/
PIPERACILLNE (PRL)	S (25mm)	R (<6mm)	R (<6mm)	R (<6mm)	R(<6m m)	S (24mm)	/
PIPERACILILIN E+TAZOBACTA M	S 2.7 (mm)	/	/	/	/	/	/
CEFTAZIDIME (CAZ)	S (2.5mm)	/	/	/	/	/	/
AZTREOMAN (ATM)	S (2.6mm)	R (10mm)	S (28mm)	S (26mm)	S (35mm)	/	/
FOSFOMYCINE(FOS)	S (30mm)	S (32mm)	S (31mm)	R (<6mm)	S (24mm)	S (27mm)	S (18mm)
GENTAMICINE (GN)	S (19mm)	S (22mm)	R (<6mm)	S (19mm)	S (26mm)	S (21mm)	/
SULFAMETHOX AZOLE+ TRIMETOPRIM E(TMP)	R (<6mm)	S (28mm)	S (26mm)	R (<6mm)	S (35mm)	S (33mm)	/
COLISTINE (CT)	S (15mm)	S (16mm)	S (15mm)	S (15mm)	R(6mm)	S (16mm)	/
AMOXICILLINE (AMC)		R (<6mm)	S (25mm)	R (<6mm)	R(<6m m)	R (12mm)	S (24mm)
CEFAZOLINE (CZ)	/	S	R (19mm)	R (16mm)		R(<6mm)	S (24mm)
CEFOXITINE (FOX)	/	S (26mm)	S (26mm)	R (6mm)	S (20mm)	R(<6mm)	/
CEFOTAXIME (CTX)	/	R (10mm)	S (18mm)	S (28mm)	S (26mm)		R(24mm)

ERTAPE NEM (ETP)	/	S	S (32mm)	S (28mm)	S (30mm)	S (31mm)	/
ACIDE NALIDIXIQUE (NA)	/	S (24mm)	S (23mm)	I (17mm)	I (14mm)	S (22mm)	/
NITROFURANTOINE	/	S (26mm)	/	/	/	/	/
TETRACYCLINE	/	/	/	I (19mm)	R(<6m)	/	/
PENICILLINE	/	/	/	/	/	/	R
ERYTHROMYCINE (E)	/	/	/	/	/	/	S(29mm)
MINOCYCLINE (MNO)	/	/	/	/	/	/	S (28mm)
SPIRAMYCINE (SP)	/	/	/	/	/	/	S (28mm)

Légende :

/ = non réalisé

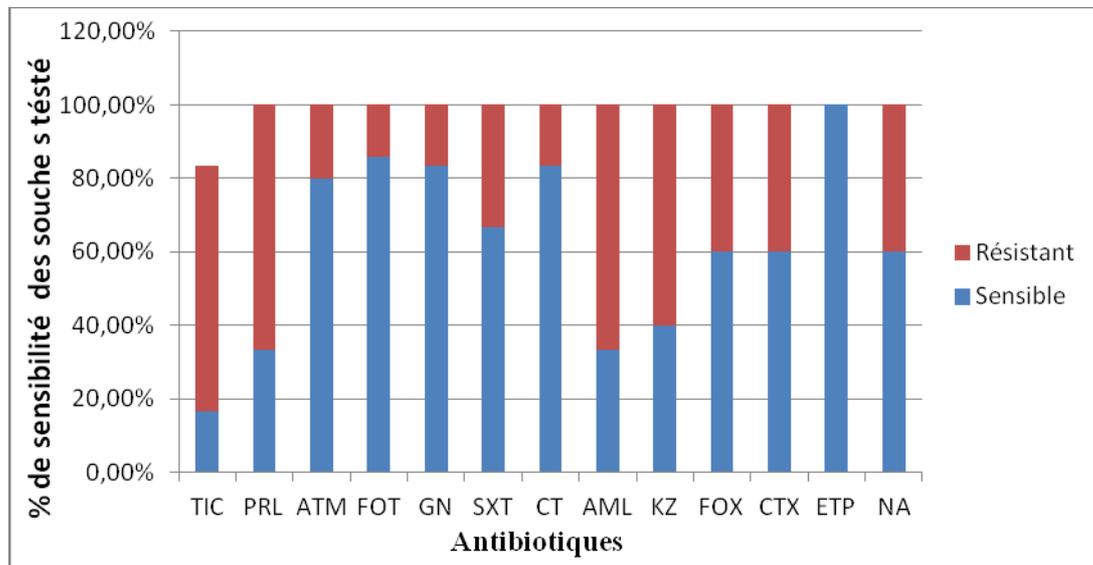


Figure 34: Profil de sensibilité des souches testées aux antibiotiques.

