

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'éducation supérieure et de la recherche scientifique
جامعة 8 ماي 1945 قالمة
Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des sciences de la vie et de la nature et sciences de la terre et de l'univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Département : Ecologie et Génie de l'Environnement

Thème

Contribution A L'étude Des Contrôles Bactériologiques Des Gels Hydro Alcooliques Utilisés Pendant Covid 19 En Algérie

Présenté par :

CHETTIBI Rania
ADJABI Rayane

Membres de jury :

Présidente : **HAMDIKENE Malika**

Examineur : **MERZOUG Abdelghani**

Encadreur : **HOUHAMDI Moussa**

Encadreur : **RAZKALLAH Zahra**

MCB Université de Guelma

MCB Université de Guelma

Professeur Université de Guelma

Docteur Université de Guelma

Année universitaire : 2020 / 2021

Dédicaces

A mes parents, sans qui ce mémoire n'aurait pu voir le jour.

A papa CHETTIBI Mohammad Cherif, A qui je dois tout et pour qui aucune dédicace ne saurait exprimer mon profond amour, ma gratitude, ni ma reconnaissance infinie pour l'ampleur des sacrifices et de souffrances qu'il a enduré pour pouvoir m'éduquer, pour me voir heureuse.

A travers cette dédicace je te remercie d'être toujours à mes côtés pour me soutenir, m'encourager. Je te remercie de m'avoir aidé à achever ce travail. Tu m'as appris le sens du travail, de l'honnêteté et de la responsabilité. Je souhaite que ce mémoire t'apporte la joie de voir aboutir tes espoirs et j'espère ne jamais te décevoir.

A ma très chère mère AOUATA Malika, Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.

*Puisse DIEU vous garder et vous procurer santé et longue vie.
Avec tout mon amour.*

*A ma sœur Ibtissam et mon frère Abd EL Rahman,
Pour notre complicité et tous les supers moments passés ensemble et les nombreux à venir.
Mais aussi pour votre soutien et votre écoute.
Vous seriez bientôt à ma place et j'espère pouvoir, à mon tour, vous porter mon aide.*

*A jedi et mama khadidja,
Qui ont suivi avec intérêt toutes mes années d'études et qui m'ont soutenue.
Merci à vous deux, pour la fierté permanente que je lis dans vos regards.*

*A jedi et mémé,
J'aurai voulu que vous soyez présents en ce jour spécial mais le destin en a décidé autrement,
Puisse Dieu ait votre âme au paradis
Avec toutes mes pensées*

A toute ma famille

*A Sparkles,
Merci de m'avoir guidé et aidé pour enfin trouver ma voie.*

Merci pour tes conseils, tes encouragements, ton écoute et ton soutien durant ces cinq années d'études ainsi qu'au quotidien.

Pour ta présence à mes côtés à chaque moment important de ma vie.

A mon binôme Rayane

A mes amies,

Ines, Rana, Manel, Selma, Loubna... pour notre belle amitié qui a commencé sur les bancs de la fac et qui n'est pas prête de se terminer.

Pour tous ces moments inoubliables passés ensemble et ceux à venir.

On se l'est dit, c'est pour la vie.

Rania CHETTIBI

Dédicaces

A mon cher père Adjabi Mourad, mon idéal dans la vie, ma source de confort, de force et de confiance, grâce à toi mon héros, j'ai appris le sens de la volonté et de la patience pour atteindre mes buts, j'apprécie vos précieux sacrifices, je suis fière d'être ta fille, je te remercie infiniment pour tout le soutien, la fierté et l'amour que tu m'as porté depuis toujours.

A ma chère mère Ben mabrouk Samira, la plus belle maman dans le monde, tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants soient des bonnes personnes sans jamais se plaindre. grâce à dieu, tu vas récolter enfin les fruits de ta patience et de tes sacrifices pour moi tout au long de ces années, j'ai tellement de chance que tu sois ma mère.

