



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère De l'Enseignement Supérieur et De la Recherche Scientifique



UNIVERSITÉ ABBES LAGHROUR - KHENCHELA

FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE MOLÉCULAIRE ET CELLULAIRE

MÉMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de

MASTER ACADÉMIQUE

Domaine : **Sciences de la Nature et de la Vie**

Filière : **Science biologique**

Option : **Microbiologie appliquée**

***Évaluation de l'efficacité microbiologique, In-vivo, de quelques
produits hydro-alcooliques commercialisés en Algérie***

Présenté par :

BOUZIDI Malek Aridj

BOUTERAA Houria

BENAROUA Imene

Membres du jury:

Présidente : **Dr.HANOUNE Saida.** (MCB) Univ. AbbèsLaghrou-Khenchela

Encadreur : **Dr.YAKHLEF Wahiba.** (MCB) Univ. AbbèsLaghrou-Khenchela

Examinatrice : **Dr.MELLAL Hanane.** (MAA) Univ. AbbèsLaghrou- Khenchela

2021 - 2022

Remerciements

On remercie ALLAH tout puissant qui nous a donné le courage et la volonté et de nous avoir bénie jusqu'à la réalisation de ce modeste travail.

On tient à remercier particulièrement notre encadreur **Dr. YAKHLEF Wahiba**, Maitre de Conférences à l'Université Abbes Laghrour Khenchela, d'avoir proposé et dirigé ce travail, pour toute l'aide qu'elle nous a fournit pendant la préparation de ce mémoire. Merci pour votre patience ainsi que votre générosité. On n'a pas assez des mots pour décrire votre noblesse. Malgré vos multiples occupations, vous étiez toujours disponible. Apprendre à vos côtés a été un grand honneur. Que Dieu vous récompense.

Nos vifs remerciements vont également aux membres de jury:

Dr. HANOUNE Saida, Maitre de Conférences à l'Université Abbes Laghrour Khenchela, qui a honoré ce travail en acceptant de présider le jury. On la remercie profondément.

Dr. MELLAL Hanane, Maitre assistante à l'Université Abbés Laghrour Khenchela, nous sommes très reconnaissantes d'avoir accepté d'examiner ce travail.

On remercie également **Mme CHORFI Rafika**, Responsable des laboratoires pédagogiques de l'université Abbes Laghrour Khenchela, et tout son personnel pour l'accueil et l'aide qui nous ont apporté durant le déroulement des expérimentations.

Nos remerciements vont à tous nos enseignants de la Faculté des Sciences de la Nature et de la vie.

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

Dédicace

*Je tiens tout d'abord à remercier **Allah** le tout puissant et miséricordieux.*

Je dédie ce modeste travail :

*A **mon père et ma mère**. Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour dont ils ne cessent de me combler, mes parents qui ont su construire pour moi un monde parfait. Qu'ALLAH leur procure bonne santé et longue vie.*

*A mes adorables sœurs : **Meriem, Houda, Nour El Aimane et Dhikra Hanine** vous avez toujours été présentes par vos bons conseils. Votre affection et votre soutien m'ont été d'un grand secours au long de mes années d'étude et ma vie personnelle. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.*

*A mon unique frère **Ahmed Mouhcine Naim***

*A mes petits adorables neveux : **Baraa Yacine, Mouhamed**.*

*A l'ingénieur de laboratoire « 4 » **Mme Sara** qui a été toujours gentille et serviable.*

*A mes chères amies : **Houria, Imene***

*A toute la promotion de master microbiologie **Khenchela 2021/2022***

A tous mes chers enseignants et enseignantes, que ce travail soit un témoignage de ma gratitude et mon profond respect à vous.

A tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer

Malek Aridj

Dédicace

*Je tiens en premier lieu à remercier **ALLAH** de m'avoir donné la force, le courage, la chance et la santé de mener à bien ce travail.*

*À mes amoureux **chers parents**, à qui je dois ce qui je suis*

Pour votre amour, votre soutien, votre compréhension, votre patience et votre tendresse sans limite, vous m'avez transmis de belles valeurs, vous m'avez soutenu le long de mes études et vous avez sacrifié pour ma réussite, que Dieu vous garde en bon santé et vous accorde une longue vie.

*À mon frère **Badreddine**, un grand frère formidable qui est toujours là pour moi*

Pour ton amour, encouragement, soutien infini et ton aide incessante, je souhaite un meilleur avenir, tu es ma force.

*À ma **grand-mère** et **mes tantes** pour les bons moments partagés, pour tout le soutien et l'amour que vous m'avez donné.*

*À ma meilleur et sœur du cœur **Hadil**, La vie sans vous est ennuyante,*

Pour ton encouragement et les bons moments qu'on a vécus ensemble, j'espère que notre amitié durera éternellement.

*À mes collègues **Houria** et **Malek** sans qui rien n'aurait été pareil, je tiens à vous remercier pour tout ce que vous avez fait pour réaliser ce travail qui nous a réuni.*

*À tous mes chers **ami(e)s**.*

*À tous mes **camarades de la promotion**.*

*Sans oublier tous les **professeurs** que ce soit du primaire, du moyen, du secondaire ou de l'université.*

Imene

Dédicace

À ma famille,

Mes amies,

Et tous ce qui me sont chers au cœur

Houria

Évaluation de l'efficacité microbiologique, *In-vivo*, de quelques produits hydro-alcooliques commercialisés en Algérie

Résumé :

Les produits hydro-alcooliques (PHA) ont envahi nos vies depuis le début de la COVID-19. Ces petits flacons se multiplient dans les pharmacies, les magasins, les écoles, nos sacs à main et contribuent à nous protéger contre le coronavirus et ses variants.

Notre enquête menée sur le bon usage des PHA auprès des étudiants de la faculté SNV (Université Abbes Laghrour Khenchela) a montré que le 63% des étudiants utilisant ces désinfectants sont de sexe féminin. Une insuffisance des connaissances en matière d'utilisation des PHA, a été signalée chez la majorité des étudiants interrogés (> 70%).

Les résultats de l'évaluation de l'efficacité microbiologique des PHA, *in-vivo*, ont montré que le 50% des produits testés étaient inefficaces en matière de désinfection, cela est peut-être dû à un taux d'alcool insuffisant pour garantir leur action biocide. En effet, le 60% des PHA testés et utilisés par les étudiants participant à notre enquête sont jugés non-conformes du fait d'un étiquetage incomplet qui ne mentionne pas la teneur en alcool dans ces produits.

Enfin, l'étude des caractères macroscopiques, microscopiques et biochimiques des colonies bactériennes isolées a permis l'identification de plusieurs Staphylocoques blancs à Coagulase Négative, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas luteola* et *Pasteurella pneumotropica*.

Mots-clés : PHA, Bon usage, Efficacité microbiologique, Conformité.

Evaluation of the microbiological efficacy, *In-vivo*, of some hydro-alcoholic products marketed in Algeria

Abstract:

Hand sanitizers (HS) have invaded our lives since the onset of COVID-19. These small bottles are multiplying in pharmacies, stores, schools, our handbags and help to protect us against the coronavirus and its variants.

Our survey conducted on the proper use of HS among students of the NLS faculty (Abbes Laghrour Khenchela University) showed that 63% of students using these disinfectants are female. Insufficient knowledge on the use of HS was reported among the majority of students surveyed (> 70%).

The results of the evaluation of the microbiological effectiveness of HS, *in vivo*, showed that 50% of the products tested were ineffective in terms of disinfection; this is perhaps due to an insufficient alcohol level to guarantee their biocidal action. Indeed, 60% of the HS tested and used by the students participating in our survey are deemed non-compliant due to incomplete labeling which does not mention the alcohol content in these products.

Finally, the study of the macroscopic, microscopic and biochemical characters of the isolated bacterial colonies has allowed the identification of several white Staphylococci with Negative Coagulase, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas luteola* and *Pasteurella pneumotropica*.

Keywords: HS, Proper use, Microbiological efficacy, Compliance.

تقييم الفعالية الميكروبيولوجية لبعض معقمات اليدين الكحولية المسوقة في الجزائر

ملخص:

غزت معقمات اليدين الكحولية حياتنا منذ ظهور جائحة كوفيد 19. تتكاثر هذه الزجاجات الصغيرة في الصيدليات والمتاجر والمدارس وحقائب اليد وتساعد في حمايتنا من فيروس كورونا ومتغيراته. أظهر الاستطلاع الذي أجريناه حول الاستخدام السليم لمعقمات اليدين بين طلاب كلية علوم الطبيعية والحياة (جامعة عباس لغرور خنشلة) أن 63% من الطلاب الذين يستخدمون هذه المطهرات هم إناث. لوحظ نقص كبير في المعرفة باستخدام معقمات اليدين بين غالبية الطلاب الذين شملهم الاستطلاع (أكثر من 70%). أظهرت نتائج تقييم الفعالية الميكروبيولوجية لمعقمات اليدين الكحولية، أن 50% من المنتجات المختبرة كانت غير فعالة من حيث التطهير، وربما يرجع ذلك إلى مستوى الكحول غير الكافي لضمان عمل مبيداتها البيولوجية. في الواقع، 60% من المطهرات التي تم اختبارها واستخدامها من قبل الطلاب المشاركين في الاستطلاع الخاص بنا تعتبر غير مطابقة وذلك بسبب عدم ذكر نسبة الكحول في ملصقات هذه المنتجات. أخيرًا، سمحت دراسة الصفات الماكروسكوبية والميكروسكوبية والكيميائية الحيوية للمستعمرات البكتيرية المعزولة بتحديد العديد من المكورات العنقودية البيضاء، والمكورات العنقودية الذهبية، والزائفة الصفراء، والباستوريلا.

الكلمات المفتاحية : معقمات اليدين الكحولية، الاستخدام الجيد، الفعالية الميكروبيولوجية، المطابقة.

Table des matières

Résumés

Liste des abréviations.....	I
Liste des figures.....	II
Liste des photographies	III
Liste des tableaux.....	IV

Introduction	1
---------------------------	----------

Revue bibliographique

Chapitre I : La flore cutanée

1. Définition	2
2. Types de la flore cutanée.....	3
2.1. Flore résidente	3
2.2. Flore transitoire.....	3
3. Rôles.....	4
3.1. Maintient de l'acidité de la peau.....	5
3.2. Sécrétion de substances antimicrobiennes.....	5
3.3. Interaction avec le système immunitaire	5
4. Facteurs influençant la flore cutanée.....	6
4.1. Mode d'accouchement.....	6
4.2. Age.....	6
4.3. Sexe	6
4.4. Stress environnemental.....	6
4.5. Patrimoine génétique	6
4.6. Hygiène et produits cosmétiques	7
4.7. Localisation géographique.....	7
5. Pathologies impliquées dans le déséquilibre de la flore cutanée	8

5.1. Psoriasis	8
5.2. L'acné	8
5.3. Dermateite atopique	9

Chapitre II : Les Produits Hydro Alcooliques

1. Définition	10
2. Historique	10
3. Normes de production des PHA	11
4. Formes des PHA	12
5. Composition chimique des PHA	12
5.1. Alcools	13
5.2. Antiseptiques associés	13
5.2.1. Chlorhexidine	13
5.2.2. Peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂)	13
5.3. Glycérol et autres humectants ou émoullients	14
5.4. Eau	14
6. Mode d'action	15
6.1. Mécanisme d'action contre les bactéries	15
6.2. Mécanisme d'action contre les virus	15
7. Désinfection des mains par friction hydro-alcoolique	16
8. Facteurs influençant le degré d'activité des PHA	17
9. Inconvénients dus au sur usage des PHA	17
10. Recommandations pour minimiser les effets indésirables cutanés	18

Matériel et Méthodes

1. PHA testés	19
2. Évaluation de l'efficacité des PHA choisis	20
2.1. Dénombrement de la flore cutanée avant la désinfection des mains par le PHA	20
2.2. Dénombrement de la flore cutanée après la désinfection des mains par le PHA	21

3.	Les milieux de culture utilisés.....	22
3.1.	Gélose nutritive.....	22
3.2.	Gélose Chapman	22
3.3.	Gélose Hektoen.....	22
4.	Identification de la flore cutanée isolée.....	23
4.1.	Étude des caractères macroscopiques.....	23
4.2.	Étude des caractères microscopiques	23
4.3.	Étude des caractères biochimiques des colonies à Gram positif	23
4.3.1.	Test de la catalase.....	23
4.3.2.	Test de la coagulase	24
4.4.	Étude des caractères biochimiques des colonies à Gram négatif	25
4.4.1.	Test de l'oxydase.....	25
4.4.2.	La galerie API 20 E.....	26

Résultats et Discussion

1.	Présentation des résultats du sondage sur l'utilisation des PHA.....	29
1.1.	Utilisation des PHA	29
1.2.	Répartition des étudiants utilisant un GHA par sexe.....	30
1.3.	Critère de choix du PHA par les étudiants	30
1.4.	Composition des GHA utilisés par les étudiants	31
1.5.	Fréquence d'utilisation du GHA par jour	31
1.6.	Méthode de désinfection des mains.....	32
2.	Résultats de l'efficacité des PHA testés	33
2.1.	Méthode de test de l'efficacité des PHA utilisée.....	33
2.2.	Milieux de culture utilisés	33
2.3.	Densité bactérienne des deux mains (Droite et Gauche).....	34
2.4.	Efficacité des PHA testés	34
3.	Résultats de l'identification de la flore cutanée	37

3.1. Identification macroscopique et microscopique des souches Gram positif.....	37
3.2. Identification biochimique des souches Gram positif	39
3.3. Identification macroscopique et microscopique des souches Gram négatif.....	40
3.4. Identification biochimique des souches Gram négatif	41
Conclusion et Recommandations	43
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des abréviations

AFNOR	Association Française de NORmalisation
API 20 E	Appareils et Procédés d'Identification des entérobactéries
ARN	AcideRiboNucléique
CDCP	Disease Control and Prevention
COVID-19	Coronavirus Disease 2019
EN	European Norm
GAS	Group A Staph
GHA	Gel Hydro Alcoolique
GN	Gélose Nutritive
IGE	Immuno Globulines E
IL-17	Interleukine 17
MSA	Mannitol Salt Agar
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PAMPs	Pathogen Associated Molecular Patterns
PH	Potentiel Hydrogène
PHA	Produit Hydro-Alcoolique
PSM	Phenol-soluble modulins
SCN	Staphylocoques blancs à Coagulase Négative
SHA	Solution Hydro Alcoolique
TLR	Toll Like Receptor
UFC	Unité Formant Colonie
USP	United States Pharmacopeia

Liste des figures

Figure 1. Les bactéries de la flore cutanée humaine dans les différentes zones du corps	2
Figure 2. Comparaison entre la flore bactérienne cutanée normale et psoriasique	8
Figure 3. Pathologies liées au dysbiose.....	9
Figure 4. Chronologie des désinfectants pour les mains	11
Figure 5. Les différentes formes des produits hydro-alcooliques	12
Figure 6. Méthode de friction des mains par un PHA selon l'OMS	16
Figure 7. Technique de remplissage des tubules de la galerie API20E	27
Figure 8. Utilisation des PHA par les étudiants biologistes interrogés.	29
Figure 9. Répartition des étudiants utilisant un GHA par sexe.	30
Figure 10. Critères de choix des PHA par les étudiants participant à l'enquête.	31
Figure 11. Fréquence d'utilisation par jour des GHA par les étudiants interrogés	32
Figure 12. Bon ou mauvais usage des PHA par les étudiants participant à l'enquête.	33

Liste des Photographies

Photographie 1. Application des doigts, avant la désinfection, sur la gélose Hektoen.	21
Photographie 2. La friction hydro-alcoolique des mains par le PHA.....	21
Photographie 3. Le test de la catalase.....	24
Photographie 4. Bouillon cœur-cerveille inoculé avec les souches bactériennes à tester.	24
Photographie 5. Le test de l'oxydase.....	25
Photographie 6. La galerie API20 E.....	26
Photographie 7. Répartition de l'eau stérile dans les alvéoles de la galerie.....	26

Liste des tableaux

Tableau 1. Flore cutanée résidente et transitoire.....	4
Tableau 2. Facteurs de variation de la flore cutanée.....	7
Tableau 3. Formulation des désinfectants pour les mains.....	14
Tableau 4. Les 10 PHA testés.....	19
Tableau 5. Méthode de lecture de la galerie API 20 E.....	27
Tableau 6. Résultats des dénombrements des UFC, avant et après l'application des PHA, pour les deux mains et sur les trois milieux de culture utilisés.....	35
Tableau 7. Taux de réduction des PHA testés.....	36
Tableau 8. Aspect macroscopique et microscopique des souches à Gram positif sélectionnées	37
Tableau 9. Résultats des tests biochimiques des souches à Gram positif.....	39
Tableau 10. Aspect macroscopique et microscopique des souches à Gram négatif sélectionnées.....	40
Tableau 11. Résultats des tests biochimiques des souches à Gram négatif.....	41

Introduction

La pandémie de la Covid-19 a rappelé à tous l'importance de l'hygiène, en commençant par celles des mains. C'est une mesure importante pour éviter la transmission manuportée des germes. D'un point de vue anatomique, les mains sont l'outil de préhension de l'être humain et lui servent à interagir avec son environnement (**Azdad, 2014 ; Belloir, 2021**).

Les produits hydroalcooliques (PHA) sont actuellement les seuls produits disponibles pour l'élimination rapide et efficace d'un large éventail de micro-organismes pathogènes qui peuvent être présents sur les mains. Ils peuvent diminuer de 60% les contaminations inter-humaines, mais ils ne dispensent pas d'un lavage de mains avec de l'eau et du savon. Ils sont par contre utiles quand on ne peut pas se laver les mains, par exemple dans les transports en commun. Ils peuvent aussi s'utiliser après un lavage de mains comme le font les chirurgiens au bloc opératoire (**Bengaly, 2011 ; Blaize, 2021**).