Selon les résultats présentés dans le profil de sensibilité des Souches testé aux antibiotiques, on peut déduire les pourcentages de la sensibilité des souches testées pour chaque antibiotique est comme suivant:

- (ETP) 100% - (FOS) 85.71% - (GN) 83.33% et (CT) 83.33% - (AMC) 66.66% - (FOX) et (CTX) 60 % - (CZ) et (NA) 60 % (figure 34).

✓ **Résistances des germes aux antibiotiques :**

Selon les résultats obtenus, la souche *Klebsiella pneumoniae* présente une résistance pour tous les antibiotiques de la famille bêta lactamines testés : L'AMC, TIC, PIP, FOS, FOX et STX. Ce résultat est similaire à celui rapporté par (Badri et Nacib ,2016).

Ce résultat pourrait être expliqué par le fait que *Klebsiella* a une résistance naturelle pour les β -lactamines.

La souche d'*Enterobacter* avait une grande résistance pour : L'AMC, CZ et CTX, (figure 35). D'autre part nos résultats se rapprochent de ceux trouvés par (Badri et Nacib ,2016).



Figure 35: Résultats de l'antibiogramme d'*Enterobacter*.

Pour les souches *E.coli1* et *E. coli 2* présentent une résistance aux bêta-lactamines : L'TIC, PIP, ATM, CZ, FOX. Il se peut que ces souches sont productrices des bêta lactamases qui inactivent ces antibiotiques par hydrolyse du noyau bêta –lactame. Ces résultats sont en accord avec ceux de (Benabdallah ,2016), qui ont montré aussi une résistance aux bêta-lactamines.

De même, la souche *Proteus mirabilis* avait une résistance élevée à tous les antibiotiques de la famille B-lactamines testés : L'TIC, PIP, CZ, AMC, TE. Cette résistance est due à une résistance naturelle à ces ATB. Nos résultats sont relativement très proches de ceux mentionnés par (Hamdouche ,2016).

En Comparant entre les résultats de la résistance contre les ATB et ceux envers les ATS, il en ressort que :

- Pour *Pseudomonas aeruginosa* , elle était sensible à la quasi-totalité des ATB alors qu' on a trouvé (4/6) résistance envers les ATS. Ce qui signifie une résistance très élevé contre les ATS par apport aux ATB.

- Pour *E. coli* (1 et 2) le taux de résistance contre ATB est assez importante (5/14 et 4/14 respectivement), tandis que le taux de résistance est élevé contre les ATS (5/6) chez les 2 souches d'*E. Coli*.
- Pour *Klebsiella pneumoniae*, on a constaté un taux de résistance élevé envers les deux types d'antibactériens (ATB (7/12) et les ATS (4/6)).

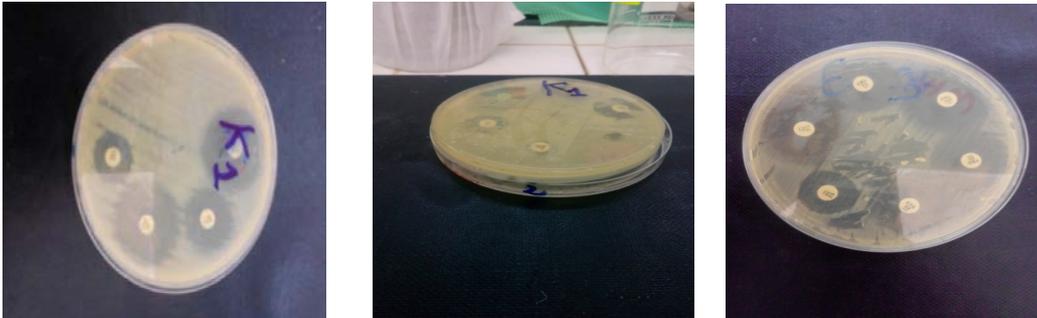


Figure 36 : Résultats de l'antibiogramme de *Klebsiella pneumoniae*.

- Pour *Proteus mirabilis*, les résultats ont montré un taux de résistance moyenne vis-à-vis les ATB (5/13) devant un taux élevé à l'encontre des ATS (4/6).
- Pour *Bacillus subtilis*, les résultats montrent un taux de résistance un peu faible vis-à-vis les deux types d'antibactériens (ATB (2/7) et les ATS (2/6)).
- Pour *Enterobacter*, on a enregistré un taux de résistance faible contre les ATB (3/8) par contre elle a montré un taux élevé envers les ATS (4/6).

Selon ces données, on constate qu'il ya eu des bactéries résistantes aux ATB et aux ATS au même temps (résistance aux ATB accompagnée d'une résistance aux ATS), pour d'autres bactéries ce n'est plus le cas (*E. coli* et *Enterobacter*), elles présentent une résistance plus importante aux ATS qu'aux ATB, ces dernières risquent de développer une résistance aux médicaments.