A mes parents, je n'aurai pas assez de mots pour vous remercier, je vous dois tout dans ce bas monde, je vous aime trop.

A mes belles sœurs nada et chahd, merci d'être toujours à mes côtés, que Dieu illumine pour vous le chemin de la réussite dans vos vies et vos études.

A mes petits frères, Avec vous, j'ai senti le goût de la maternité, Chaque fois que je vous regardez, j'ai l'impression que je dois être un bon modèle pour vous deux, je vous porte dans mon esprit et dans mon cœur, je prie Dieu d'éclairer votre chemin et de vous protéger pour nous.

*A ma grand- mère Khadidja, vos prières constantes tout au long de mes études sont la raison pour laquelle j'ai surmonté les difficultés que j'ai rencontrées
Je prie Dieu dans chaque prière de prolonger ta vie et de te protéger.*

A mon fiancé, Merci de toujours me soutenir dans chaque pas que je fais.

A mes chères tantes Radia, Saliha et ma deuxième maman Nassira, pour vos encouragements et vos précieux conseils je vous dédie ce modeste travail pour vous.

A mes cousines Sawsen, Loubna, Nour, Malak, Doha, Rama et mes cousins Fouad, Wadia, Wajdi, Louai, merci pour vos encouragements.

*A mes amies proches Rahma et Meriem, pour tous les bons moments qu'on a vécu ensemble
Au cours de notre étude.*

A mon enseignant du primaire Mr Salih soudani, merci pour vos conseils en or qui ont enrichi ma vie.

A mon binôme Rania, pour notre coopération à la réalisation de ce modeste travail.

Et finalement à toutes les personnes qui m'ont aidé et m'ont conseillé tout au long de mon parcours.

Remerciements

Je remercie Allah le tout puissant de m'avoir donné la force, le courage, la chance et la santé de mener à bien ce travail.

Je remercie les membres de jury pour avoir accepté de juger notre travail

Docteur, M. HAMDIKENE,

Qui m'a fait l'honneur en acceptant de présider le jury de cette thèse.

Veillez trouver dans cet ouvrage le témoignage de ma profonde et respectueuse gratitude.

Docteur, A. MERZOUG,

C'est pour nous un honneur et un grand privilège de vous avoir dans notre jury de mémoire.

Veillez trouver dans ce travail, l'expression de notre profond respect.

A notre encadreur Professeur, M. HOUHAMDI,

Nous vous remercions pour la gentillesse et la spontanéité avec lesquelles vous avez bien voulu diriger ce travail. Nous avons eu un grand plaisir à travailler sous votre direction. Nous avons eu auprès de vous le conseiller et le guide qui nous a reçus en toute circonstance avec sympathie, sourire et bienveillance. Votre amabilité, votre compétence pratique, vos qualités humaines et professionnelles nous inspirent une admiration et un grand respect. Nous voudrions être dignes de la confiance que vous nous avez accordée et vous prions, cher Maître, de trouver ici le témoignage de notre sincère reconnaissance et profonde gratitude

Docteur, Z. RAZKALLAH,

Qui nous a guidés dans la réalisation de ce travail, pour ses conseils et sa disponibilité,
Sincère reconnaissance.

Je remercie aussi le personnel du Laboratoire de Microbiologie dans notre Université pour leur collaboration et le bon climat de travail qui régnait parmi nous.

Enfin, nous exprimons mes vives et profondes reconnaissances à tous ceux qui de près ou de loin se sont associés pour l'élaboration de ce modeste travail.

Résumé :

Pendant la pandémie Covid-19, l'utilisation des gels hydro-alcooliques a augmenté afin de se désinfecter et se protéger contre le corona virus. L'objectif de ce travail est l'évaluation de l'efficacité des gels hydro alcooliques (G1, G2, G3) sur les germes de la flore cutanée qui sont utilisés pendant cette pandémie qui a affecté le monde entier en particulier l'Algérie.