Composés de plusieurs principes actifs, notamment l'alcool et l'eau oxygénée, les PHA sont très pratiques grâce à leur évaporation rapide et au fait qu'ils peuvent être utilisés sans eau. Ces produits ont vu leur utilisation se démocratiser durant les années 2010, lorsque l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a commencé à recommander leur usage (**OMS, 2010**).

Pour être efficace, les PHA doivent avoir une concentration en alcool comprise entre 60 et 70 %, voire plus. Cela leur permet d'éliminer en 30 à 60 secondes près de 100 % des bactéries, mais aussi d'agir sur les champignons et de nombreux virus (**Belin, 2021**).

Ainsi, l'objectif de notre étude est l'évaluation de l'efficacité microbiologique, *in vivo*, de quelques PHA commercialisés en Algérie. Parallèlement aux tests de l'efficacité, nous avons mené une enquête sur le bon usage des PHA auprès des étudiants de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie (SNV) de l'Université Abbes Laghrour Khenchela.

Ce mémoire est réparti en trois grandes parties. La première partie est consacrée à l'étude bibliographique qui est composée de deux chapitres. Le premier porte sur des notions sur la flore cutanée résidente et transitoire et le deuxième traite des généralités sur les PHA, leur composition, leur mode d'action ainsi que les facteurs influençant leur efficacité. La deuxième partie est réservée à la présentation du matériel et des méthodes mis en œuvre dans ce travail. Et enfin, la troisième partie détaille la discussion des résultats obtenus ainsi que leur interprétation. Le travail est clôturé par une conclusion ainsi que des recommandations.

*Revue
bibliographique*

1. Définition

La flore cutanée est l'ensemble des microorganismes (bactéries, virus, champignons, parasites, ...) qui vivent à la surface de la peau. Vu son importance elle est classée la troisième après la cavité buccale et le tube digestif.

La peau humaine est recouverte à l'homéostasie de 10^8 à 10^{10} microbes, avec une densité allant de 10^2 /cm² (bout des doigts, dos) à 10^6 /cm² (front, aisselle). Outre la densité, la diversité et la composition microbiennes varient selon les zones étudiées, en raison de leurs différentes caractéristiques physiques, chimiques et biologiques.

Les zones riches en sébum sont colonisées majoritairement par les propionibactéries et les staphylocoques, les zones humides par les corynebactéries et les zones sèches ont une flore plus diverse, avec une prédominance de protéobactéries et de flavobactéries (Fig.1) (Braun *et al.*, 2020).

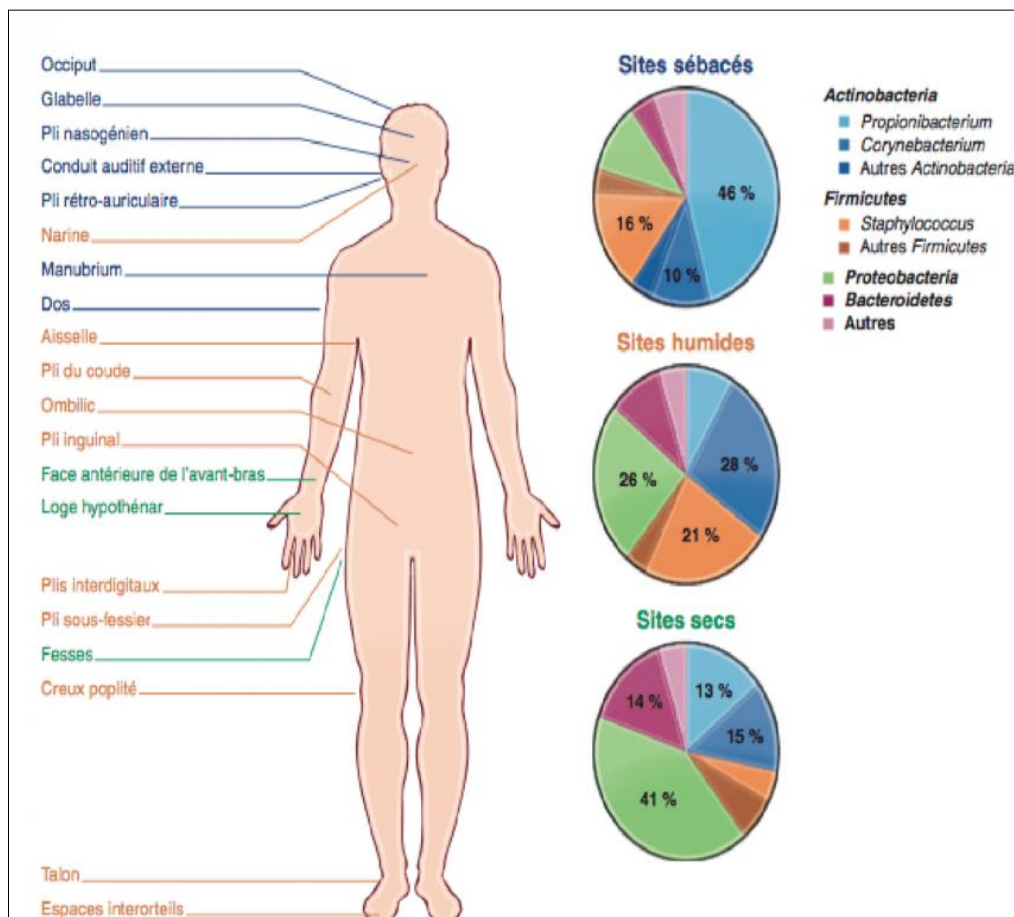


Figure 1. Les bactéries de la flore cutanée humaine dans les différentes zones du corps (Pedrassi, 2019).

2. Types de la flore cutanée

2.1. Flore résidente

La flore résidente regroupe les microorganismes qui sont présents de façon prolongée voire permanente sur la peau de la plupart des individus. Ces microorganismes sont considérés comme des résidents permanents de la peau et ne sont pas éliminés facilement par frottement mécanique. Ils se situent plutôt dans les couches profondes de la peau mais peuvent également être trouvés à la surface de la peau (**Coste, 2018**).

La flore résidente est composée de microorganismes commensaux, aérobies ou aéro-anaérobies facultatifs, principalement Gram positif. Elle est capable de se reconstituer après une perturbation. Les bactéries qui la composent sont principalement des *Staphylococcus*, des *Corynebacterium* et des *Propionibacterium*. Cependant des *Brevibacterium*, des *Micrococcus* ou bien des *Acinetobacter* sont également retrouvées. Elle est également composée de parasites, de levures appartenant aux genres *Malassezia*, *Candida* et de virus (Tab. 1). (**Aubry, 2019 ; Ecale, 2021**).

Parmi les bactéries du genre *Staphylococcus* coagulase négative (SCN), trois espèces sont largement retrouvées au niveau de la peau : *S. epidermidis*, qui représente 90% de la flore cutanée aérobie, *S. hominis* et *S. haemolyticus* (**Mokni et Abdelhak, 2014**).

2.2. Flore transitoire

Elle est composée de germes pouvant contaminer temporairement la peau ou s'installer plus durablement dans des localisations propices par les conditions d'humidité, de pH ou en cas d'effraction de la barrière épidermique (**Mokni et Abdelhak, 2014**).

Cette flore est dite saprophyte, c'est-à-dire que les micro-organismes vont se nourrir de matières organiques en décomposition venant de l'environnement. La plupart de ces micro-organismes sont inoffensifs, mais certains vont pouvoir engendrer des maladies chez l'homme. (**Pedrassi, 2019**).

Les microorganismes qui constituent la flore transitoire sont : les Entérobactéries, *Pseudomonas spp.* provenant de l'environnement, les Klebsielles, les Streptocoques du groupe A *Enterococcus spp.*, *Staphylococcus aureus* (20 % de porteurs sains) , *Candida albicans* : chez les sujets immunodéprimés ou diabétiques ; Spores de *Bacillus spp.* et *Clostridium spp.* provenant de l'environnement (Tab. 1) (**Tanneur, 2006**).

Cette flore ne s'établit pas de façon permanente à la surface de la peau, elle varie au cours de la journée et dépend des activités réalisées et des variations des conditions environnantes. Elle peut néanmoins persister des heures voire des jours (**Henaff, 2021**).

Tableau 1. Flore cutanée résidente et transitoire (Mokni et Abdelhak, 2014).

		Germes	
Flore résidente	Bactéries	Gram Positif	<i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Staphylococcus hominis</i> <i>Staphylococcus haemolyticus</i>
			<i>Corynebacterium</i> <i>Brevibacterium</i> <i>Propionibacterium</i> <i>Micrococcus</i>
		Gram négatif	<i>Acinetobacter</i>
		Parasites	Acariens
	Levures		<i>Malassezia</i>
	Virus		<i>Papillomavirus</i>
	Flore transitoire	Bactéries	Gram positif
Gram négatif			<i>Pseudomonas</i>
Levures			<i>Candida albicans</i> <i>Candida parapsilopsis</i>

3. Rôles

La flore cutanée joue un rôle fondamental dans l'homéostasie entre le milieu extérieur et notre corps. Elle est impliquée dans le rôle de barrière chimique et physique de l'organisme mais aussi dans le développement du système immunitaire et dans la mise en place d'une réponse immunitaire innée et adaptative à la suite d'une agression par un pathogène (Ecale, 2021).

3.1. Maintient de l'acidité de la peau

La peau est un environnement acide, avec un pH généralement autour de 5. La surface de notre peau se compose d'une combinaison de sébum et de sueur formant le film hydrolipidique de surface. Lorsque l'excrétion combinée de sébum et de sueur de la peau est équilibrée, la peau a un pH d'environ 5,5. Plusieurs éléments sont responsables de l'acidité de ce pH, les acides gras libres qui composent le sébum, la dégradation de la filaggrine, initialement contenue dans les granules de kératohyaline par des hydrolases épidermiques va générer la formation de plusieurs acides responsables également de la valeur du pH cutané : l'acide urocanique, l'acide pyrrolidone-carboxylique, l'acide lactique,... La sueur peut également modifier le pH de la peau car entrent dans sa composition quelques substances acides : l'acide lactique, l'acide undécylénique et l'acide urocanique (**Henaff, 2021**).

Parmi les bactéries commensales de la peau, certains anaérobies facultatifs, comme *Cutibacterium acnes*, fermentent les triglycérides du sébum pour libérer des acides gras à chaînes courtes. L'hydrolyse de ces acides gras libres par les phospholipases de la couche cornée est une voie majeure de l'acidification cutanée (**Braun et al., 2020**).

3.2. Sécrétion de substances antimicrobiennes

Les peptides antimicrobiens comme les phénols modulins solubles (PSMs), sécrétés par *S.epidermidis*, constituent la première ligne de défense immunitaire innée contre les microorganismes. Ils ont une fonction unique et souhaitable pour l'élimination sélective de pathogènes cutanés comme *S. aureus* et les streptocoques du groupe A (GAS) (**Cogen et al., 2010**).

De plus, *S.epidermidis* sécrète une sérine protéase capable d'inhiber la production de biofilm par *S.aureus* et de détruire un biofilm préexistant. Le biofilm est un amas de bactéries enrobées dans une matrice polymérique, permettant leur survie en milieu hostile et une résistance au système immunitaire. Seules certaines bactéries sont capables de constituer un biofilm leur conférant un pouvoir pathogène augmenté ; c'est le cas de *S. aureus* retrouvés sur les lésions de patients atteints de dermatite atopique (**Iwase et al., 2010 ; Henaff, 2021**).

3.3. Interaction avec le système immunitaire

La flore cutanée joue un rôle dans la formation des réponses immunes dans la peau pour le contrôle des infections cutanées. Elle possède notamment un rôle de formation et de maturation du système immunitaire cutané inné et adaptatif. Reconnu par les cellules de Langerhans épidermiques via des Toll Like Récepteurs (TLRs), il active les lymphocytes T-naïfs du système immunitaire adaptatif et les oriente vers la sécrétion de cytokines dont IL-17 conduisant à une immunité protectrice contre le risque d'infection. A l'inverse les

kératinocytes épidermiques peuvent directement produire des peptides antimicrobiens (PAMPs), principalement les défensines, pour réguler le microbiote (immunité innée) (Di Domizio *et al.*, 2016 ; Henaff, 2021).

4. Facteurs influençant la flore cutanée

La flore microbienne varie de manière qualitative et quantitative d'une personne à l'autre selon plusieurs facteurs (Tab. 2).

4.1. Mode d'accouchement

La colonisation microbienne dépende en premier lieu du mode d'accouchement. En effet par voie génitale, l'enfant aura une flore semblable à celle du vagin de la mère (*Lactobacillus*, *Prevotella*), alors que par césarienne l'enfant hébergera une flore semblable à celle de la peau de la mère (*Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Propionobacterium*) (Pedrassi, 2019).

4.2. Age

In-utero, la peau fœtale est stérile, mais quelques minutes après la naissance la colonisation microbienne commence. Les nouveau-nés sont d'abord colonisés par une flore peu diversifiée. Au contact de l'environnement, et suite aux changements au niveau de la peau, on assiste à une diversification progressive de la flore cutanée. Ces niches microbiologiques continuent à se développer avec la puberté (Mokni et Abdelhak, 2014).

4.3. Sexe

La distribution et la densité de la flore cutanée varient également en fonction du sexe. Les hommes ont une densité microbienne plus importante comparée aux femmes qui est due par les variations de pH de la peau (les hommes ont généralement une peau plus acide), la différence de production de sueur et de sébum, la production d'hormones (Hasnaoui, 2019).

4.4. Stress environnemental

La pollution de l'air ou pollution atmosphérique est aussi très nocive pour la peau et peut engendrer un vieillissement cutané, une peau déshydratée, un développement de l'acné, et une dégradation du matériel cellulaire (Meynadier, 2019).

4.5. Patrimoine génétique

Le patrimoine génétique d'une personne détermine son type de peau (normale, sèche, grasse ou mixte) et affecte l'état de santé général de la peau, cette dernière est unique et ne réagira pas de la même façon envers les agents polluants, et les conditions extérieures (température, taux d'humidité) (Meynadier, 2019).

4.6. Hygiène et produits cosmétiques

L'hygiène est considérée comme primordiale pour la santé, mais une propreté excessive est en revanche néfaste puisqu'en effet elle réduit les défenses immunitaires en changeant la composition de notre flore avec pour conséquence une augmentation des risques de développer certaines pathologies. Les produits cosmétiques peuvent également modifier la flore cutanée (Pedrassi, 2019).

4.7. Localisation géographique

La population mondiale vit de plus en plus en bordure de l'urbanisme et cela réduit les contacts humains avec l'environnement rural. Cela peut influencer la composition des communautés bactériennes présentes sur la peau. Il est observé que la diversité des bactéries cutanées est plus importante chez les sujets vivant à proximité des forêts et terrains agricoles, en comparaison de ceux vivant à proximité des zones construites et des plans d'eau (Hasnaoui, 2019).

Tableau 2. Facteurs de variation de la flore cutanée (Dunyach-Remy *et al.*, 2015).

Facteurs généraux	<ul style="list-style-type: none"> - Age - Sexe - Sites anatomiques - Facteurs génétiques
Facteur environnementaux	<ul style="list-style-type: none"> - Climat (Température, humidité) - Localisation géographique
Facteurs immunitaires	<ul style="list-style-type: none"> - Statu immunitaire - Inflammation
Autres facteurs	<ul style="list-style-type: none"> - Activité professionnelle - Hygiène - Médicaments (antibiotiques) - Cosmétique - Pathologies

5. Pathologies impliquées dans le déséquilibre de la flore cutanée

5.1. Psoriasis

Le psoriasis est une dermatose érythémato-squameuse, c'est-à-dire une affection cutanée qui associe rougeur (érythème) et perte de peau morte (squame). C'est une maladie chronique qui évolue sous forme de poussées. Il va y avoir une hyperprolifération de kératinocytes et des troubles de différenciation. Cela est dû à une activation anormale de l'immunité (production excessive d'anticorps IgE, immunoglobulines produites en cas d'allergie). Le psoriasis peut également être causé par des facteurs environnementaux, le stress, certains médicaments, l'alcool, le tabac et certaines infections.

La flore psoriasique est différente de la flore cutanée normale retrouvée sur une peau saine. Dans le psoriasis, on observe une forte augmentation de *Streptococcus*. Il y a également une augmentation des Firmicutes aux dépens d'*Actinobacteria* et de *Proteobacteria*. En parallèle, on a une augmentation de la diversité globale. (Fig. 2 et 3) (Hasnaoui, 2019).

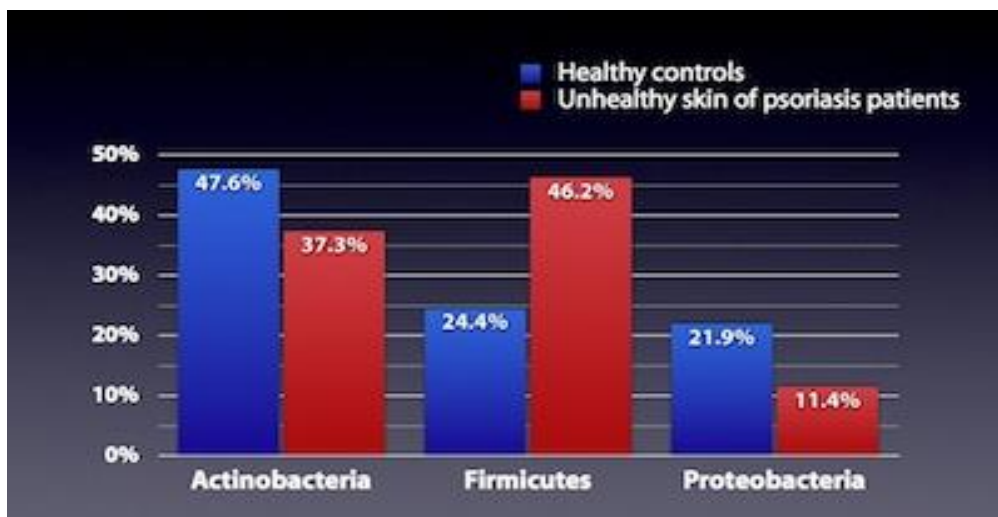


Figure 2. Comparaison entre la flore bactérienne cutanée normale et psoriasique (Hasnaoui, 2019).