Plusieurs études en laboratoire ont déjà relevé la possibilité que l'utilisation de biocides puisse mener au développement de bactéries résistantes aux ATB. Il n'existe pas de méthode de test standard pour établir un lien entre les deux, et les résultats de différents laboratoires sont contradictoires (**anonyma1**).

Mais ce qui est claire que les biocides pourraient constituer une menace directe pour la santé humaine s'ils entraînent la survie de certaines bactéries nocives résistantes aux antimicrobiens. Même l'émergence de bactéries résistantes inoffensives résultant de l'utilisation de biocides pourrait poser une autre menace indirecte, les gènes qui leur confèrent la résistance pouvant potentiellement être transférés à des bactéries nocives.

Conclusion

CONCLUSION

Les antiseptiques sont des médicaments destinés à l'usage externe, à des fins préventives vis à vis des infections ; cependant certains permettent de contribuer au traitement des infections localisées, superficielles ou profondes. Ils doivent répondre à un certain nombre de critères. Il faut leur posséder une efficacité antibactérienne, antifongique et antivirale vis à vis des microorganismes présents sur le revêtement cutané et muqueux. Cette activité doit être obtenue rapidement et maintenue.

Le fait que les antiseptiques soient utilisés dans de nombreux produits différents et en grandes quantités pourrait contribuer à rendre des bactéries surtout résistantes à la fois aux ATB et aux ATS.

Dans ce travail nous avons employé la méthode d'antiseptogramme pour le contrôle in vitro de l'activité antimicrobienne des antiseptiques (bactéricide, fongicide).

L'activité de ces différents produits d'antiseptiques (Soluté de Dakin, Eau oxygénée, Alcool chirurgical, Eosine aqueuse, Vitabact, Povidone iodée, Safforele) a été étudiée sur 7 souches bactériennes et 5 fongiques et une levure.

Les résultats obtenus montrent un comportement différent de sensibilité microbienne vis-à-vis des antiseptiques testés.

Nous avons déduit que l'Eau oxygénée est un antiseptique de bonne qualité (forte action et de large spectre d'activité). Cependant la Povidone iodée a donné une activité antifongique plus importante que l'antibactérienne, cela due au développement de bactéries d'une résistance contre ce produit.

Par ailleurs, l'alcool chirurgical n'avait pas une action sur les souches testées. Pour cette raison qu'il n'est pas employé dans le cas d'une infection cutanée soit superficielle ou profonde et il est réservé pour la désinfection de la peau saine avant injection et prise de sang ou autres actes nécessitant l'asepsie.

L'inefficacité de l'éosine aqueuse a été soulignée pour la plupart des bactéries. Cet ATS est surtout à utilisation superficielle pour le séchage des plaies et des muqueuses humides. Par contre chez les champignons on constate que ce produit a une activité importante.

Le soluté de dakin possède une activité antifongique uniquement contre l'ensemble des champignons testés, le contact continu avec cette solution dans l'environnement a entraîné une résistance bactérienne contre ce produit.

D'autre part, en comparant l'effet de ces antiseptiques par rapport aux antibiotiques testés, on a constaté que la résistance était simultanée aux ATB et ATS pour la majorité des cas, il existe des cas où les bactéries montre une résistance plus aux ATS qu'aux ATB. Etant donné que les biocides et ATB fonctionnent bien souvent de façon similaire et différents mécanismes ont permis à certaines bactéries de devenir résistantes aux deux à la fois, ces souches peuvent développer ultérieurement une résistance à ces ATB.

L'utilisation répétée des antibiotiques constitue toujours la principale cause de résistance aux ATB dans la pratique clinique, même si l'utilisation des antiseptiques peut jouer un rôle. En outre, les biocides constituent une ressource précieuse qui ne devrait pas être utilisée quand cela n'est pas nécessaire.

Afin de préserver notre capacité à traiter les infections avec les ATB :

- Une bonne hygiène doit être pratiquée pour prévenir les maladies.
- Le personnel soignant devrait être formé à l'utilisation appropriée des désinfectants et antiseptiques.
- Il est ainsi recommandé d'établir des programmes de surveillance pour contrôler le niveau de résistance et de résistance croisée dans les établissements de soins de santé et dans l'industrie alimentaire.

Références bibliographiques

RÉFÉRENCE BIBLIOGRAPHIQUES

A

Avorn, J,L ; Barrett, J,F ; Davey, P ; Mcewen, S ; O'Brien,T ; Levy, S. (2001).Organisation mondiale de la santé (OMS).Antibioticresistance : synthesis of recommendation by expert policy groups alliance for the prudent use of antibiotics [en ligne].(Date de consultation le 10/04/2018). http://whqlibdoc.who.int/hq/2001/who_cds_drs_2001.10.pdf

B

Badri, N ;Necib,T. (2016).Etude de la sensibilité aux antibiotiques des souches des entérobactéries isolée de fromage frais artisanale "Jben". Mémoire master de recherche : Microbiologie Appliquée à la Sante et l'Environnement : Université de Larbi Tébessi –Tébessa-, N°72,74.