L'étude pratique est réalisée au niveau du Laboratoire de Microbiologie de l'Université 8 Mai 1945 sur trois personnes volontaires, auxquels, nous avons effectué des prélèvements avant et après usage des gels. L'ensemencement est réalisé sur différents milieux gélosés.

L'identification macroscopique, microscopique et biochimique a révélé la présence de certaines bactéries isolées : *Shigella sp*, *Citrobacter koseri*, *Pseudomonas luteola*, *Burkholderia cepacia*, *Streptococcus suis I*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecius*, *Enterobacter freundii*, *Psychrobacter phenylpyrivicus*, *Aeromonas hydrophila*... .L'étude de la sensibilité et de la résistance aux antibiotiques a montré que la plupart des bactéries sont sensibles à l'Erythromycine et résistants à la Pénicilline. Alors que les plus efficaces sont la Gentamycine et le Chloramphénicol.

Mots clés :

Gels hydro-alcooliques, flore cutanée, résistance bactérienne, antibiotiques, antiseptiques.

Abstract:

During the Covid-19 pandemic, the use of hydro-alcoholic gels increased in order to disinfect and protect against the corona virus. The objective of this work is the evaluation of the effectiveness of hydro alcoholic gels (G1, G2, G3) on the germs of the skin flora which are used during this pandemic which affected the whole world in particular Algeria.

The practical study is carried out at the level of the Microbiology Laboratory of the University May 8, 1945 on three volunteers, from whom we took samples before and after using the gels. The inoculation is carried out on different agar media.

Macroscopic, microscopic and biochemical identification revealed the presence of certain isolated bacteria : *Shigella sp*, *Citrobacter koseri*, *Pseudomonas luteola*, *Burkholderia cepacia*, *Streptococcus suis I*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecius*, *Enterobacter freundii*, *Psychrobacter phenilae*.... The study of antibiotic sensitivity and resistance has shown that most bacteria are sensitive to Erythromycin and resistant to Penicillin. While the most effective are Gentamycin and Chloramphenicol.

Keywords :

Hydro-alcoholic gels, skin flora, bacterial resistance, antibiotics, antiseptics.

ملخص :

خلال جائحة كوفيد-19 ، ازداد استخدام المواد الهلامية المائية من أجل التطهير والوقاية من فيروس كورونا. الهدف من هذا العمل هو تقييم فعالية المواد الهلامية الكحولية (G1, G2, G3) على جراثيم فلورا الجلد التي استخدمت خلال هذه الجائحة التي أثرت على العالم كله ولا سيما الجزائر.

أجريت الدراسة العملية على مستوى معمل الأحياء الدقيقة بجامعة 8 ماي 1945 على ثلاثة متطوعين أخذنا منهم عينات قبل وبعد استخدام المواد الهلامية. يتم إجراء الزرع على وسائط مختلفة.

كشف التحديد العياني والمجهري والكيميائي الحيوي عن وجود بعض البكتيريا المعزولة *Shigella sp* ، *Citrobacter koseri* ، *Pseudomonas luteola* و *Burkholderia cepacia* و *Streptococcus suis I* و *Psychrobacter phenilae* و *Enterobacter freundii* و *Enterococcus faecius* و *Enterococcus faecium* . أظهر أن معظم البكتيريا حساسة للإريثروميسين ومقاومة للبينسلين. بينما الأكثر فعالية هي الجنتاميسين والكلورامفينيكول.

الكلمات الدالة :

الهلام الكحولي المائي ، فلورا الجلد ، مقاومة البكتيريا ، المضادات الحيوية ، المطهرات.

LISTE D'ABREVIATION

AFNOR : Association française de normalisation.

AFSSAPS : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé.

CLSI : Clinical and Laboratory Standards Institute.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

EN : European Norm.

EUCAST : European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing.

Gélose SS : Gélose *Salmonella Shigella*.