5.2. L'acné

L'acné est une maladie de la peau qui affecte environ 80% des adolescents. Il s'agit d'un trouble fonctionnel de l'unité pilosébacée caractérisé par une sécrétion excessive de sébum, une kératinisation excessive du canal pilosébac, une prolifération microbienne et une inflammation. Certains facteurs peuvent déclencher ou aggraver l'acné : le cycle menstruel, le stress, le soleil, l'anxiété, certains médicaments ou cosmétiques.

Il est connu que l'acné est associée à la présence de *Propionibacterium acnes* sur la peau des patients atteints de cette affection. Il a été démontré que les follicules pileux sains

sont en fait exclusivement colonisés par *P. acnes* alors que les lésions d'acné contiennent un mélange de *S. epidermidis* et *Corynebacterium spp*, en plus de *P. acnes*. Il y a donc un réel déséquilibre (dysbiose) de la flore cutanée dans la pathologie acnéique (Fig. 3) (Dunyach-Remy et al., 2015).

5.3. Dermatite atopique

La dermatite atopique (eczéma atopique) est une dermatose inflammatoire chronique de la peau concernant beaucoup d'enfants (10 à 20%) et qu'on retrouve plus rarement chez les adultes. Elle se caractérise par une sécheresse cutanée sévère, des démangeaisons et des plaques érythémateuses. Cette pathologie évolue par poussées et les lésions sont retrouvées principalement au niveau du visage, du cou et des plis du coude ou du genou (Meynadier, 2019).

La dermatite atopique est due à une altération d'origine génétique de la barrière cutanée. La peau ne faisant plus office de barrière, les agressions extérieures sont plus intenses. Les produits chimiques, les polluants ou bien les bactéries peuvent venir se loger dans la peau provoquant alors une inflammation au niveau de l'épiderme (Ecale, 2021).

La flore des personnes touchées par la dermatite atopique est caractérisée par une diminution de la diversité bactérienne qui permet la colonisation de la peau par *S. aureus*. (Fig.3). (Di Domizio et al., 2016).

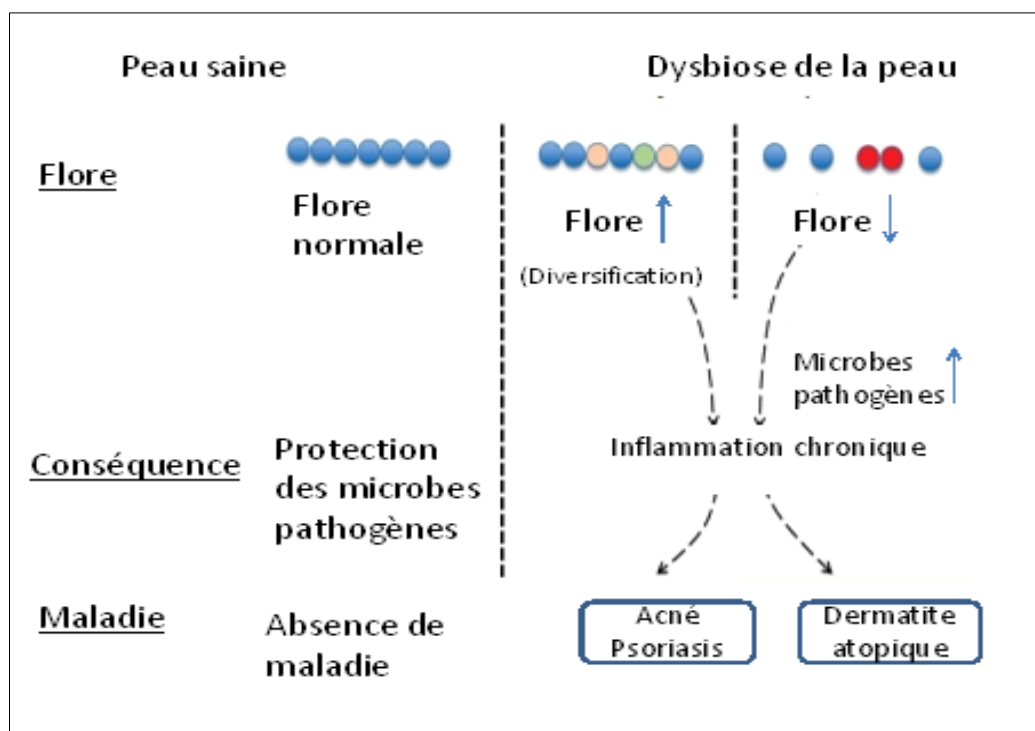


Figure 3. Pathologies liées au dysbiose (Di Domizio et al., 2016).

Chapitre II

1. Définition

La crise sanitaire de la COVID-19, a changé le mode de vie des gens, principalement les méthodes d'hygiène. Les Produits Hydro-Alcooliques (PHA) sont devenu le premier moyen de protection contre cette pandémie avec une utilisation quotidienne. Les PHA sont des solutions ou des gels à séchage rapide, conçues spécifiquement pour la désinfection des mains. Elles contiennent de l'alcool, un émollient, et parfois un autre agent antiseptique. Elles s'appliquent par friction sans rinçage sur des mains sèches et d'apparence propres. C'est à dire sans souillure visible (**Bengaly, 2011**).

Selon l'OMS un PHA est défini comme une préparation (solution, gel ou mousse) contenant de l'alcool, à appliquer sur les mains pour inactiver les micro-organismes présents et stopper temporairement leur multiplication. Ces préparations peuvent contenir différents types d'alcools et autres principes actifs additionnés d'excipients et d'agents hydratants. (**OMS, 2009**).

2. Historique

Les antiseptiques à base d'alcool sont connus depuis 1847, comme une alternative pour le nettoyage des mains dans le milieu hospitalier, lors de la difficulté d'utiliser de l'eau chaude et du savon (à cause d'un problème cutané ou une urgence chirurgicale). Leur utilisation s'est élargie jusqu'aux années 1990, où ils deviennent commercialisés et utilisés par les consommateurs dans la vie quotidienne. Au début de l'année 2020, l'OMS a indiqué que l'utilisation des PHA, est le premier geste barrière pour combattre la pandémie de la COVID-19, ce qui a conduit à une augmentation exponentielle dans les taux d'achat et l'utilisation du monde entier, jusqu'à avoir une pénurie dans plusieurs pays au monde (Fig.4).(**Huddleston, 2020**)

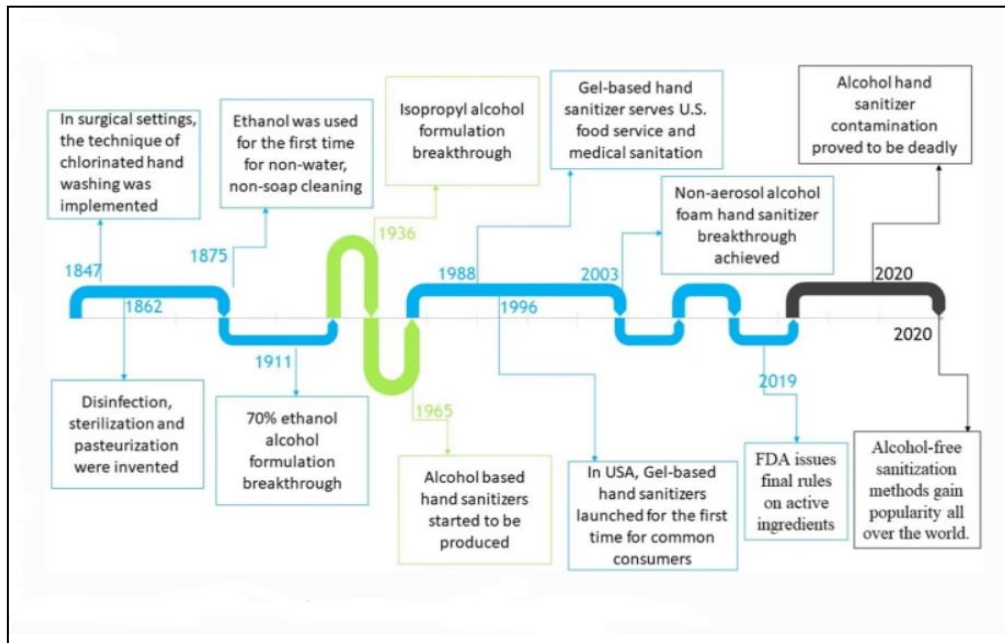


Figure 4. Chronologie des désinfectants pour les mains (Huddleston, 2020).

3. Normes de production des PHA

Pour être efficace, les PHA doivent répondre à plusieurs normes décrites par l’OMS ou par les organisations de normalisation comme AFNOR. (Aho, 2003)

- EN 1040 (Avril 2006) : Cette norme détermine l’activité bactéricide de produit antiseptique ou désinfectant chimique en eau stérile, sans matières interférentes, grâce à la méthode dilution/neutralisation ; les germes choisis pour être testés par cette norme sont *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* (souches additionnelles possibles) ;
- EN 1275 (Avril 2006) : Cette norme concerne l’activité fongicide ou levuricide sur les produits de friction, le germe testé est *Candida albicans* ;
- La norme NF EN 1499 (Juin 2013) : décrit une méthode d’essai simulant des conditions pratiques afin d’établir si un produit pour le lavage hygiénique des mains réduit la flore microbienne transitoire des mains lorsqu’il est utilisé pour laver les mains artificiellement contaminées par *Escherichia coli* K12 de sujets volontaires ;
- EN 1500 (Juin 2013) : traitement hygiénique des mains par friction, l’essai se fait sur des volontaires dont les mains sont artificiellement contaminées avec *Escherichia coli* K12, dans les conditions pratiques d’emploi, en 30 ou 60 secondes. Comparaison du facteur de réduction obtenu lors de l’essai à celui obtenu, dans les mêmes conditions, avec produit de référence (propan-2-ol 60%);

- La norme EN 14476 (Septembre 2013) a une finalité d'évaluer l'activité virucide des produits testés avant leur mise sur le marché. Elle spécifie une méthodologie d'essai, ainsi que des prescriptions minimales, pour toute préparation homogène et physiquement. (AFNOR, 2013)

4. Formes des PHA

Les produits hydroalcooliques, ou antiseptiques à base d'alcool se présentent sous plusieurs formes :

- **Les solutions hydroalcooliques (SHA)** : il s'agit de solutions (liquide) comportant la substance active à base d'alcool, de l'eau, ainsi qu'un émollient pour prévenir du dessèchement cutané. Le taux d'alcool est souvent supérieur au gel hydroalcoolique, conformément aux préconisations de l'OMS ;
- **Les gels hydroalcooliques (GHA)** : il s'agit d'un gel (dont la viscosité est plus importante que la SHA), composé des mêmes substances que le SHA, ainsi que d'un agent épaississant ;
- **Les mousses ;**
- **Les lingettes (Aho, 2003)**



Figure 5. Les différentes formes des produits hydro-alcooliques

5. Composition chimique des PHA

Les PHA sont principalement composés de l'alcool et de l'eau, des humectants pour prévenir la déshydratation de la peau, et des excipients qui aident à stabiliser le produit ainsi qu'à prolonger le temps nécessaire à l'évaporation de l'alcool, augmentant ainsi son activité biocide (Bush *et al.*, 1986).

L'OMS et la pharmacopée des États-Unis (USP) recommandent la fabrication des désinfectants pour les mains à base d'alcool basé selon la formulation montré sur le tableau 3.

5.1. Alcools

Les antiseptiques pour les mains à base d'alcool contiennent principalement de l'isopropanol, de l'éthanol, du n-propanol ou un mélange de ceux-ci comme ingrédients actifs. L'activité antimicrobienne des alcools est attribuée à leur capacité à dénaturer et à coaguler les protéines. Cela fait que les microbes perdent leurs revêtements protecteurs et deviennent non fonctionnels.

Le Center for Disease Control and Prevention (CDCP) recommande des formulations contenant 80 % (pourcentage volume/volume) d'éthanol ou 75 % d'alcool isopropylique ; cependant, de manière générale, les désinfectants contenant de 60 à 95 % d'alcool sont acceptables. Les pourcentages recommandés d'éthanol et d'alcool isopropylique sont maintenus à 80% et 75% car ces valeurs se situent au milieu de la plage acceptable. Notamment, des concentrations supérieures à celles recommandées sont également paradoxalement moins puissantes car les protéines ne se dénaturent pas facilement sans la présence d'eau (**Golden et al., 2021**).

5.2. Antiseptiques associés

5.2.1. Chlorhexidine

Semblable à l'alcool, la chlorhexidine agit en perturbant l'arrangement des membranes cytoplasmiques, entraînant ainsi la précipitation du contenu cellulaire. Il est le plus efficace contre les bactéries Gram positives et a une activité modeste contre les bactéries Gram négatives, ainsi que contre les virus enveloppés.

Le gluconate de chlorhexidine à 0,12 % est susceptible d'avoir une activité antivirale contre le coronavirus comme il le fait contre d'autres virus enveloppés (**Larson, 1995 ;Fehr et Perlman, 2015**).

5.2.2. Peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)

La faible concentration en H₂O₂ est destinée à éliminer les spores contaminant les solutions en vrac et les récipients. Le peroxyde d'hydrogène n'est pas un principe actif de l'antisepsie des mains, son ajout à la composition est un aspect important de la sécurité des produits. Toutefois, son utilisation de 3 à 6% dans les préparations peut être compliquée par sa nature corrosive et par des difficultés d'approvisionnement rencontrées dans certains pays (**OMS, 2010**).

5.3. Glycérol et autres humectants ou émoullients

Le glycérol est ajouté à la composition en qualité d'humectant afin d'améliorer l'acceptabilité du produit. D'autres humectants et émoullients peuvent être utilisés pour les soins de la peau, à condition qu'ils soient de prix abordable, disponibles localement, miscibles dans l'eau et l'alcool, non toxiques et hypoallergéniques.

Le glycérol a été choisi en raison de son innocuité et de son coût relativement peu élevé. La diminution du pourcentage de glycérol dans la composition peut être envisagée pour réduire la viscosité du produit hydro-alcoolique (OMS, 2010).

5.4. Eau

L'action de l'alcool est d'autant plus grande qu'il est en présence d'eau. En effet, il a été prouvé dès le début du XXème siècle que les préparations contenant 50 à 70% d'alcool étaient plus efficaces que celles contenant 95% d'alcool.

L'utilisation d'eau distillée est préférable pour la préparation des formulations ; de l'eau bouillie refroidie peut également être utilisée à condition d'être dépourvue de particules visibles (OMS, 2010).

Tableau 3. Formulation des désinfectants pour les mains (Jing *et al.*, 2020).

	Formulation 1 :	Formulation 2 :	Formulation 3 :
Composants	Solution topique d'éthanol antiseptique à 80%	Solution topique d'alcool isopropylique à 75%	Solution topique d'alcool isopropylique à 75%
Éthanol 96%	833,3 ml	-	-
Alcool isopropylique 99%	-	757,6 ml	-
Alcool isopropylique 91%	-	-	824,2 ml
Peroxyde d'hydrogène 3%	41,7 ml	41,7 ml	41,7 ml
Glycérol 98%	14,5 ml	7,5 ml	7,5 ml
Eau, quantité suffisante pour faire	1000 ml	1000 ml	1000 ml

6. Mode d'action

Bien que plusieurs alcools se soient révélés être des antimicrobiens efficaces, l'alcool éthylique (éthanol, alcool), l'alcool isopropylique (isopropanol, propan-2-ol) et le n-propanol sont les plus utilisés. Les alcools présentent une activité antimicrobienne rapide à large spectre contre les bactéries végétatives (y compris les mycobactéries), les virus et les champignons, mais ne sont pas sporicides. Les alcools ne sont pas recommandés pour la stérilisation mais sont largement utilisés à la fois pour la désinfection des surfaces dures et l'antisepsie cutanée (McDonnell et Russell, 1999).

6.1. Mécanisme d'action contre les bactéries

Le n-propanol est le composé alcool le plus couramment utilisé dans les biocides. On ne connaît pas avec beaucoup de certitude le mécanisme exact de l'activité antimicrobienne de l'alcool, cependant, il peut s'agir de lésions membranaires liées et d'une inhibition ou d'un découplage de la synthèse de l'ARNm et des protéines par des effets sur les ribosomes et l'ARN polymérase, ou associés à une dénaturation des protéines (McDonnell et Russell, 1999 ; Haft *et al.*, 2014).

Pour l'activité contre les bactéries, son efficacité bactéricide optimale est atteinte à des concentrations comprises entre 60 % et 90 %. En fait, l'alcool absolu, ou l'alcool qui ne contient pas plus d'un pour cent d'eau, est moins bactéricide que l'alcool dans la plage susmentionnée. L'eau est donc essentielle dans le processus de dénaturation des protéines. Quels que soient les processus, s'ils ne sont pas multiples, affectés par l'alcool, les voies métaboliques essentielles, les lésions membranaires et la perte de l'intégrité cellulaire finissent par se produire. Il est important de noter, cependant, que les alcools présentent une activité bactéricide contre les bactéries végétatives mais pas contre les spores (Thomas, 2012 ; Golin *et al.*, 2020).