Benabdallah-khoja, A ;Hamlaoui,Y. (2016). Etude phénotypique de quelques souches d'Escherichia coli productrices des carbapénèmases. Mémoire master de recherche: Microbiologie générale et biologie moléculaire des microorganismes. Université des Frères Mentouri Constantine, N°33.

Benmansour, N. (2015). Contrôle de qualité d'un antiseptique de fabrication locale vendu en pharmacie : l'eau de Dakin. Mémoire master recherche : Chimie Physique et Analytique. Université Abou-BekrBelkaid Tlemcen : la faculté des sciences de département de chimie, N°69.

Bouchara, J-P ; Pihet, M ; De Gentile, L ; Chabasse, D. (2010). Les levures et levures. Cahier de bioformation Biologie médicale. N°44. 14-34.

BOUTELDJA, N. (2011). Les antiseptique, Hygiène Hospitalière / Antiseptiques. [En ligne]. (Date de consultation le 20/05/2018).

C

Carattoli, A. (2001).Importance of integrons in the diffusion of résistance. Veterinary Research, N°32, 243-259.

Chaurasia, B;Pandeya, A ; Palnib, L ; Trivedia, P ; Kumara, B ; Colvinc, N. (2005). Diffusible and volatile compounds produced by an antagonistic *Bacillus subtilis* strain cause structural deformations in pathogenic fungi in vitro. *Microbiological Research*, N°160, 75-81.

D

Delarras, C. (2007). *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire*. Ed : TEC et DOC.

Dewilde-blanc, N, I, J. (2002). *Les antiseptiques : substituts aux antibiotiques en médecine vétérinaire*. Thèse Doctorat vétérinaire : La faculté de médecine de Créteil, N°116.

Dumartin, B. (2000). *antiseptiques et désinfectants*. CLIN paris nord.

F

Fongoro, B. (2006). *évaluation de la prescription et l'utilisation des antiseptiques dans le service de chirurgie pédiatrique*. Thèse Doctorat : Pharmacie et d'Odonto Stomatologie Bamako : Faculté de Médecine, N°105, 71, 72, 73,74.

Freney, J. (1995). *Association d'antiseptiques et désinfectants : Antisepsie et désinfection* édition ESKA.

G

Genevois, G. (1992). *Les antiseptiques en médecine vétérinaire*. *Point Vét*, N°24, 229,234.

George, G; Khchatourians, B. (1998). *Agricultural use of antibiotics and the evolution and transfer of antibiotic-resistant bacteria*. *Canadian medical association*, N°195, 1129,1136.

H

Hamdouche, C ;Tabai, A. (2016). *Proteus mirabilis au niveau CHU Constantine Caractérisation biochimique, microbiologique et la mutagénèse*. Mémoire master de recherche: Génétique Moléculaire. Université des Frères Mentouri, N°52.

Holt, J. (1986). Bergey's Manual of Systemic Bacteriology, Williams & Wilkins, Baltimore MD, Vol. I &II.

Huber, W. (1988). Chemotherapy of microbial, fungal and viral diseases. ⁶ Veterinary pharmacology and therapeutics, N°33, 765-784.

J

Joly, Y ; Reynauld, K. (2003). *Acinobacterbaumannii* : étude de la sensibilité des souches isolées à l'hôpital militaire d'instruction Mouhammed V, Rabat, Maroc, N° 70.

K

Kaita, M. (2004). Contrôle de qualité des antiseptiques à usage externe au laboratoire national de la santé. Thèse de Doctorat : pharmacie. Bamako, N°300.

Koenig, H. (1995). Guide de mycologie médicale : paris : Édition marketing S.A. N°268.

L

Laurence, B ; Boiko, A. (2006). Guide d'utilisation des antiseptiques, Hygiène Hospitalière, Pharmacie Centrale [en ligne]. (Date de consultation le 30/05 /2018). www.cpias-auvergnerhonealpes.fr

Lowy, F. (1998). *Staphylococcus aureus* infections. Research master thesis, N° 339, 520,532.

M

Maryse, A ; Danielle, C. (2004). Fiche technique : Bactériologie 051 en ftbac, Laboratoire de Bactériologie. Hygiène CHU Toulouse Rangueil, N° 1, 4.

N

Nauciel, C. (2000). Bactériologie médicale, Paris : Masson N°47,128,152,148.

P

Parry, J ; Turnbull, P; Gibson, J. (1983). A colour Atlas of *Bacillus* Species: Wolfe Medical Publications. Ltd, London.