6.2. Mécanisme d'action contre les virus

Les cibles virales des désinfectants pour les mains à base d'alcool sont principalement l'enveloppe virale. Bien que l'on en sache moins sur le mécanisme d'action spécifique des agents alcools contre les virus par rapport aux bactéries, il est entendu que les éthanol ont une activité virucide plus large et plus forte que les propanols. En fait, une concentration élevée d'éthanol s'est avérée très efficace contre les virus enveloppés et est donc efficace contre la majorité des virus cliniquement pertinents. Il est également intéressant de noter que l'ajout d'acides aux solutions d'éthanol peut augmenter son efficacité contre les virus qui sont plus résistants à l'éthanol seul. Malgré la synergie potentielle de l'éthanol et de l'acidité, on

sait que la plupart des désinfectants pour les mains restent inefficaces contre les virus non enveloppés (Dastider *et al.*, 2020).

7. Désinfection des mains par friction hydro-alcoolique

Selon les Recommandations de l’OMS, la méthode la plus efficace pour une hygiène des mains optimale est la friction des mains avec un produit hydro-alcoolique(Fig.6).

La quantité du PHA à utiliser pour la friction des mains doit être suffisante pour remplir la paume de la main, soit un volume d’environ 3 ml. La durée de friction varie de 20 à 30 secondes tout en respectant les différentes étapes de friction (OMS, 2010b).

- ✓ Mettre une quantité du produit dans la paume de la main ;
- ✓ Effectuer un mouvement de rotation paume contre paume ;
- ✓ Frictionner le dos de la main gauche avec la paume de main droite en effectuant des mouvements de va et vient et vice versa ;
- ✓ Exercer un mouvement d’avant en arrière, paume contre paume dans les espaces interdigitaux ;
- ✓ Des mouvements aller-retour latéraux paume contre paume pour les dos des doigts ;
- ✓ Rotations de la main gauche autour du puce droit et vice versa ;
- ✓ La pulpe des doigts d’une main dans la paume de l’autre ;
- ✓ Une fois sèche, les mains sont propres.



Figure 6. Méthode de friction des mains par un PHA selon l'OMS (OMS, 2010 b).

8. Facteurs influençant le degré d'activité des PHA

Plusieurs facteurs influencent le degré d'activité des PHA. Par exemple, leur efficacité *in-vivo* est influencée par le type et la concentration d'alcool, le temps de contact, le volume utilisé, la charge microbienne, la présence de débris organiques et selon le degré d'humidité des mains. La forme du PHA (solution liquide, gel, mousse) aurait aussi un impact sur leur efficacité : certaines études *in-vivo* suggèrent qu'à concentration égale, les gels sont moins efficaces que les solutions liquides. Le volume optimal requis afin de réaliser une procédure d'hygiène des mains efficace n'est pas défini et difficile à préciser puisqu'il varie en fonction du type de produit utilisé, des ingrédients actifs incorporés et de la taille des mains. Il a par contre été démontré qu'une dose de 1 ml de produit à base d'alcool était moins efficace qu'une dose de 3mL en mesurant la réduction des unités formant des colonies (UFC) mais la signification de cette différence sur le plan clinique est inconnue.

Les experts s'accordent toutefois pour affirmer que le produit devrait prendre plus de vingt secondes pour sécher complètement. L'assèchement du produit sur les mains en moins de vingt secondes est donc signe d'une application insuffisante, ce qui peut résulter en une hygiène des mains inefficace (CINQ, 2010).

9. Inconvénients dus au sur usage des PHA

Depuis l'apparition de la pandémie COVID-19, l'OMS et les autorités sanitaires du monde entier recommandent de se laver les mains « régulièrement et soigneusement avec une solution hydroalcoolique ou à l'eau et au savon ». Depuis que cette mesure barrière est largement appliquée dans le monde, plusieurs publications font état de lésions cutanées iatrogènes, surtout des dermatites d'irritation, principalement parmi le personnel soignant, parfois responsables d'arrêts de travail malencontreux dans le contexte actuel de crise sanitaire (Toplu *et al.*, 2020).

Les lésions couramment observées sont des érythèmes, une sécheresse cutanée avec desquamation, puis des fissures et des érosions. Elles s'accompagnent de démangeaisons et de brûlures aggravées par la répétition du lavage des mains. Secondairement peuvent apparaître une dyshidrose ou un eczéma avec lésions suintantes, surtout sur terrain atopique, voire une surinfection bactérienne par *Staphylococcus aureus*. Le port prolongé de gants de protection peut aggraver ces lésions du fait de la macération.

Ces effets ont été rapportés dans de nombreux pays. La prévalence des lésions de dermatite d'irritation des mains induites par les lavages fréquents est de 85 % aux États-Unis, 62,5 % au Royaume uni, 90,4 % en Allemagne ou la prévalence de l'eczéma de contact n'est

que de 14,9 %. En Chine, ces gestes d'hygiène ont entraîné une augmentation de 100 % des lésions cutanées lorsqu'ils étaient effectués plus de 10 fois par jour (ANM, 2021).

L'utilisation pluriquotidienne de savon à PH basique et de gel hydro-alcoolique dont la concentration en alcool doit se situer entre 60 et 95 % selon l'OMS, altèrent le film lipidique et le microbiome présents à la surface de la peau. Les cellules des couches superficielles de la peau (cornéocytes) sont protégées à leur surface par un film hydrolipidique produit par les glandes sébacées et les cornéocytes eux-mêmes. De plus il existe entre les cornéocytes un espace intercellulaire riche en lipides notamment en céramides. Les lavages fréquents au savon à pH8 et au gel hydroalcoolique détruisent cette protection lipidique, entraînant sécheresse, fissures et érosions. La flore résidente de la peau est aussi altérée et ne peut plus jouer son rôle protecteur dans les mécanismes d'immunité innée, ce qui entraîne une inflammation, un érythème cutané, voire une eczématisation (ANM, 2021).

10. Recommandations pour minimiser les effets indésirables cutanés

Les effets indésirables causés par les désinfectants ou les savons pour le lavage des mains peuvent être facilement prévenus en identifiant le déclencheur et en les contrant par des mesures appropriées en utilisant une ou une combinaison des méthodes suivantes : sélectionner des produits avec un agent moins irritant, hydrater la peau après l'hygiène des mains et éviter les habitudes qui peuvent causer ou aggraver l'irritation cutanée (OMS, 2009).

Lorsqu'un nettoyage fréquent des mains est attendu, par exemple chez le personnel soignant, il est préférable de sélectionner des produits qui présentent un bon équilibre entre efficacité, sécurité et compatibilité avec tous les types de peau. Les préoccupations concernant les effets desséchants et irritants de l'alcool ou de certains savons antiseptiques peuvent entraver l'acceptation et l'utilisation finale de ces préparations. Par conséquent, pour réduire ce problème, la Solution Hydro-Alcoolique, contenant des humectants ou des émoullients peut être utilisé à la place (Kantor et Silverberg, 2017).

Ces dernières années, de nouvelles lotions antiseptiques à base d'eau sont également à l'étude, comme celle utilisant du chlorure de benzéthonium, qui non seulement résout le problème des effets indésirables cutanés, mais élargit également l'efficacité contre les virus et s'attaque aux problèmes d'inflammabilité associés à la Solution Hydro-Alcoolique conventionnelle (Wilhelm, 1996).

Matériel et
Méthodes

Afin de répondre aux objectifs de notre étude :

- Nous avons en premier temps réalisé une enquête sur le bon usage des PHA par les étudiants de la Faculté SNV (Université Abbès Laghrour Khenchela) (**Annexe 1**) ;
- Deuxièmement, nous avons évalué la conformité de quelques PHA commercialisés en Algérie, par la vérification de leurs composition chimique indiquée sur leurs étiquettes ;
- Enfin, nous avons testé l'efficacité microbiologique (effet bactéricide et fongicide), *In-vivo*, de ces dix PHA.




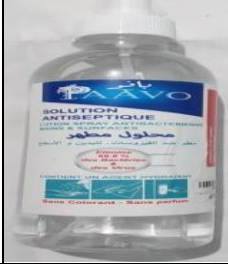
La partie pratique a été réalisée au niveau des laboratoires pédagogiques de la Faculté SNV, Université Abbes Laghrour Khenchela.

1. PHA testés

Pour la réalisation de notre travail, 10 PHA ont été sélectionnés au hasard (05 gels et 5 solutions hydroalcooliques). Ces derniers ont été achetés à partir de différentes pharmacies et superettes de la ville de Khenchela (Tab.4). Les PHA sous forme de mousses n'étaient pas disponibles.

Tableau 4. Les 10 PHA testés.

N°	Produit	Marque	Type	N°	Produit	Marque	Type
01		CRISTAL	Gel	06		LEASENS	Solution
02		FLUX de passion	Gel	07		PROTECT	Solution
03		Twin Pure	Gel	08		Bacter Clean	Solution

04		DERMACOOOL (PRODERMA)	Gel	09		SAMS PHARMA	Solution
05		Hygiène MS	Gel	10		PAAVO	Solution

2. Évaluation de l'efficacité des PHA choisis

L'étude a été réalisée en deux séries de manipulations, avant et après l'utilisation du PHA, pour les 10 produits.

Cette étude a été réalisée par trois différentes personnes répondant à certains critères :

- ✓ Les mains de l'opérateur ne devaient pas avoir été lavées avec un produit antiseptique ou désinfectant au moins 03 heures avant l'expérimentation afin d'éviter toute interférence avec le PHA à tester ;
- ✓ Chacun des trois opérateurs a travaillé sur un type fixe de milieu de culture : Gélose nutritive pour l'opérateur N°1, la Gélose Chapman pour l'opérateur N°2 et enfin, la Gélose Hektoen pour l'opérateur N°3.

Le protocole expérimental est identique pour les 10 PHA testés.

2.1. Dénombrement de la flore cutanée avant la désinfection des mains par le PHA

La méthode d'application des doigts sur gélose a été adoptée pour le test de l'efficacité des dix PHA. Les empreintes de 4 doigts de chaque main (droite et gauche) sont déposés sur la surface des milieux gélosés (Photo. 1) en appuyant avec une pression modérée, pendant 10 secondes (Girou et Loyeau, 2002 ; Marchetti *et al.*, 2003).

Ce premier test est réalisé sur des mains non propres afin de mettre en évidence la flore cutanée de départ de l'opérateur, cette dernière sert de valeur de base pour évaluer la capacité d'élimination des bactéries sur la peau par le PHA.



Photographie 1. Application des doigts, avant la désinfection, sur la gélose Hektoen.

2.2. Dénombrement de la flore cutanée après la désinfection des mains par le PHA

La même manipulation a été répétée immédiatement après la désinfection des mains du même manipulateur par friction hydro-alcoolique. Il s'agit d'une procédure standardisée en 8 étapes recommandée par l'OMS (OMS, 2010b). Pour cela un volume de 3 ml du PHA est prélevé à l'aide d'un embout stérile, puis versé dans le creux des mains sèches de l'opérateur et frictionner pendant 30 secondes, afin d'obtenir une imprégnation totale des mains. On recommence la succession des mêmes étapes de manière appropriée jusqu'à ce que l'alcool soit complètement évaporé (Photo 2).



Photographie 2. La friction hydro-alcoolique des mains par le PHA.

Toutes les manipulations sont effectuées dans la zone stérile au tour d'un Bec Bunsen. Après étiquetage, les boîtes de Pétri sont placées, couvercle en dessous, dans une étuve à 37°C.

Après 48h d'incubation, les Unités formants Colonies (UFC) sont dénombrées sur tous les milieux de cultures, à l'aide d'un compteur de colonies. Les taux de réduction sont calculés par comparaison du nombre d'UFC dénombré avant et après l'application du PHA.

3. Les milieux de culture utilisés

Trois différents milieux de culture sont utilisés pour les tests de l'efficacité des PHA. Un milieu ordinaire (la Gélose Nutritive) afin de dénombrer la flore cutanée totale (bactéries, moisissures, levures, ...), et deux milieux sélectifs : une gélose Chapman qui sert au dénombrement des Gram positif, notamment les Staphylocoques. Et une gélose Hektoen afin d'isoler d'éventuelles bactéries à Gram négatif (**Annexe 2**).

3.1. Gélose nutritive

C'est un milieu à usage général pour la croissance d'une grande variété de micro-organismes non exigeants. Avec une composition relativement simplifiée, la gélose nutritive apporte les éléments nutritifs nécessaires à la croissance d'une large gamme de micro-organismes. La gélose nutritive est dépourvue d'indicateur, d'agent sélectif, d'ingrédients différentiels et de substances enrichissantes (**Lapage et al., 1970**).

3.2. Gélose Chapman

La gélose de Chapman ou gélose au sel de mannitol (MSA pour Mannitol Salt Agar) est un milieu de culture sélectif semi-synthétique utilisé pour la sélection des bactéries halophiles, et plus particulièrement de celles qui fermentent le mannitol. Il est plus particulièrement utilisé pour l'isolement, le dénombrement et la différenciation des *Staphylococcus*.

Ce milieu est à la fois une gélose sélective et différentielle. Le milieu sélectionnera des organismes qui peuvent vivre dans des zones à forte concentration en sel (chlorure de sodium) et la fermentation du mannitol, mise en évidence par le virage au jaune de l'indicateur pH (rouge de phénol) (**Chapman, 1945**).

3.3. Gélose Hektoen

C'est un milieu sélectif qui permet l'isolement et la différenciation des Gram négatif, notamment les entérobactéries pathogènes. Il a été développé, à l'origine, par King et Metzger (1968) de l'Institut Hektoen. Il repose sur l'utilisation de sels biliaires pour l'inhibition sélective et de deux systèmes indicateurs (système indicateur de pH) : Le bleu de bromothymol et la fuchsine acide comme indicateurs de la dissimilation des glucides (lactose, saccharose, salicine) et le fer ferrique comme indicateur de la formation d'hydrogène sulfuré (H₂S) à partir de thiosulfate (**Kings et Metzger, 1968**).

4. Identification de la flore cutanée isolée

Les colonies bactériennes isolées sur les milieux de cultures sélectifs ont fait l'objet d'une identification, par l'étude de leurs caractères culturaux, microscopiques et biochimiques.

4.1. Étude des caractères macroscopiques

Une description de l'aspect macroscopiques des colonies isolées sur gélose Chapman et Hektoen a été faite. Le virage de la couleur du milieu de culture du à la fermentation du lactose ou du mannitol ou la formation d' H_2S est également noté.

4.2. Étude des caractères microscopiques

Une étude de l'état frais et après coloration de Gram (**Annexe 3**) a été également réalisée afin de mettre en évidence, la forme, le type de regroupement et la mobilité des souches bactériennes isolées.

4.3. Étude des caractères biochimiques des colonies à Gram positif

12 colonies bactériennes, isolées sur gélose Chapman, ont été sélectionnées pour les tests d'identification biochimiques

4.3.1. Test de la catalase

Ce test est à la base de l'identification des bactéries Gram positif.

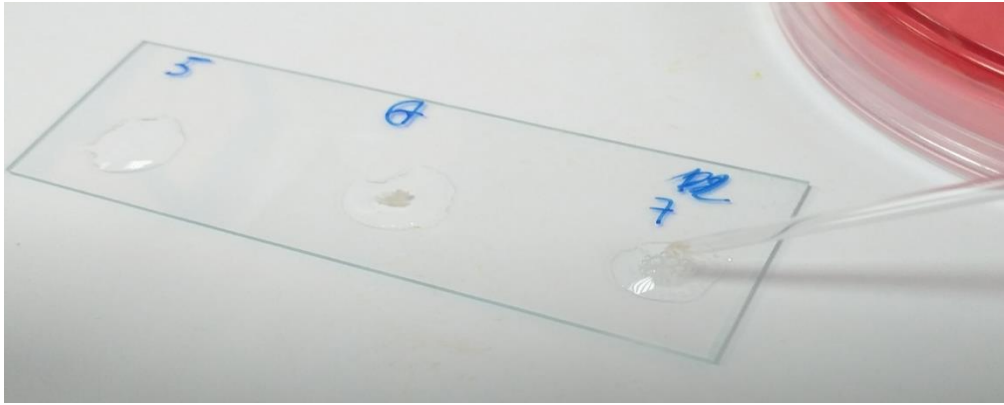
La catalase est une enzyme produite en abondance par les bactéries ayant un métabolisme respiratoire qui détruit le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et libère de l'oxygène (**Reiner, 2010**).

Mode opératoire

- ✓ Sur une lame propre et sèche déposer une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes ;
- ✓ A l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée, ajouter l'inoculum bactérien sur la goutte de l' H_2O_2 (Photo3).

Lecture

- ✓ Apparition de bulles, dégagement gazeux de dioxygène : la bactérie possède une catalase ;
- ✓ Pas de bulles : la bactérie ne possède pas une catalase.



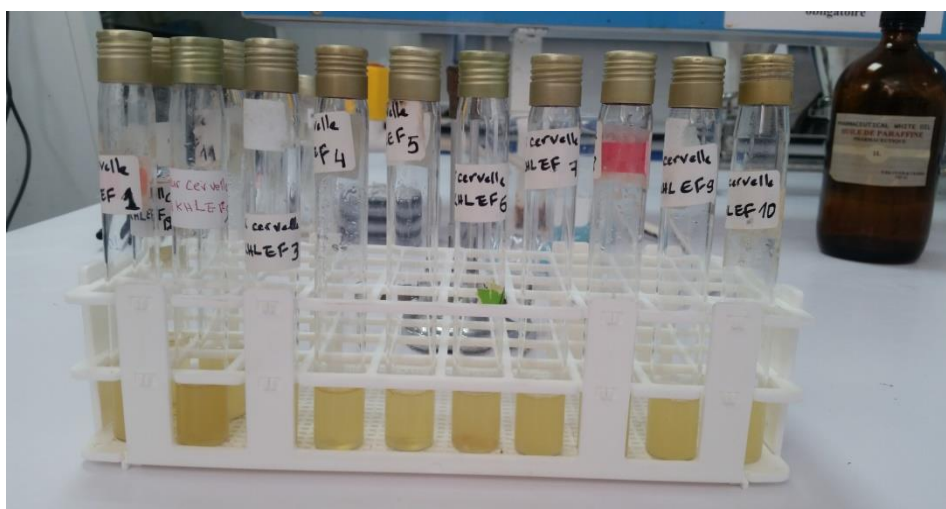
Photographie 3. Le test de la catalase.

4.3.2. Test de la coagulase

Le test de la coagulase différencie les souches de *Staphylococcus aureus* des autres espèces à coagulase négative (Oliveira *et al.*, 2002).

Mode opératoire

- ✓ A l'aide d'une boucle stérile sélectionnez deux ou trois colonies isolées de la bactérie à tester et l'ensemencer dans un tube de bouillon cœur-cervelle (Photo. 4), puis incubez à 37°C ;
- ✓ Après 24h d'incubation, transférez de manière aseptique 0,5 ml du bouillon plus 0,5 ml du plasma de lapin dans un eppendorf stérile;
- ✓ Bien agiter puis incubez à 37° C. Notez l'heure à laquelle le test est réalisé. Observez la culture à intervalles réguliers, au cours des quatre heures qui suivent, à la recherche de la présence d'un caillot.



Photographie 4. Bouillon cœur-cervelle inoculé avec les souches bactériennes à tester.

Lecture

- ✓ Si le plasma coagule en moins de 24h, la bactérie possède une coagulase ;
- ✓ Si aucun caillot n'est observé au bout de 4 heures, l'essai peut être poursuivi avec une incubation pendant une nuit à la température ambiante et une observation finale à 24 heures.

4.4. Étude des caractères biochimiques des colonies à Gram négatif**4.4.1. Test de l'oxydase**

Le test de l'oxydase est basé sur une éventuelle production bactérienne d'une enzyme oxydase intracellulaire en présence d'oxygène atmosphérique et de cytochrome C (**MacFaddin, 1981**).

Mode opératoire

- ✓ A l'aide de pinces, placer un disque d'oxydase sur une lame propre (Photo. 5);
- ✓ Imbiber le disque d'oxydase avec de l'eau stérile ;
- ✓ Choisir une colonie bien isolée et représentative de la culture fraîche à tester ;
- ✓ Prélever la colonie choisie à l'aide d'une pipette Pasteur. Ne pas utiliser d'öse de métal (à l'exception du platine) cela peut provoquer des réactions faussement positives.
- ✓ Frotter doucement la colonie sur le disque et observer l'apparition d'une coloration violette dans un délai de 30 secondes.

Lecture

- ✓ Réaction positive : coloration bleu foncé à violet apparaissant dans un délai de 30 secondes ;
- ✓ Réaction négative : absence de coloration au-delà de 30 secondes.



Photographie 5. Le test de l'oxydase.

4.4.2. La galerie API 20 E

L'API 20 E est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae*. Elle comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation (24 heures à 37°C) se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide d'un catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification (**Joffin, 1998**).

Un fond et un couvercle complètent la galerie et permettent de constituer une boîte d'incubation. La galerie API 20 E permet d'effectuer les tests suivants : ONPG, ADH, LDC, ODC, CIT, H₂S, URE, TDA, IND, VP, GEL, GLU, MAN, INO, SOR, RHA, SAC, MEL, AMY, et ARA . La galerie permet également la recherche du nitrate réductase qui se fait dans le microtube "GLU" (Photo. 6).



Photographie 6. La galerie API 20 E.

4.4.2.1. Préparation de la galerie et de l'inoculum

- ✓ Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau stérile dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide (Photo. 7) ;
- ✓ Déposer stérilement la baguette de la galerie dans la boîte d'incubation ;
- ✓ Réaliser une suspension bactérienne faible (opacité 0,5 sur l'échelle Mc Farland) avec de l'eau physiologique stérile ;



Photographie 7. Répartition de l'eau stérile dans les alvéoles de la galerie.

4.4.2.2. Inoculation de la galerie

Prenez une pipette Pasteur et remplissez les 20 tubules avec la suspension bactérienne préparée comme indiqué sur la figure 9. Il est important de veiller à ne pas créer de bulles lors de l'inoculation ce qui pourrait fausser le résultat. De plus l'apparition de bulles après incubation apportera un caractère d'identification supplémentaire (Gaz +).Après étiquetage, la galerie est incubée à l'étuve à 37°C.

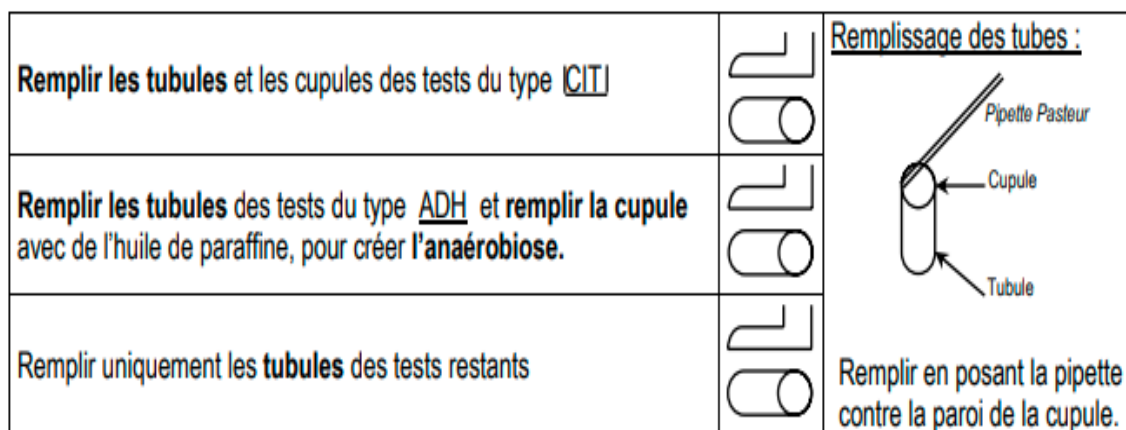


Figure 7. Technique de remplissage des tubules de la galerie API20E

4.4.2.3. Lecture

La lecture des réactions se fait après 24h d'incubation en se référant au tableau 5. L'identification est obtenue à l'aide d'un logiciel d'identification microbienne en ligne, UPBM le Lab, pour les galeries les plus courantes. Ce logiciel réalise un calcul de probabilité pour les caractères phénotypiques obtenus avec la micro galerie sélectionnée.

Tableau 5. Méthode de lecture de la galerie API 20 E.

Tests	Substrat	Caractère recherché	Résultats	
			Négatif	Positif
ONPG	Ortho-nitro-phenyl-Galactosidase	B galactosidase	Incolore	Jaune
ADH	Arginine	Arginine dehydrolase	Jaune	Rouge/ orangé
LDC	Lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Orangé
ODC	Ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/ orangé
CIT	Citrate de sodium	Utilisation du citrate	Vert pale/ jaune	Bleu vert/ bleu

H₂S	Thiosulfate de Sodium	Production d'H ₂ S	Incolore/ grisâtre	Dépôt noir/ fin liseré
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/ orangé
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	TDA immédiat	
			Jaune	Marron foncé
IND	Tryptophane	Production d'indole	IND 2 min max	
			Jaune	Anneau rouge
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	VP1+VP2 10 min	
			Incolore	Rose/ rouge
GEL	Gélatine de Kohn	Gélatinase	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	D-Glucose	Fermentation/ Oxydation	Bleu/ bleu vert	Jaune
MAN	D-Mannitol	Fermentation/ Oxydation	Bleu/ bleu vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation/ Oxydation	Bleu/ bleu vert	Jaune
SOR	D-Sorbitol	Fermentation/ Oxydation	Bleu/ bleu vert	Jaune
RHA	L-Rhamanose	Fermentation/ Oxydation	Bleu/ bleu vert	Jaune
SAC	D-Saccharose	Fermentation/ Oxydation	Bleu/ bleu vert	Jaune
MEL	D-Melibiose	Fermentation/ Oxydation	Bleu/ bleu vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation/ Oxydation	Bleu/ bleu vert	Jaune
ARA	L-Arabinose	Fermentation/ Oxydation	Bleu/ bleu vert	Jaune
OX	Sur disque d'oxydase	Cytochrome oxydase	Disques d'Ox / 5-10 min	
			Incolore	Couleur violette

*Résultats et
Discussion*

1. Présentation des résultats du sondage sur l'utilisation des PHA

Une enquête sur le bon usage des produits hydro-alcooliques (PHA) par les étudiants de la Faculté SNV a été réalisée durant le premier trimestre de l'année 2022. Un questionnaire portant sur le type, la composition et la méthode d'utilisation des PHA a été utilisé comme support de cette enquête. Au total 50 questionnaires ont été remplis par les étudiants biologistes.

1.1. Utilisation des PHA

Le 60% des étudiants participant à notre enquête ont répondu Oui pour l'utilisation ou non d'un PHA (Fig.8). Ces résultats sont logiques car la COVID-19 a provoqué une explosion des ventes des produits d'hygiène et d'entretien (désinfectants, eau de Javel, savon, lingettes, ...). Avec les masques chirurgicaux, les PHA sont devenus les best-sellers des pharmacies depuis le début de la pandémie.

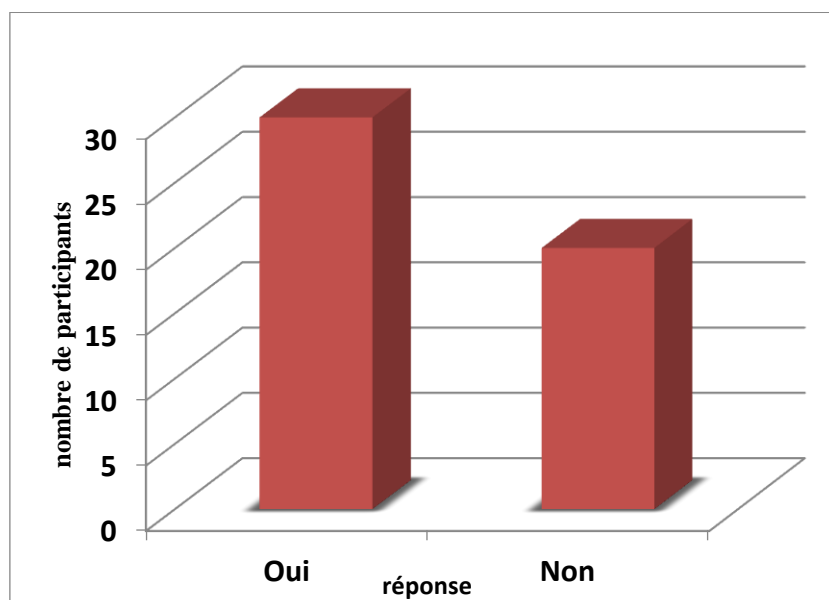


Figure 8. Utilisation des PHA par les étudiants biologistes interrogés.

Il a été révélé à l'issue de cette enquête que tous les PHA utilisés par les étudiants interrogés sont des Gels HydroAlcooliques (GHA). Contrairement à la solution hydroalcoolique qui présente une texture plus liquide, les GHA contiennent des agents épaississants qui les rendent moins fluides et donc plus facile à appliquer en toutes circonstances. Ils offrent également un séchage plus rapide des mains.

Les gels utilisés par les étudiants biologistes participants à notre enquête sont issus de 22 différentes marques algériennes ou internationale, à savoir : Dettol, Planta pharm, Stericid, Alcovera, HAND-OL, Site Fashion, Prunella, Omay, Bacter clean, Tendence, Lovillea,

Dermacool, Plantapharm, Biosafe, Biosens, My Flore, Gel, Mercurochrome, Oléasens, El Baik, FM-LAB et Dermanova.

Auparavant, seuls les spécialistes de la désinfection et les pharmaciens avaient le droit de réaliser ces produits qui répondent à la réglementation biocide. La pandémie a permis aux industriels de la cosmétique de transformer leurs lignes pour fabriquer les produits désinfectants. Le ministère du Commerce algérien a accordé, en Avril 2020, 37 licences de production de gels hydro-alcooliques à des entreprises fabriquant ce produit en vue d’encourager sa production, d'autant qu’il connaît une forte demande du fait de la propagation de la pandémie de la COVID-19 (APS, 2020).

1.2. Répartition des étudiants utilisant un GHA par sexe

Les analyses des données ont révélé que le 63% des étudiants utilisant les GHA sont de sexe féminin, contre 37% de sexe masculin (Fig. 9). Historiquement, les femmes ont toujours été chargées de l'hygiène dans le foyer. Elles sont également plus obéissantes aux directives sanitaires et plus attentives à leur santé que les hommes.

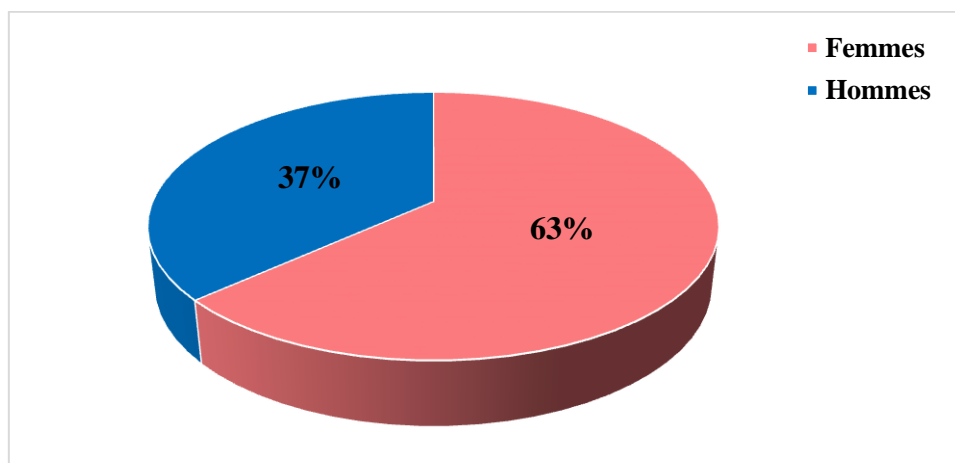


Figure 9. Répartition des étudiants utilisant un GHA par sexe.

1.3. Critère de choix du PHA par les étudiants

Le choix des GHA s’est fait au hasard, ou selon la disponibilité en pharmacies, pour la majorité des étudiants interrogés (56,66%). Le 23% des étudiants se sont, par contre, intéressés à la composition chimique pour le choix de leur GHA (Fig. 10). Le reste des étudiants ont choisis leurs gels désinfectants en se basant sur l’odeur ou la marque de ces derniers.

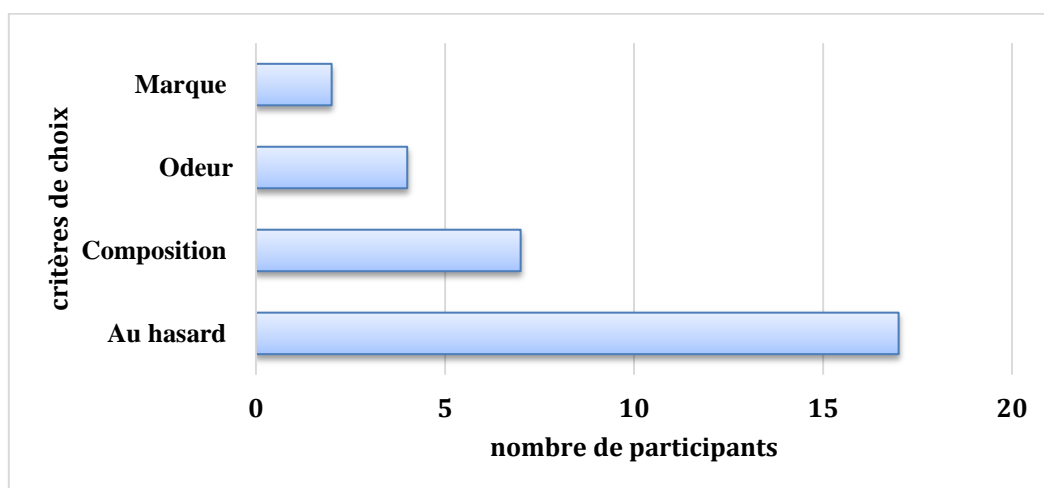


Figure 10. Critères de choix des PHA par les étudiants participant à l'enquête.

1.4. Composition des GHA utilisés par les étudiants

Pour être conforme, l'étiquetage du PHA doit comporter plusieurs précisions, à savoir le nom de la solution, sa composition et le nom de l'alcool utilisé ainsi que sa concentration (Blaize, 2021). Après vérification des étiquettes des flacons de GHA utilisés par les étudiants participant à notre enquête, il s'est avéré que ces gels contiennent tous de l'éthanol, comme principe actif.

Pour être efficace, un gel hydroalcoolique doit contenir un certain dosage d'alcool, compris entre 60 et 80 %. Cette concentration est indiquée sur l'étiquette (60 % v/v par exemple), et c'est elle qui garantit l'action virucide du produit. Notre enquête a montré que la concentration de l'éthanol n'était pas mentionnée pour le 60% des GHA utilisés par les étudiants. Ces produits sont donc non-conformes aux recommandations de l'OMS. Les concentrations en éthanol étaient comprises entre 66 et 96% pour le reste des GHA.