Philips, J. (1955). In vitro studies on *Proteus* organisms of animal origin. JHYG (lond), N° 53, 26,31.

Pierre, A ; Marie, C. (2003). Bactériologie- niveau DCEM1. Faculté de médecine. N°122.

Placet, T. (2001). le bon usage des antiseptiques. groupe de travail CCLIN Sud-Ouest, version [en ligne]. (Page consultée le 10/04 /2018). N°7,1.

Poole, K. (2002). Mechanisms of bacterial biocide and antibiotic resistance. Applied Microbiol Symposium Suppl . N°92, 55,6.

R

Rousseau , A ; Cornet, M ; Carnot, F ; Brasnu, R ; Bruneval, P ; Badoual , C. (2005). Les mycoses en otorhinolaryngologie. Ann Pathos, N° 25,2, 104,16.

S

Sautter, A. (2004). Antiseptiques et désinfectants, cours infirmières de salle d'opération, [en ligne]. (Date de consultation 23/0 /2018).
http://pharmacie.hugge.ch/ens/conferences/ams_antisept2004.pdf.

Sougakoff, W ; Trystam, D. (2003). Résistance aux B-Lactamines. Mémoire de master : Faculté de Médecine. Université de Paris-VI, N°83.

Souley , L ; Moustapha, F . (2002). Sensibilité et évolution de la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques à l'hôpital du point G. thèse de doctorat: pharmacie. Université de BAMAKO, N°95.

T

Tran, P ; Desai, A ; Luth, K ; Huynh, E ; Dong, H. (2016) An invitro Study of 2.5, 5.0, and 10% Providone-Iodine (Betadine) Solutions in Inhibiting the Growth of Different Gram Negative and Gram Positive Providone-Iodine (Betadine) Solutions in Inhibiting the Growth of Different Gram Negative and Gram Positive. Pathogens Showed a Lack of Efficacy with Several Bacterial Species. J Ophthalmol Ophthalmic Surg ,Volume 2 (1): 100111.

Z

Zimmerman, S ; Schwartz, C ; Monaghan, R ; Pleak, B ; Weissberger, B ; Gilfillan, E ; Mochales, S ; Hernandez, S ; Currie, S ; Tejera, E ; Stapley, E. (1987). Difficidin and oxydifficidin : novel broad spectrum antibacterial antibiotics produced by *Bacillus subtilis*. J. Antibiotics, N°40, 12,1677 ,1681.

Les anonyms

[1]http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/opinions_layman/fr/bi-ocides-resistance-antibiotiques/index.htm

[2] Centre hospitalier saint-joseph de Beyrouth pharmacie. Antiseptiques et Désinfectants [en ligne]. (Page consulté le 25 /04/2018).

[Www.17_desinf.pdf](#)

[3]Classification en Suisse des produits désinfectants et antiseptiques [en ligne].(Page Consulté le 07 /04/2018). [Www.](#)

[desinfectant_suisse_siegriest.pdf](#)

[4] Antiseptiques et désinfectants. (2000) [en ligne]. (Date de consultation 15/06/2018).[ANTISEPTIQUES ET DESINFECTANTS PDFreaannecy.free.fr >guide_desinfectant](#)

[5] Le bon usage des antiseptiques.Groupe de travail CCLIN SUD-OUEST.(2000/2001) [en ligne]. (Date de consultation 12 /05/2018).[www.cclin-sudouest.com/recopdf/atsp2p.pdf](#)

[6] Directive 65/65/CEE du 26 janvier (1965).

[7] Bon usage des antiseptiques chez l'adulte ; CCLIN Sud-Est .(2012).

[8] Antiseptique et désinfectants. (2007) [en ligne]. (Date de consultation le 09/05/2018). <http://www.hcuge.ch/Pharmacie/infomedic/cappinfo.htm>

CAPP-INFO-N° 46, ou : <http://www.hug-ge.ch/QuickPlace/pharmacoclin/Main.nsf>

[9] Moisissures : Mucorales, Penicillium, Aspergillus Mucorales...
[PDF microbia.free.fr](http://microbia.free.fr) > Mycologie > moisissures.

ANNEXES

Annexe 1

1. Milieux deculture

1.1. Milieux de base

▪ **Gélose nutritif (GN)**

Macération de viande 1L
(Eau distillée + extrait de viande)
Peptone trypsine 15g
NaCl ou KCl..... 05g
Agar 15 à 20 g
PH final 7,2 – 7,4
Autoclavage à 115°C pendant 20min.

▪ **Potato dextrose agar (PDA)**

Pomme de terre trachée200 g
Eau disstillé.....1 L
EXTROSE.....20 g
AGAR AGAR.....20 g
PH final 7,2 – 7,4
Autoclavage à 120°C pendant 20min.

▪ **Eau physiologique**

Chlorure 09g
Eau distillée..... 1000 ml
PH= 7

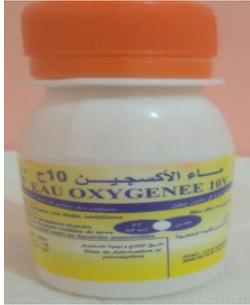
1.2.Milieux utilisé pour l'étude de sensibilité des bactéries aux antiseptiques et aux ATB

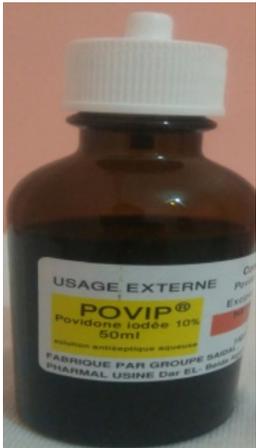
▪ **Mueller-Hinton (MH)**

viande de bœuf300.0g/l
Hydrolysate de caséine.....17.5 g/l
Amidon.....1.5 g/l
Gélose..... 17.0 g/l
PH final 7, 4
Stériliser à 121°C pendant 15min.

Annexe 2

Tableau représente les indications inscrites sur les flacons des produits testés.

Produit	Famille	Composition	Concentration	Indication
EAU OXYGENEE 	Les Oxydants	- Peroxyded'hydrogène -Eau distillée, stabilisant.	3%	-Pour décaper les dermatoses ulcérées. -Utile aussi pour les plaies souillées de terre. -A cause de son activité contre les bactéries anaérobies.
ALCOOL CHIRURGICAL 	Les Alcools	-Ethanol 96% -Eau distillée -Bleu de méthylène	70°	-désinfectant de la peau avant injection et prise de sang.
EOSINE AQUEUSE 	Les Colorants	-Eosine -Eau distillée	2%	-traitement d'appointe des lésions de la peau susceptible de ce surinfectée. -érythème fessier du nourrisson.

<p>POVIDONE IODEE</p> 	<p>Halogènes</p>	<p>-povidone (DCI) iodée. -nonoxinol 9. -glycérol. -hydroxyde de sodium. - hydrogénophosphate disodique anhydre. -Acide citrique monohydraté.</p>	<p>10%</p>	<p>antiseptique iodé à large spectre bactéricide, fongicide et virucide à usage strictement externe - antiseptie des plaies ou brûlures superficielles et peu étendues. -traitement d'appoint des affections de la peau et des muqueuses primitivement bactériennes ou susceptibles de se surinfecter. -antiseptie de la peau de champ opératoire.</p>
<p>VITABACT (collyre chlorhydrate de picloxydine)</p> 	<p>Les Halogènes</p>	<p>-Chlorhydrate de picloxydine 0.05 g -Quantité correspondant en -Picloxydine Base à 0.0434 g. Pour 100 ml de collyre -polysorbate 80 -Glucose anhydre -Eau purifiée</p>	<p>0.05%</p>	<p>- antiseptique pour usage ophtalmique. -ce médicament est un collyre antiseptique. - ce médicament est un préconisé dans le traitement de certaines infections superficielles de l'œil.</p>
<p>SOLUTE DE DAKIN</p> 	<p>Halogènes chlorés</p>	<p>-Hypochlorite de sodium 0.5 g de chlore actif. -Permanganate de potassium 0.001 g -Stabilisant, eau purifiée 100 ml</p>	<p>0.5%</p>	<p>-Utilisé comme antiseptique. - s'applique directement seul ou à l'aide d'une compresse :en lavage des plaies et des muqueuses et en bains :des doigts de pieds, ou de siège.</p>
<p>SAFFORELE</p> 		<p>-Extraits naturels de bardane et L'allantoïne</p>	<p>125 ml</p>	<p>Soin lavant doux.</p>

Annexe 3

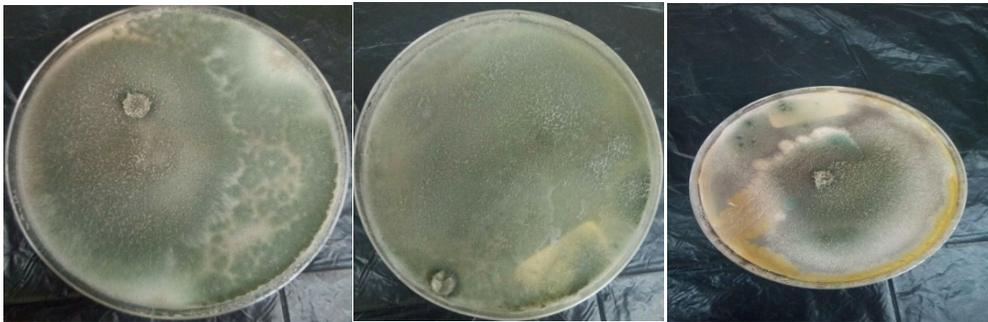
Tableau : des disques Charges des antibiotiques testés et caractérisation des diamètres de la zone d'inhibition selon les normes du CA-SFM (Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie).