1.5. Fréquence d'utilisation du GHA par jour

Le lavage ou la désinfection des mains est nécessaire plusieurs fois par jour en cas d'épidémie : après s'être mouché, avoir éternué ou toussé, après un passage par un environnement collectif (transport en commun, lieu de rassemblement, activité publique, vie en collectivité, ...), après avoir été en contact avec des surfaces ou des objets potentiellement contaminés par une ou des personnes atteintes ou susceptibles d'être atteintes par le virus.

Le 57% des étudiants participant à notre enquête ont déclaré une fréquence d'utilisation de leurs GHA de plus de trois fois par jours, surtout quand ils sont à l'université (avant de manger, après utilisation du transport universitaire, ...). Le reste des étudiants utilisent moins fréquemment leurs GHA (Fig.11).

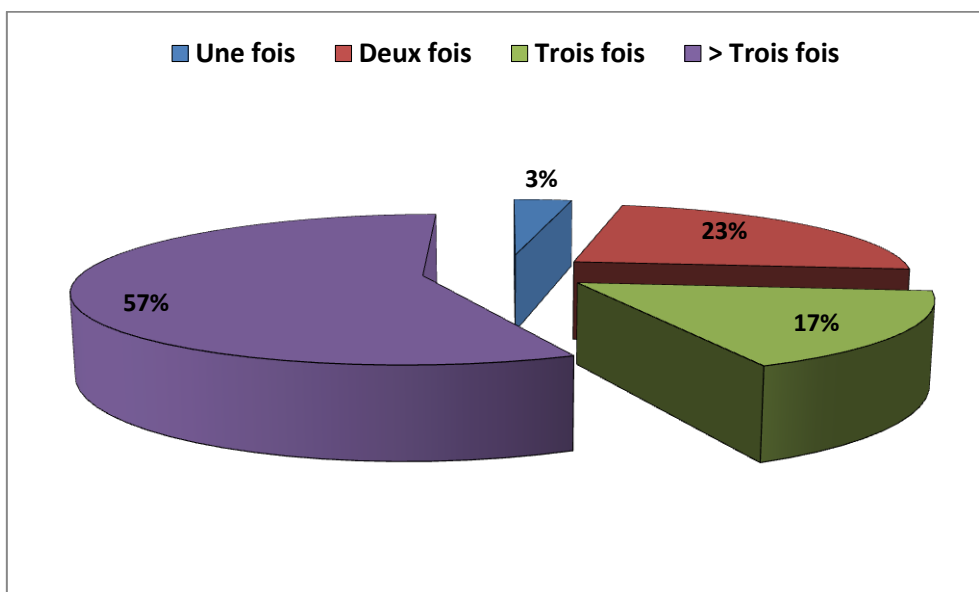


Figure 11. Fréquence d'utilisation par jour des GHA par les étudiants interrogés

1.6. Méthode de désinfection des mains

Il a été révélé à l'issue de cette enquête, une insuffisance des connaissances en matière d'utilisation des PHA par la majorité de nos collègues étudiants. Uniquement, le 17% des étudiants appliquent correctement la méthode de friction hydroalcoolique des mains qui englobe la paume et le dos de la main, les doigts, les espaces interdigitaux, les ongles ainsi que les poings (Fig. 12). Le reste (83%) se contente d'une simple friction et dispersion du PHA sur la paume des mains. Cette application laisse des germes pathogènes présents sur les différentes autres parties des mains, telque les espaces interdigitaux, et le poigne de la main.

Un non-respect du temps de contact assurant l'efficacité d'un désinfectant a été également remarqué chez la majorité des participants. 77%, des étudiants frictionnent leurs mains pendant une période qui ne dépasse pas 20 secondes. Le reste (23%) appliquent, cependant, leurs gels pendant environ 30 secondes et laissent leurs mains se sécher avant d'entamer leurs différents activités, ce qui laissent les mains propres et bien désinfectées.

L'application d'une quantité suffisante du PHA est aussi un paramètre à respecter lors de la désinfection des mains. Une quantité égale à environ 3 mL, qui remplit le creux de la main, est généralement recommandée. Notre enquête a révélé que seulement le 20% des étudiants utilisent une quantité suffisante de leurs gels hydroalcooliques. La majorité applique des petits volumes qui ne dépassent pas la taille d'une noisette. Cette quantité se sèche généralement très vite et ne permet pas une bonne désinfection des mains.

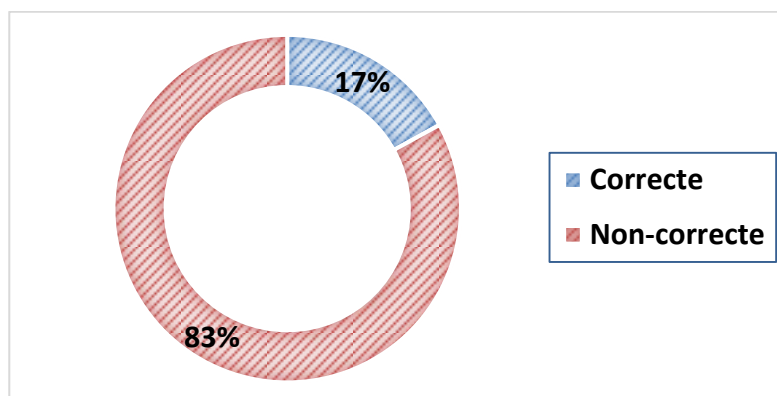


Figure 12. Bon ou mauvais usage des PHA par les étudiants participant à l'enquête.

2. Résultats de l'efficacité des PHA testés

2.1. Méthode de test de l'efficacité des PHA utilisée

Plusieurs méthodes existent pour évaluer l'efficacité microbiologique des PHA. (Teyssou *et al.*, 1997 ; Coste, 2018). A savoir la méthode du ruban adhésif, la méthode d'écouvillonnage, la méthode de Glove Juice et enfin la méthode d'empreintes. Cette dernière méthode a été adoptée pour notre étude parce qu'elle présente l'avantage d'être facile à appliquer et fournit de bons résultats sur le taux de réduction des UFC (Girou et Loyeau, 2002).

2.2. Milieux de culture utilisés

Parmi les trois milieux de culture utilisés durant notre étude, les boîtes de Pétri contenant la gélose Chapman étaient plus chargées en colonies. Le nombre d'UFC a atteint 300 UFC dans quelques boîtes (Tab.5). La majorité des colonies étaient de couleur blanchâtre avec la détection de quelques colonies de couleur jaune doré. Ces résultats sont attendus et confirment la composition de la flore cutanée qui est constituée principalement de bactéries à Gram positif, avec une prédominance du Staph blanc (Aubry, 2019 ; Ecale, 2021).

En deuxième position vient les boîtes contenant la GN, qui étaient plus au moins chargées en colonies bactériennes avec différents aspects et différentes couleurs. Plusieurs colonies de champignons, avec un aspect filamenteux, ont été également observées sur ces boîtes. Malheureusement le manque de moyen au niveau de notre laboratoire ne nous a pas permis de les identifier.

Il faut signaler que le 95% des boîtes contenant la gélose Hekoten, étaient stériles, même avant l'application du PHA. La flore cutanée est généralement très pauvre en germes à Gram négatif, leur présence au niveau des mains, révèle une mauvaise hygiène des mains et une grande probabilité d'une contamination fécale (Mokni et Abdelhak, 2014). Les colonies détectées sur les géloses Hektoen étaient toutes de couleur verte.

2.3. Densité bactérienne des deux mains (Droite et Gauche)

Les tests de l'efficacité des PHA ont été réalisés par trois étudiantes, deux droitrières et une gauchère. Chacune s'est chargée des manipulations d'un seul type de milieu de culture. Pour les boîtes de Pétri contenant les géloses Nutritives et Hektoen, et dont les manipulatrices sont droitrières, nous avons noté un large écart pour le nombre de colonies entre les deux mains. Les boîtes des mains droites étaient nettement chargées en UFC par rapport aux mains gauches. Cependant, l'inverse de ces résultats a été signalé pour les boîtes contenant les géloses Chapman et dont la manipulatrice est gauchère (Tab. 6). Cette charge bactérienne est en relation avec la fréquence d'utilisation des deux mains dans les différentes activités quotidiennes.

2.4. Efficacité des PHA testés

Après 48 d'incubation, le nombre d'UFC a été dénombré pour toutes les boîtes, avant et après l'application du PHA afin d'évaluer son efficacité. Les taux de réduction ont été calculés en comparant le nombre d'UFC des boîtes avant et après l'application du PHA.

Pour assurer un bon effet désinfectant, des volumes 3 ml de chaque produit ont été utilisés pour la friction hydro-alcoolique des deux mains qui a duré 30 secondes.

Les résultats ont montré que le 50 % des PHA testés était très efficaces en matière de désinfection, avec des taux de réduction qui ont dépassé le 90%. Il s'agit des PHA N°2, 7, 8, 9 et 10 (Tab.7).

Le reste des PHA (50%) étaient malheureusement inefficaces et n'ont permis presque aucune réduction ou élimination de la flore cutanée. Il s'agit des PHA N°1, 3, 4, 5 et 6. La non-efficacité de ces PHA en matière de désinfection a peut-être une relation avec leur composition chimique. Ils ne contiennent peut-être pas un taux d'alcool suffisant pour garantir leur action biocide.

Il faut noter que pour les 5 PHA inefficaces, nous avons remarqué que la charge bactérienne des deux mains (exprimée en nombre d'UFC) était largement supérieure à celle détectée avant l'application du produit. Ces résultats nous ont surpris en premier temps. Afin d'éliminer la probabilité que ces produits soient contaminés, nous avons décidé de tester leur qualité microbiologique en ensemençant des volumes de 0,5 mL de chaque produit sur les trois milieux de culture choisis pour notre étude. Les résultats ont montré que les dix produits étaient stériles. Ainsi, l'explication probable de cette charge bactérienne est la dispersion de la flore cutanée de toute la surface des mains après l'application du PHA qui est inefficace et n'a éliminé aucun germe.

Tableau 6. Résultats des dénombrements des UFC, avant et après l'application des PHA, pour les deux mains et sur les trois milieux de culture utilisés.

	Gélose Nutritive				Gélose Hektoen				Gélose Chapman			
	Main Droite		Main Gauche		Main Droite		Main Gauche		Main Droite		Main Gauche	
	Avant	Après	Avant	Après	Avant	Après	Avant	Après	Avant	Après	Avant	Après
PHA N° 01	23 UFC	21 UFC	24 UFC	16 UFC	01 UFC	00 UFC	00 UFC	00 UFC	24 UFC	33 UFC	30 UFC	40 UFC
PHA N° 02	12 UFC	01 UFC	32 UFC	01 UFC	00 UFC	00 UFC	00 UFC	00 UFC	10 UFC	02 UFC	14 UFC	00 UFC
PHA N° 03	03 UFC	37 UFC	08 UFC	43 UFC	00 UFC	00 UFC	00 UFC	00 UFC	30 UFC	227 UFC	45 UFC	300 UFC
PHA N° 04	06 UFC	02 UFC	10 UFC	04 UFC	00 UFC	00 UFC	00 UFC	00 UFC	16 UFC	08 UFC	60 UFC	04 UFC
PHA N° 05	17 UFC	34 UFC	17 UFC	30 UFC	01 UFC	00 UFC	00 UFC	00 UFC	45 UFC	23 UFC	14 UFC	16 UFC
PHA N° 06	06 UFC	02 UFC	11 UFC	05 UFC	00 UFC	00 UFC	00 UFC	00 UFC	06 UFC	20 UFC	03 UFC	45 UFC
PHA N° 07	12 UFC	00 UFC	26 UFC	04 UFC	00 UFC	00 UFC	00 UFC	00 UFC	01 UFC	00 UFC	10 UFC	00 UFC
PHA N° 08	07 UFC	01 UFC	27 UFC	05 UFC	00 UFC	00 UFC	00 UFC	00 UFC	08 UFC	01 UFC	08 UFC	00 UFC
PHA N° 09	25 UFC	02 UFC	38 UFC	02 UFC	00 UFC	00 UFC	00 UFC	00 UFC	12 UFC	01 UFC	11 UFC	00 UFC
PHA N° 10	17 UFC	10 UFC	07 UFC	00 UFC	00 UFC	00 UFC	00 UFC	00 UFC	02 UFC	00 UFC	00 UFC	00 UFC

Tableau 7. Taux de réduction des PHA testés.

	Taux de réduction			Efficacité	Concentration en Alcool
	Gélose Nutritive	Gélose Chapman	Gélose Hektoen		
PHA N° 01	00 %	00 %	/	Non-efficace	% non mentionnée
PHA N° 02	> 90 %	> 90 %	/	Efficace	% non mentionnée
PHA N° 03	00 %	00 %	/	Non-efficace	70%
PHA N° 04	50 %	50 %	/	Non-efficace	% non mentionnée
PHA N° 05	00 %	00 %	/	Non-efficace	% non mentionnée
PHA N° 06	50 %	00 %	/	Non-efficace	80%
PHA N° 07	> 90 %	> 90 %	/	Efficace	% non mentionnée
PHA N° 08	> 90 %	> 90 %	/	Efficace	70%
PHA N° 09	> 90 %	> 90 %	/	Efficace	65%
PHA N° 10	> 90 %	> 90 %	/	Efficace	% non mentionnée

/ : Résultat non-significatif

Selon l’OMS, seules les solutions ou gels hydro-alcooliques ayant une teneur en alcool d’au moins 60 % sont efficaces. Il faut signaler que les concentrations d’éthanol n’étaient pas mentionnées sur le 60% des PHA testés (Tab.7). Ce sont donc non-conformes. La même proportion a été signalée pour les GHA utilisés par les étudiants participant à notre enquête.

Depuis de début de la pandémie liée à la Covid-19, l’utilisation mondiale des PHA a explosé. Pour faire face à cette demande, de nombreuses références de gels ou de solutions hydro-alcooliques sont arrivées sur le marché dernièrement. Mais toutes ne seraient pas efficaces.

Une étude réalisée par le Centre National de Toxicologie Algérien, sur 104 produits désinfectants hydro-alcooliques, a montré que le 31% de ces produits présentent un degré en éthanol et/ou en isopropanol inférieur à la norme de l’OMS (**Chebli et al., 2020**).

Une étude similaire a été rapportée en 2020 en France où la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes (DGCCRF) Française a procédé à l’analyse de plusieurs échantillons de solutions hydro-alcooliques, choisis en raison « d’incohérences liées à leur emballage, à leur étiquetage ou à leur présentation ». Les résultats appellent à la vigilance. Sur 162 PHA analysés, 73 % ont été déclarés non conformes du fait d’un étiquetage incomplet ou incorrect ou une teneur en alcool insuffisante ce qui rend inefficace l'action de ces produits (**Belloir 2021**).

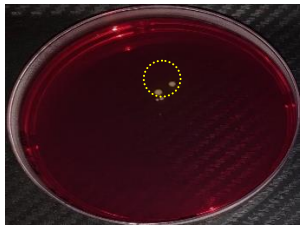
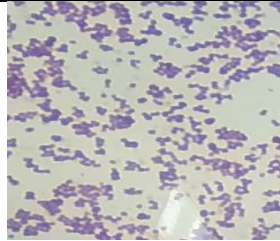
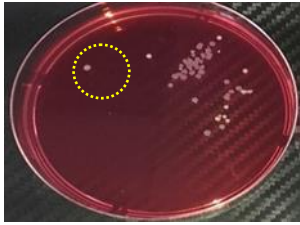
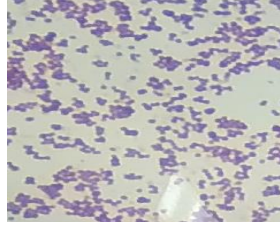
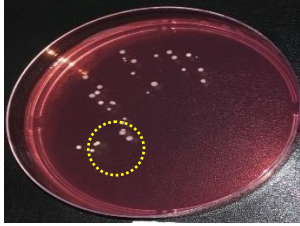
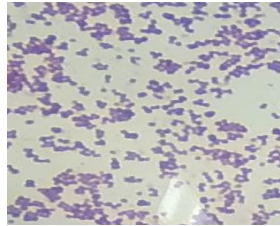
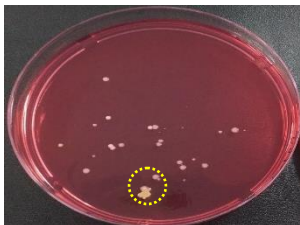
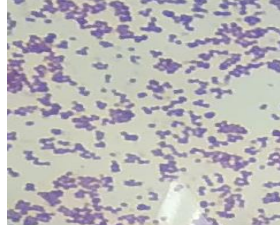
3. Résultats de l'identification de la flore cutanée

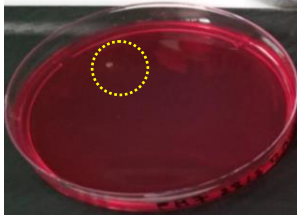
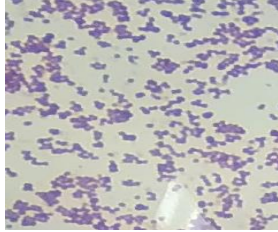
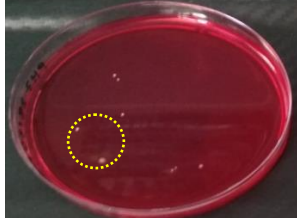
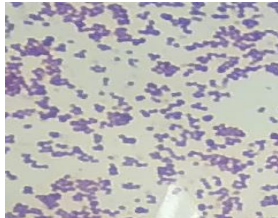
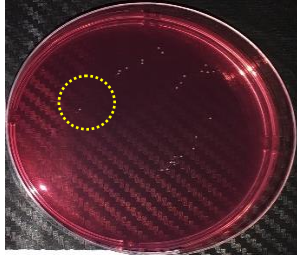
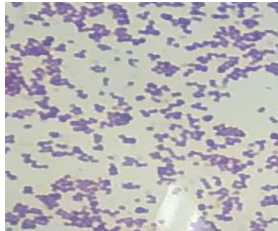

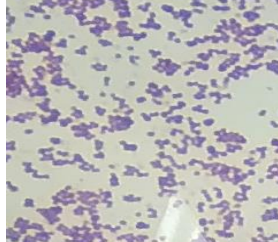
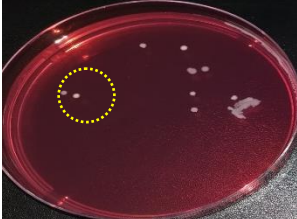
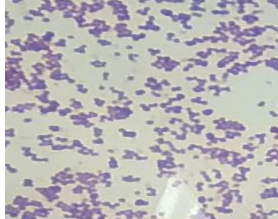
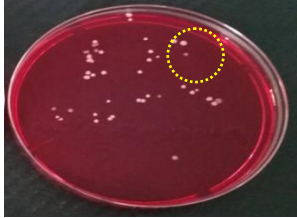
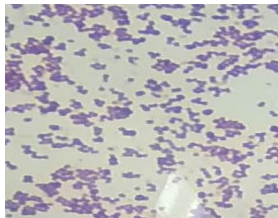
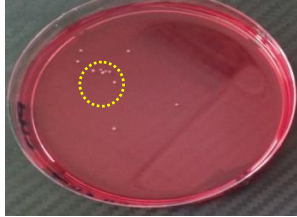
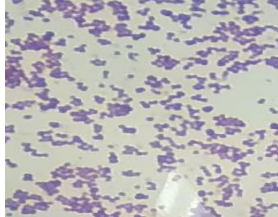
3.1. Identification macroscopique et microscopique des souches Gram positif

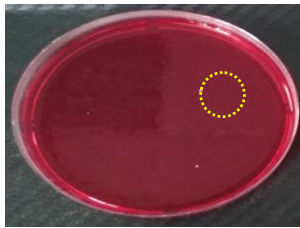
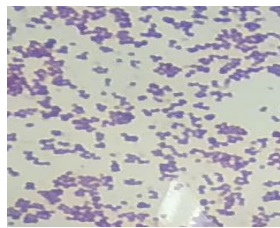
Les résultats de l'identification macroscopique et microscopique des 12 colonies bactériennes à Gram positif sélectionnée sont présentés dans le tableau 8.