Antibiotiques testés	Charge des Disques en µg	Diamètre d'inhibition (mm)	
		Sensible	Résistant
PENICILINE	6 µg	-	-
OXACILINE	5 µg	≥20	<20
AMOXILILLINE	25 µg	≥21	<16
CEFAZOLINE	30 µg	-	<17
CEFOXITINE	30 µg	≥27	<25
CEFOTAXIME	30 µg	≥27	<25
GENTAMICINE HN	15µg (10 ul)	≥16	<16
STREPTOMYCINE HN	10 µg	≥15	<13
TELITHROMYCINE	15µg	≥24	<21
SULFAMETHOXAZOLE+ TRIMETOPRIME	1.25/23.75 µg	≥24	-
COLISTIN	50 µg	≥15	<15
AZTREONAME	30 µg	≥23	<21
CEFTAZIDIME		≥	<
PIPERACILLINE+	-	≥	<
TICARCILINE+ ACLAVULANIQUE	75/10 µg	≥24	<22
PIPERACILLINE	75 µg	≥20	<18
ACIDE NALIDIXIQUE	30 µg	≥20	<15
ERTAPENEM	-	≥0.5	-
NITROFURANTOINE	300 µg	≥15	<15
MINOCYCLIN	MINOCYCLINE	-	- -
FOSFOMYCINE	FOSFOMYCINE	50µg	≥14 <14
PRISTNAMYCINE	PRISTNAMYCINE	15 µg	≥19 < 19
TETRACYCL NE	TETRACYCL NE	15 µg	≥24 <21
MINOCYCLINE	MINOCYCLINE	-	- -

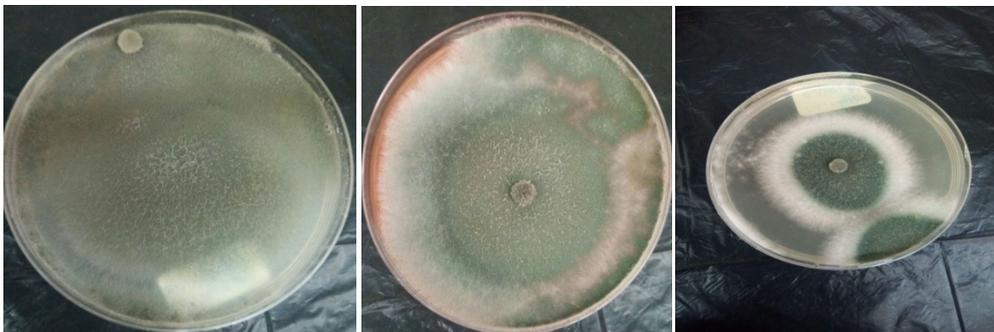
Annexe 3

1) Figures de tous les champignons filamenteux testés :

✓ *Aspergillus fumigatus* :