La description macroscopique des boîtes de Pétri contenant la gélose Chapman a montré que les colonies sélectionnées possèdent un diamètre plus au moins petit. La majorité sont de couleur blanchâtre. 03 colonies possèdent une pigmentation jaune dorée indiquant une consommation du mannitol. L'examen microscopiques, état frais et coloration de Gram, a montré que les 12 souches sont des Cocci en amas ou en grappe de raison et à Gram positif. Ce type de regroupement est typique aux Staphylocoques.

Tableau 8. Aspect macroscopique et microscopique des souches à Gram positif sélectionnées

	Description de l'aspect macroscopique de la colonie		Aspect Microscopique	
N° 01	Colonie sèche Couleur jaune doré Diamètre moyen Contour régulier		Cocci en grappe de raisin Immobilés Gram positif	
N° 02	Colonie bombée Couleur blanche Diamètre petit		Cocci en amas Immobilés Gram positif	
N° 03	Colonie brillante et visqueuses Diamètre moyen Contour régulier Couleur jaune doré		Cocci en grappe de raisin Immobilés Gram positif	
N° 04	Colonies brillante et visqueuse Couleur blanche Contour régulier		Cocci en amas Immobilés Gram positif	

N° 05	Colonie bombée Contour régulier Couleur blanche		Cocci en amas Immobilés Gram positif	
N° 06	Colonie sèche Couleur blanche Contour irrégulier Grand diamètre		Cocci en amas Immobilés Gram positif	
N° 07	Colonie blanche Brillante, Visqueuse Contour régulier		Cocci en amas Immobilés à Gram positif	
N° 08	Colonie bombée et lisse Diamètre moyen Couleur blanchâtre		Cocci en amas Immobilés Gram positif	
N° 09	Colonie jaune doré Plate Petit diamètre		Cocci en grappe de raisin Immobilés Gram positif	
N° 10	Colonie blanche Plate Petit diamètre		Cocci en amas Immobilés à Gram positif	
N° 11	Colonie blanche Plate Petit diamètre		Cocci en amas Immobilés Gram positif	

N° 12	Colonie légèrement bombée et crémeuse Couleur blanche Petit diamètre		Cocci en amas Immobilés à Gram positif	
-------	--	---	--	---

3.2. Identification biochimique des souches Gram positif

Les résultats de l'identification biochimique des 12 colonies bactériennes à Gram positif sélectionnées sont présentés dans le tableau 9.

Tableau 9. Résultats des tests biochimiques des souches à Gram positif

	Mannitol	Oxydase	Catalase	Coagulase	Identification
N° 01	+	-	+	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
N° 02	-	-	+	-	SCN
N°03	+	-	+	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
N°04	-	-	+	-	SCN
N° 05	-	-	+	-	SCN
N°06	-	-	+	-	SCN
N°07	-	-	+	-	SCN
N°08	-	-	+	-	SCN
N° 09	+	-	+	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
N°10	-	-	+	-	SCN
N°11	-	-	+	-	SCN
N°12	-	-	+	-	SCN

SCN : Staphylocoques blancs à Coagulase Négative.

Les résultats de l'identification biochimique ont montré que sur les 12 souches de *Staphylococcus* sélectionnées, seulement 03 étaient capables d'utiliser le mannitol. Les 12 souches possèdent une catalase. Cependant le test d'oxydase était négatif pour toutes les souches. Enfin, 03 souches ont réussi à coaguler le plasma de lapin. Ces dernières ont été identifiées comme des *Staphylococcus aureus*.

Le staph doré est le plus dangereux de tous les nombreux staphylocoques fréquemment rencontrés. Il provoque souvent des infections cutanées, mais il peut entraîner une pneumonie, des infections des valves cardiaques et des infections osseuses. Le *S. aureus* fait partie de la flore cutanée transitoire. La transmission de cette bactérie d'homme à homme peut se faire par contact direct, par l'intermédiaire d'objets contaminés (téléphones portables, poignées de porte, interrupteurs, télécommandes de téléviseur, transport public,

....) ou, moins souvent, par inhalation de gouttelettes infectées dispersées dans l'air par les éternuements ou la toux. Il faut également signaler que le *S. aureus* est présent dans le nez d'environ 30 % des adultes sains et sur la peau d'environ 20 % d'entre eux (Bush, 2021).

Les 09 souches présentant un test de coagulase négatif ont été identifiées comme des Staphylocoques blancs à Coagulase Négative. Les SCN représentent les espèces les plus fréquemment trouvées dans la flore cutanée normale ou résidente, trois espèces prédominent.

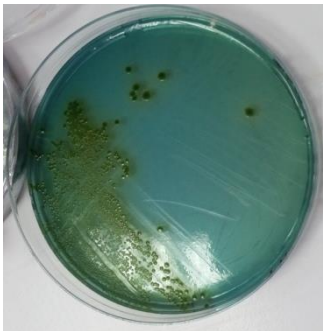
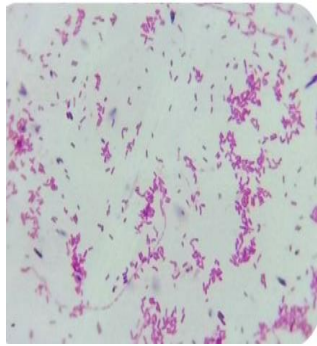
Le *Staphylococcus epidermidis* que l'on peut isoler sur l'ensemble du territoire cutané, il constitue plus de 90% de la flore résident aérobie présente sur le stratum corneum (la couche la plus externe de la peau et de l'épiderme), *S. hominis* qui est isolé fréquemment du creux axillaire, du creux inguinal et périnée, et enfin *S. haemolyticus* qui est surtout rencontré au niveau des bras, des jambes et des espaces interdigitaux (Goetz, 2018).

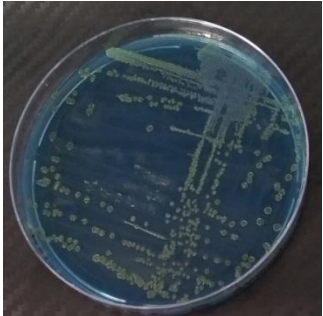
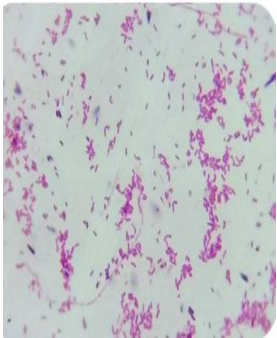
3.3. Identification macroscopique et microscopique des souches Gram négatif

Les résultats de l'étude des caractères macroscopiques, microscopiques et biochimiques de l'ensemble des colonies apparues sur les géloses Hektoen sont présentés dans le tableau 10.

La description macroscopique des deux colonies isolées sur les boîtes de Pétri contenant la gélose Hektoen a montré que ces dernières possèdent un diamètre plus au moins petit. Les deux sont de couleur verte indiquant une non-utilisation des glucides (lactose) de ce milieu de culture. L'examen microscopiques, état frais et coloration de Gram, a montré que les 02 souches sont des bacilles isolés et à Gram négatif.

Tableau 10. Aspect macroscopique et microscopique des souches à Gram négatif sélectionnées

Description de l'aspect macroscopique de la colonie		Aspect microscopique	
A	Petite colonie lisse Légèrement bombée Couleur verte Conteur régulier Lactose (-) H ₂ S (-)		Bacilles isolés Mobiles Gram négatif
			

B	Petite colonie Sèche et plate Couleur verte Contour régulier Lactose (-) H ₂ S (-)		Coccobacilles isolés Mobiles Gram négatif	
----------	--	---	--	---

3.4. Identification biochimique des souches Gram négatif

Les résultats de l'étude des caractères biochimiques des 02 colonies bactériennes à Gram négatif ont permis l'identification de deux souches. Il s'agit de *Pseudomonas luteola* et *Pasteurella pneumotropica* avec des pourcentages d'identification de 99,8 % et 100 % respectivement (Tab. 11).

Pseudomonas luteola est un bacille aérobie, mobile et non sporulant. Elle fait partie de la flore transitoire de la peau. Cette dernière varie au cours de la journée et dépend des activités réalisées et de l'environnement. *P. luteola* se trouve fréquemment sous forme de saprophyte dans le sol, l'eau et d'autres environnements humides et c'est un agent pathogène opportuniste chez les patients immunodéprimés (Çiçek *et al.*, 2016).

Les Pasteurelles sont des petits bacilles commensaux des muqueuses du tractus respiratoire supérieur et du tube digestif des mammifères et des oiseaux. Ils sont généralement responsables de zoonoses. Les facteurs favorisant la transmission à l'Homme sont toutes les situations favorisant les contacts étroits avec des animaux (profession, animaux de compagnie, activités extérieures, ...) (Frebourg *et al.*, 2002).

La présence de *Pasteurella pneumotropica* sur nos boîtes est peut-être expliquée par une contamination des mains de la manipulatrice par cette souche déjà identifiée par nos collègues de pailleuse qui travaillent sur les œufs.

Tableau 11. Résultats des tests biochimiques des souches à Gram négatif.

Test	Colonie A	Colonie B
Lactose	-	-
ONPG	+	-
ADH	-	-
LDC	-	-
ODC	-	-
CIT	+	-
H₂S	-	-

URE	-	-
TDA	-	-
IND	-	-
VP	+	-
GEL	-	-
GLU	+	-
MAN	-	-
INO	-	-
SOR	-	+
RHA	-	+
SAC	-	+
MEL	-	+
AMY	-	-
ARA	+	-
OX	-	+
Identification	<i>Pseudomonas luteola</i>	<i>Pasteurella pneumotropica</i>
Pourcentage%	99.8%	100%

(+) : Test positif ; (-) Test négatif.

*Conclusion et
Recommandations*

Les autorités publiques ont incité la population à l'utilisation des PHA comme mesure de prévention et geste barrière pour lutter contre la pandémie de la COVID-19 qui a causé un vrai problème de santé publique. Selon les estimations de l'OMS, les campagnes incitant aux lavages des mains réguliers, couplées à l'invention du gel hydroalcoolique, permettent de sauver entre 5 et 8 millions de vies par an.

Notre enquête menée sur le bon usage des PHA auprès des étudiants de la faculté SNV (Université Abbès Laghrour Khenchela) a montré que le 60% des étudiants interrogés ont répondu Oui pour l'utilisation ou non d'un PHA. Tous les PHA utilisés par ces étudiants sont des Gels HydroAlcooliques (GHA), issus de 22 différentes marques algériennes ou internationales.

Les analyses des données ont révélé que le 63% des étudiants utilisant les GHA sont de sexe féminin, contre 37% de sexe masculin. Le choix des GHA s'est fait au hasard pour la majorité des étudiants interrogés (56,66%). Le 23% des étudiants se sont, par contre, intéressés à la composition chimique pour le choix de leur GHA. Le 57% des étudiants participant à notre enquête ont déclaré une fréquence d'utilisation de leurs GHA de plus de trois fois par jours.

Une insuffisance des connaissances en matière d'utilisation des PHA, par la majorité de nos collègues étudiants, a été également révélée à l'issu de cette enquête. Uniquement, le 17% des étudiants appliquent correctement la méthode de friction hydroalcoolique des mains. Plus de 70% des étudiants ne respectent ni le temps de contact ni la quantité nécessaire du produit assurant l'efficacité d'un désinfectant.

Les résultats de l'évaluation de l'efficacité microbiologique des PHA, *in-vitro*, ont montré que le 50% des produits testés étaient malheureusement inefficaces et n'ont permis aucune réduction ou élimination de la charge bactérienne des mains après leur application. La non-efficacité de ces produits en matière de désinfection est peut-être liée à leur composition chimique. Ils ne contiennent peut-être pas un taux d'alcool suffisant pour garantir leur action biocide.

D'ailleurs, ces concentrations d'alcool n'étaient pas mentionnées sur les étiquettes des 60% des PHA testés. La même proportion a été signalée pour les GHA utilisés par les étudiants participant à notre enquête. Ces produits sont donc non-conformes vis-à-vis des normes de l'OMS et nécessitent un contrôle analytique (titre d'alcool) par les autorités avant leur mise sur le marché.

Les résultats de l'étude macroscopique, microscopique et biochimique des colonies bactériennes isolées ont permis l'identification de 12 souches à Gram positif, à savoir 03 *Staphylococcus aureus* et 09 Staphylocoques blancs à Coagulase Négative (SCN), et 02 souches à Gram négatif *Pseudomonas luteola* et *Pasteurella pneumotropica*.

Après avoir analysé les données issues de cette étude, nous proposons les recommandations suivantes :

- Planifiez des campagnes de sensibilisation auprès des étudiants universitaires sur le bon usage des PHA notamment la méthode de friction hydroalcoolique des mains ;
- L'installation, par le ministre du commerce, d'une assise qui permet le contrôle officiel des produits hydroalcooliques mis sur le marché Algérien, afin d'empêcher la production clandestine et la commercialisation en dehors du circuit légal.

*Références
bibliographiques*

- AFNOR (Association Française de Normalisation). (2013). Une Norme Pour Établir L'efficacité Des Antiseptiques Et Désinfectants Chimiques Pour Le Lavage Hygiénique Des Mains. Disponible sur:<https://normalisation.afnor.org/actualites/une-norme-pour-etablir-lefficacite-des-antiseptiques-et-desinfectants-chimiques-pour-le-lavage-hygienique-des-mains/>.
- Aho LS., Antoniotti G., Aupee M., Bergeal E., Girard R., Goetz ML. et al. (2003) Sous-Groupe « Activité – Efficacité : Savon Désinfectant Versus Solution Hydro-Alcoolique ». Société française d'hygiène hospitalière (SFHH) Recommandations pour l'hygiène des mains : argumentaire efficacité, 14p.
- ANM (Académie Nationale de Médecine). (2021). Respecter les gestes barrières sans sacrifier ses mains. Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine (France) , v205, p 211-212.
- APS : (Algérie Presse Service). (2020). disponible sur : <https://www.aps.dz/economie/103805-covid-19-37-licences-de-production-de-gel-hydroalcoolique-accordees>
- Aubry M. (2019). Microbiote cutané, Malassezia et pityriasis capitis. Thèse de Doctorat, Université de Poitiers (France).120 p.
- Azdad Y. (2014). Évaluation de l'efficacité d'une solution à base d'huiles essentielles sur l'hygiène des mains. Mémoire de Licence, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah (Maroc).45 p.
- Belin N. (2021). Gels hydro-alcooliques : quand et comment les utiliser ? Santé magazine. Disponible sur : <https://www.santemagazine.fr/traitement/medicaments/gels-hydro-alcooliques-quand-et-comment-les-utiliser-174094>
- Belloir M. (2021) Covid-19 : Tout savoir sur les gels hydroalcooliques, les savons, la désinfection et les masques. LSA. Disponible sur : <https://www.lsa-conso.fr/les-gestes-barrieres-des-opportunités-pour-les-marques-d-hygiene,369748>
- Bengaly L. (2011). Implantation et évaluation d'un programme de promotion d'hygiène des mains dans un hôpital national au Mali. Thèse de Doctorat en pharmacie. Centre d'édition des Hôpitaux Universitaires de Genève (Suisse), 286 p.
- Blaize A. (2021). Gel hydroalcoolique : quels sont les produits efficaces ? Le journal des femmes Santé. Disponible sur : <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-maladies/2598700-solutions-gel-hydroalcoolique-coronavirus-covid-19-achat-composition-precaution-prix-efficacite-norme/>
- Braun C., Vocanson M., Lina G., Nicolas, J. F., Nosbaum A. (2020). Rôle de la dysbiose cutanée dans la dermatite atopique. Revue Française d'Allergologie, 60(2), 78-82.

- Bush L.W., Benson L.M., White J.H. (1986). Pig skin as test substrate for evaluating topical antimicrobial activity. *Journal of Clinical Microbiology*, 43: 343-348.
- Bush LM. (2021). Infections à *Staphylococcus aureus*. Le Manuel MSD. Disponible sur : <https://www.msmanuals.com/fr/professional/maladies-infectieuses/cocci-gram-positifs/infections-staphylococciques>.
- Chapman GH. (1945). The significance of sodium chloride in studies of staphylococci, *J. Bact.* 50: p201-203.
- Chebli I., Zebbiche Y., Seleyimi S., Cheradi S., Benaissa A., Hadjadj FZ. (2020). Contrôle de qualité des produits désinfectants hydro alcooliques: expérience du Centre National de Toxicologie. *Algerian journal of pharmacy*. 03 : 01, 2602-975.
- Çiçek M., Haşcelik G., Müştak HK., Diker KS., Şener B. (2016). Accurate diagnosis of *Pseudomonas luteola* in routine microbiology laboratory: on the occasion of two isolates. *Mikrobiyol Bul.* 50(4): 621-624.
- Cinq (Comité sur les Infections Nosocomiales du Québec). (2010) .Sélection des solutions hydro-alcooliques en milieu de soins. Institut National de Santé Publique de Québec (Canada), 39p.
- Cogen A. L., Yamasaki K., Sanchez K. M., Dorschner R. A., Lai Y., MacLeod D. T et al. (2010). Selective antimicrobial action is provided by phenol-soluble modulins derived from *Staphylococcus epidermidis*, a normal resident of the skin. *Journal of Investigative Dermatology*, 130(1), 192-200.
- Coste CAD. (2018). L'hygiène des mains ; Revue bibliographique. Thèse de Doctorat, Université de Toulouse (France).177 p.
- Dastider D., Sen DJ., Mandal SK., Bose S., Ray S., &Mahanti B. (2020) .Hand sanitizers bid farewell to germs on surface area of hands. *European Journal Of Pharmaceutical and Medical Research* , v7, p648–656.
- Di Domizio J., Pagnoni A., Huber M., Hohl D., Gilliet M.. (2016). Le microbiote cutané: le poids lourd sort de l'ombre. *Revue Médicale Suisse*, 12, 660-664.
- Dunyach-Remy C., Sotto A., Lavigne J. P. (2015). Le microbiote cutané: étude de la diversité microbienne et de son rôle dans la pathogénicité. *Revue Francophone des Laboratoires*, (469), 51-58.

- Écale F. (2021). Mise en place de modèle de microbiotes intestinal et cutané in vitro pour l'étude de leur interaction avec les xénobiotiques .Université de Poitiers (France). 281p.
- Fehr AR., Perlman S. (2015). Coronaviruses: An Overview of Their Replication and Pathogenesis. Nature Public Health Emergency Collection , v1282, p1–23.
- Frebourg NB.,Berthelot G. Hocq R.,Chibani A.,Lemeland JF. (2002). Septicemia Due to *Pasteurella pneumotropica*: 16S rRNA Sequencing for Diagnosis Confirmation. J Clin Microbiol. 40(2): 687–689.
- Girou E., Loyeau S. (2002). Efficacy of handrubbing with alcohol based solution versus standard handwashing with antiseptic soap: randomised clinical trial. British Medical Journal. 325-362.
- Goetz C. (2018) Caractérisation de molécules antibiofilm produites par des souches de staphylocoques isolées dans des cas de mammites bovines. Thèse de Doctorat, Université de Montréal (Canada). 165p.
- Gold NA, Mirza TM, Avva U. (2021). Alcohol Sanitizer. Stat Pearls Publishing.2022 Jan–. PMID: 30020626.
- Golin A.P., Choi D., & Ghahary A. (2020). Hand sanitizers: A review of ingredients, mechanisms of action, modes of delivery, and efficacy against coronaviruses. American Journal of Infection Control , v48, p1062-1067.
- Haft RJ., Keating DH., Schwaegler T., Schwalbach MS., Vinokur J., Tremaine M., et al. (2014). Correcting direct effects of ethanol on translation and transcription machinery confers ethanol tolerance in bacteria. National Academy of Sciences of the United States of America , v111, p2576–2585.
- Hasnaoui M. (2019). Les différents microbiotes. Thèse de Doctorat, Université Mohammed V-Rabat (Maroc).219 pages.
- Henaff C. (2021). Microbiote cutané et prise en charge en dermocosmétologie de la dermatite atopique. Thèse de Doctorat, Université Toulouse III-Paul Sabatier (France).124 pages.
- Huddleston T. (2020). The history of hand sanitizer—how the coronavirus staple went from mechanic shops to consumer shelves. Disponible sur : <https://www.cnbc.com/2020/03/27/coronavirus-the-history-of-hand-sanitizer-and-why-its-important.html>


- Iwase T., Uehara Y., Shinji H., Tajima A., Seo H., Takada K et al. (2010). *Staphylococcus epidermidis* Esp inhibits *Staphylococcus aureus* biofilm formation and nasal colonization. *Nature*, 465(7296), 346-349.
- Jing J.L., Yi T.P., Bose R.J., McCarthy J.R., Tharmalingam N., Madheswaran, T. (2020) Hand Sanitizers: A Review on Formulation Aspects, Adverse Effects, and Regulations. *International journal of environmental research and public health* ,v17, p3326.
- Joffin JN. (1998) Faire sa propre minigalerie. *Opéron*. 7.
- Kampf G. (2018). Efficacy of ethanol against viruses in hand disinfection. *Journal of Hospital Infection* , v98, p331-338.
- Kantor R., & Silverberg, JI. (2017). Environmental risk factors and their role in the management of atopic dermatitis. *Expert Review Clinical Immunology* , v13, p15-26.
- Kings S., Metzger WI. (1968). A new plating medium for the isolation of enteric pathogens. II. Comparison of hektoen enteric agar with SS and EMB agar. *Appl. Microbiol.* 16: p.577-578.
- Lapage SP., Shelton JE., Mitchell TG. (1970). *Methods in Microbiology*’ Eds. Academic Press. London.3: 116p
- Larson E.L. (1995). APIC guideline for handwashing and hand antisepsis in health care settings. *American Journal of Infection Control* , v23,p 251-269.
- Mac Faddin JF. (1981). Oxidase test, *Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria. J ClinPathol.* 34, 5: 572.
- Marchetti MG., Kampf G., Finzi G., Salvatorelli G. (2003). Evaluation of the bactericidal effect of five products for surgical hand disinfection according to prEN 12054 and prEN 12791. *Journal of Hospital Infection.* 55, 33: 238.
- McDonnell G.,et Russell A. D. (1999). Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action, and Resistance. *American Society for Microbiology, Clinical Microbiology Reviews* , v12, p147-179.
- Meynadier M. (2019). *Peau Et Soins Dermatologiques : Conseilset Prise En Charge À L’officine.* Université d’Aix-Marseille (France). 135 pages.
- Mokni M., Abdelhak S. (2014). Flore cutanée, microbiote et microbiome. *Dermatologie infectieuse*, (1),1-4.

- Oliveira K., Brecher SM., Durbin A., Shapiro DS., SchwartzDR.,DeGirolami PC. et al.(2002). Direct identification of *Staphylococcus aureus* from positive blood culture specimens with a rapid test. J. Med. Microbiol. 51: 530-531.
- OMS (2009). WHO guidelines on hand hygiene in health care. 259p. Disponible sur : file:///C:/Users/Biba/Downloads/9789241597906_eng.pdf
- OMS (2010). Résumé des Recommandations de l'OMS pour l'Hygiène des Mains au cours des Soins : Premier Défi Mondial pour la Sécurité des Patients. Disponible sur : https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/70469/WHO_IER_PSP_2009.07_fre.pdf
- OMS (2010a). Guide de Production locale :Formulations des Produits hydro-alcooliques recommandés par l'OMS. 10p. Disponible sur : <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/332006/WHO-IER-PSP-2010.5-fre.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- OMS (2010b). Résumé des Recommandations de l'OMS pour l'hygiène des mains au cours des Soins. Genève (Suisse). 52p. Disponible sur : https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/70469/WHO_IER_PSP_2009.07_fre.pdf
- Pedrassi A. (2019). Le microbiome cutané, une opportunité pour les produits cosmétiques. Université d'Aix-Marseille (France).76 pages.
- Reiner K. (2010). Catalase Test Protocol. American Society of Microbiology.p1-9.
- Tanneur M. L. (2006). Etude de l'efficacité in vivo d'un savon chirurgical à base de chlorhexidine. Université Paul-Sabatier de Toulouse (France).53 pages.
- Teyssou R., Koeck J. L., Buisson Y. (1997). La flore cutanée. Revue française des laboratoires, 1997(291), 49-55
- Thomas P. (2012). Long-term survival of Bacillus spores in alcohol and identification of 90% ethanol as relatively more spori/bactericidal. Current Microbiology , v64, p130–139.
- Toplu S. A., Altunisik N., Turkmen D., &Ersoy Y. (2020). Relationship between hand hygiene and cutaneous findings during COVID19 pandemic. Journal of Cosmetic Dermatology , v19, p2468-2473.
- Wilhelm K. (1996). Prevention of Surfactant-Induced Irritant Contact Dermatitis. Current Problems in Dermatology , v25, p78-85.

Annexes

Annexe I : Support de l'enquête

Enquête sur le bon usage des produits hydro-alcooliques (PHA) par les étudiants de la Faculté SNV (Université Abbès Laghrour Khenchela)

N° :	
Age :	
Sexe : Homme <input type="checkbox"/> Femme <input type="checkbox"/>	
Niveau d'étude : L1 <input type="checkbox"/> L2 <input type="checkbox"/> L3 <input type="checkbox"/> M1 <input type="checkbox"/> M2 <input type="checkbox"/>	

1. Est-ce que vous utilisez un PHA ?

Oui

Non

2. Quel type de PHA utilisez-vous ?

Gel

Solution

Mousse

3. Nom et marque du PHA

.....

4. Type et Concentration en alcool (%)

.....

5. Quel est le critère de choix de votre PHA ?

Marque

Composition

Odeur

Au hasard

Autre

6. Fréquence d'utilisation par jour ?

Une fois

Deux fois

Trois fois

> Trois fois

7. Quand et Comment désinfecter vos mains ?

.....



Annexe II : Composition des milieux de culture utilisés**✓ Gélose nutritive**

Extrait de viande.....	1,0 g
Extrait de levure.....	2,0 g
Peptone.....	5,0 g
Chlorure de sodium.....	5,0 g
Agar.....	15,0 g
Eau.....	1000 ml

pH=7,3

✓ Gélose Hektoen

Protéose-peptone.....	12,0g
Extrait de levure.....	3,0g
Lactose.....	12,0 g
Saccharose.....	12,0g
Salicine.....	2,0g
Citrate de fer III et d'ammonium.....	1,5 g
Sels biliaires.....	9,0 g
Fuchsine acide.....	0,1g
Bleu de bromothymol.....	0,065g
Chlorure de sodium.....	5,0g
Thiosulfate de sodium.....	5,0g
Agar.....	13,0g

pH=7,5

✓ Gélose Chapman

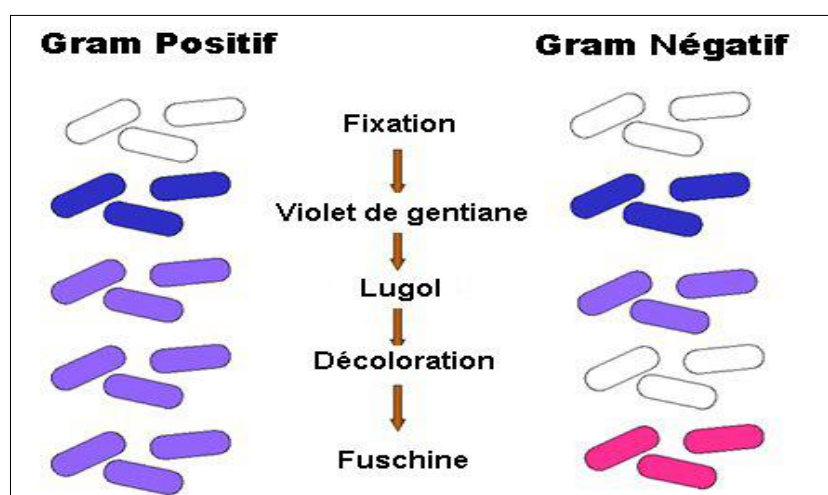
Peptone :.....	10,0 g
Extrait de viande de bœuf :.....	1,0 g
Chlorure de sodium :.....	75,0 g
Mannitol :.....	10,0 g
Rouge de phénol :.....	0,025 g
Agar :.....	15,0 g
Eau distillée :.....	1000 ml

pH = 7,4

Annexe III : Coloration de Gram

Cette coloration aide à déterminer deux grands groupes appelés Gram positif et Gram négatif. Elle nous permet aussi de connaître la morphologie et le mode de regroupement des bactéries

- **Frottis** : On prélève une colonie bactérienne, à partir de chaque milieu d'isolement et l'étaler sur une goutte d'eau physiologique déposée sur la lame qu'on a laissé sécher à l'air libre puis fixe par simple passage sur la flamme de bec Bunsen ;
- **Coloration** : Chaque frotti fixé à la chaleur est coloré pendant une minute au violet de Gentiane, il est ensuite lavé rapidement par l'eau courante ;
- **Fixation** : Traitement durant une minute par la solution de Lugol puis rincer à l'eau distillée ;
- **Décoloration** : Traitement avec l'alcool, C'est une étape critique, on fait couler le solvant sur frottis pendant une à trois secondes puis laver immédiatement à l'eau courante. À ce stade, les cellules Gram négatives seront incolores, les cellules Gram positives restent violettes ;
- **Recoloration** : Soumission du frottis durant trente secondes à une courte coloration par la fuchsine pour recolorer les cellules Gram négatives présentes puis rincer et sécher entre deux feuilles de papier buvard propre ;
- **Observation** : Grossissement X 100 à l'immersion. Les bactéries Gram positif sont bien colorées en violet alors que les bactéries Gram négatif sont bien colorées en rose.



Résumé :

Les produits hydro-alcooliques (PHA) ont envahi nos vies depuis le début de la COVID-19. Ces petits flacons se multiplient dans les pharmacies, les magasins, les écoles, nos sacs à main et contribuent à nous protéger contre le coronavirus et ses variants.

Notre enquête menée sur le bon usage des PHA auprès des étudiants de la faculté SNV (Université Abbes Laghrour Khenchela) a montré que le 63% des étudiants utilisant ces désinfectants sont de sexe féminin. Une insuffisance des connaissances en matière d'utilisation des PHA, a été signalée chez la majorité des étudiants interrogés (> 70%).

Les résultats de l'évaluation de l'efficacité microbiologique des PHA, *in-vivo*, ont montré que le 50% des produits testés étaient inefficaces en matière de désinfection, cela est peut-être dû à un taux d'alcool insuffisant pour garantir leur action biocide. En effet, le 60% des PHA testés et utilisés par les étudiants participant à notre enquête sont jugés non-conformes du fait d'un étiquetage incomplet qui ne mentionne pas la teneur en alcool dans ces produits.

Enfin, l'étude des caractères macroscopiques, microscopiques et biochimiques des colonies bactériennes isolées a permis l'identification de plusieurs Staphylocoques blancs à Coagulase Négative, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas luteola* et *Pasteurella pneumotropica*.

Mots-clés : PHA, Bon usage, Efficacité microbiologique, Conformité.

ملخص:

غزت معقمات اليدين الكحولية حياتنا منذ ظهور جائحة كوفيد 19. تتكاثر هذه الزجاجات الصغيرة في الصيدليات والمتاجر والمدارس وحقائب اليد وتساعد في حمايتنا من فيروس كورونا ومتغيراته. أظهر الاستطلاع الذي أجريناه حول الاستخدام السليم لمعقمات اليدين بين طلاب كلية علوم الطبيعية والحياة (جامعة عباس لغرور خنشلة) أن 63% من الطلاب الذين يستخدمون هذه المطهرات هم إناث. لوحظ نقص كبير في المعرفة باستخدام معقمات اليدين بين غالبية الطلاب الذين شملهم الاستطلاع (أكثر من 70%). أظهرت نتائج تقييم الفعالية الميكروبيولوجية لمعقمات اليدين الكحولية، أن 50% من المنتجات المختبرة كانت غير فعالة من حيث التطهير، وربما يرجع ذلك إلى مستوى الكحول غير الكافي لضمان عمل مبيداتها البيولوجية. في الواقع، 60% من المطهرات التي تم اختبارها واستخدامها من قبل الطلاب المشاركين في الاستطلاع الخاص بنا تعتبر غير مطابقة وذلك بسبب عدم ذكر نسبة الكحول في ملصقات هذه المنتجات. أخيراً، سمحت دراسة الصفات الماكروسكوبية والميكروسكوبية والكيميائية الحيوية للمستعمرات البكتيرية المعزولة بتحديد العديد من المكورات العنقودية البيضاء، والمكورات العنقودية الذهبية، والزائفة الصفراء، والباستوريلا.

الكلمات المفتاحية : معقمات اليدين الكحولية، الاستخدام الجيد، الفعالية الميكروبيولوجية، المطابقة.