PDA+ Vitabact PDA+ Alcool chirurgical PDA+ Povidoneiodée



PDA+Eau oxygénée PDA+ Eosine aqueuse PDA+ soluté Dakin



Témoin

✓ *Piniciliumchysogenum*



PDA+Eau oxygénée

PDA+ Vitabact

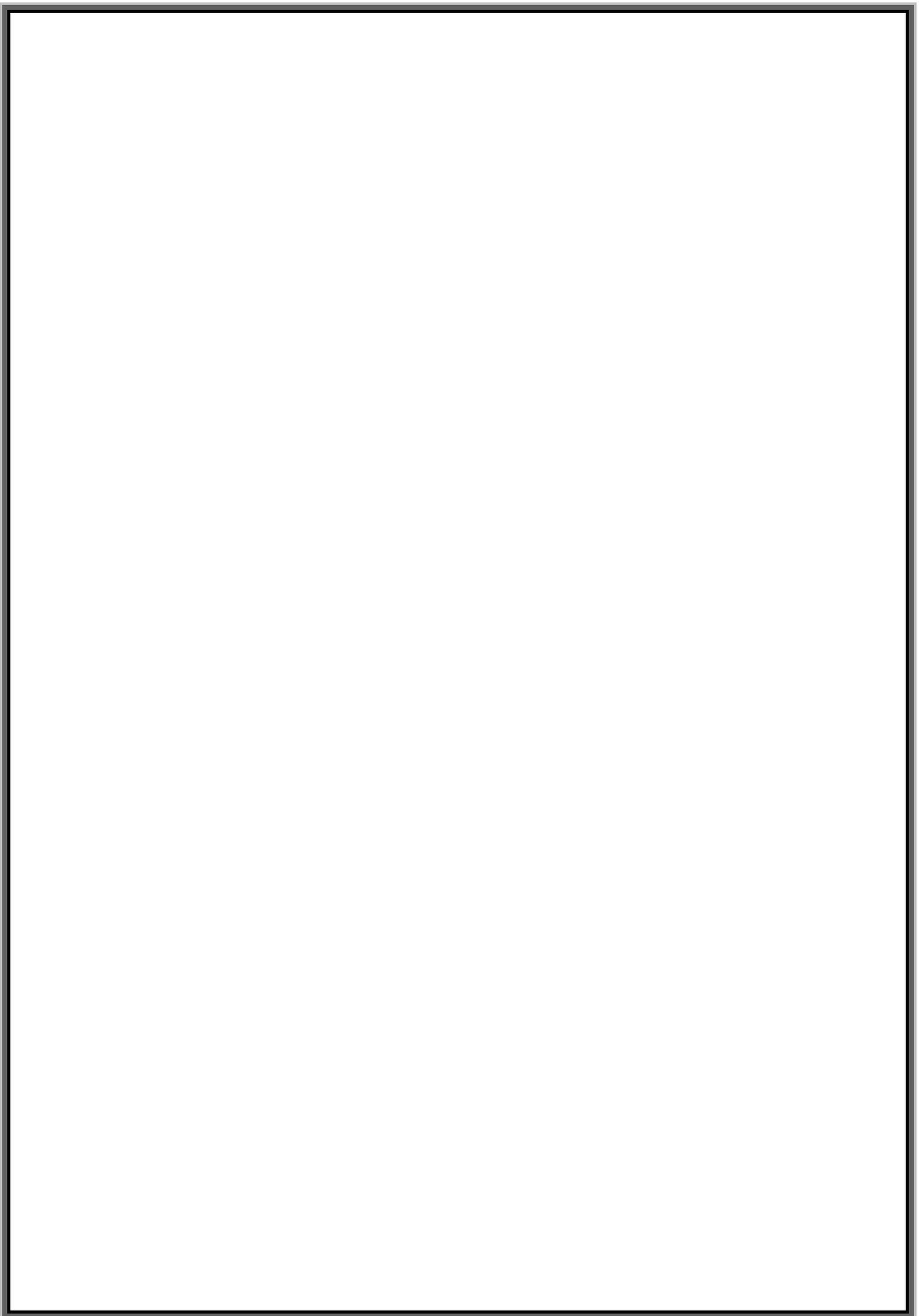
PDA+ Povidone iodée



PDA+Alcool chirurgical PDA + Eosine aqueuse PDA+ Dakin



Témoin



Année universitaire : 2017/2018

Présenté par : TEBBOUNE Ines
AROUI Abir

Actions de quelques antiseptiques sur certaines souches Microbiennes potentiellement pathogènes.

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie Moléculaire des Microorganismes

Résumé

Dans le but de contrôler la validité de 7 antiseptiques (alcool chirurgical, éosine aqueuse, povidone iodé, eau oxygénée, vitabact, dakin et saforelle), nous avons testé leur activité vis-à-vis sept souches bactériennes pathogènes ou potentiellement pathogènes (*E.coli*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus sp*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*) et envers cinq souches fongiques (*Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Fusarium sp*, *Alternaria alternata* et *Penicillium chrysogenum*) plus une levure *Candida albicans*.

La méthode appliquée « l'antiseptogramme » est similaire à celle de l'antibiogramme pour les bactéries. Mais celle impliquée pour les moisissures est la comparaison entre les diamètres des colonies en présence et en absence d'ATS.

Les résultats obtenus montrent que l'eau oxygénée est la plus efficace du fait qu'elle possède à la fois une activité bactéricide et fongistatique, ensuite elle vient la povidone iodée qui a aussi un spectre large d'activité. Cependant les autres ATS ont une activité variable.

En consultant le profil de résistance des bactéries testées, il ressort que la plupart des cas de la résistance aux ATB est accompagnée d'une résistance aux ATS, pour d'autres bactéries ce n'est plus le cas (*E. coli* et *Enterobacter sp*). En effet, la possibilité que l'exposition continue de microorganismes aux ATS puisse mener à l'émergence de souches résistantes reste une source de préoccupations.

Mots clés : Antiseptique, Antibiotique, Résistance, Bactérie, Champignons

Laboratoire de recherche : laboratoire de microbiologie (université de frères Mentouri de Constantine).

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mlle.ABDELAZIZE Wided (Professeur - UFM Constantine 1).

Rapporteur : Mme MERGOUD, L (professeur -UFM Constantine 1).

Examinatrice : Mme ZERMAN, F (professeur -UFM Constantine 1).

Date de soutenance : 02/07/2018