NF : Norme Française.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

P1 : Personnes volontaires 1, un chauffeur de taxi.

P2 : Personnes volontaires 2, une fonctionnaire dans une administration de notre université.

P3 : Personnes volontaires 3, une technicienne de laboratoire de notre université.

PHA : Produits hydro alcooliques.

SARM : Staphylococcus aureus résistant à la méticilline.

SFHH : Société française d'hygiène hospitalière.

SHA : solutions hydro-alcooliques.

TSI : Triple Sugar Iron Agar.

UFC : Nombre d'unités formant colonies.

LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES

Liste des tableaux

N°	Tableau	Page
Tableau 1.	Lavage hygiénique des mains	08
Tableau 2.	Les normes d'application obtenues in vivo	08
Tableau 3.	Les normes AFNOR encore en usage	09
Tableau 4.	Tableau comparatif de la flore résidente et transitoire cutanée	12
Tableau 5.	Constituants des Formulations OMS de PHA	17
Tableau 6.	Les personnes volontaires et les gels hydro alcoolique utilisées dans notre étude.	25
Tableau 7.	Milieu d'enrichissement « bouillon nutritif ».	27
Tableau 8.	Principaux milieux utilisés pour l'isolement bactérien.	28
Tableau 9.	Les germes bactériens selon le caractère biochimique catalase.	38
Tableau 10.	Lecture milieu TSI	40
Tableau 11.	Listes des antibiotiques utilisés	43
Tableau 12.	Résultats de l'examen macroscopique.	44
Tableau 13.	Résultats de coloration de Gram.	48/49
Tableau 14.	Résultats de l'observation microscopique après coloration	49
Tableau 15.	Résultats des tests biochimiques.	52
Tableau 16.	Résultats de TSI.	54
Tableau 17.	Résultats de l'antibiogramme de Citrobacter Koseri.	56
Tableau 18.	Résultats de l'antibiogramme de Citrobacter freundii.	57
Tableau 19.	Résultats de l'antibiogramme de Pseudomonas luteola.	58
Tableau 20.	La présence des bactéries chez P1, P2, P3 avant et après l'utilisation des G1, G2, G3.	59
Tableau 21.	Les gels hydro alcooliques utilisés.	1/13
Tableau 22.	Propriétés des principales familles d'antiseptiques à l'exception des biguanides et des ammoniums quaternaires.	2/13
Tableau 23.	Spectre d'activité des principales familles d'antiseptiques exceptés les biguanides et les ammoniums quaternaires.	2/13
Tableau 24.	Compositions du bouillon nutritif.	3/13
Tableau 25.	Compositions de la gélose nutritive.	3/13
Tableau 26.	Compositions de la gélose Hektoen.	3/13
Tableau 27.	Compositions de la gélose SS.	4/13
Tableau 28.	Compositions de la gélose Mac Conkey.	4/13
Tableau 29.	Composition de la gélose Columbia au sang frais (+ 5% sang du mouton).	4/13
Tableau 30.	Composition de la gélose Chapman au Mannitol.	5/13
Tableau 31.	Composition de la gélose King A	5/13
Tableau 32.	Composition de la gélose Mueller-Hinton.	5/13
Tableau 33.	Composition du bouillon de Cœur-cerveille.	6/13
Tableau 34.	Composition du Triple Sugar Iron Agar.	6/13
Tableau 35.	Composition du Violet de Gentiane.	6/13
Tableau 36.	Composition du Lugol.	7/13
Tableau 37.	Composition du Fuschine.	7/13
Tableau 38.	Composition du réactif TDA (pour la recherche de tryptophane désaminase).	7/13
Tableau 39.	Composition du réactif Kovacs (pour la recherche de l'indole).	7/13
Tableau 40.	Réactif VPI (pour la recherche de l'acétoïne).	7/13

LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES

Tableau 41.	Composition du réactif VP II (pour la recherche de l'acétoïne).	8/13
Tableau 42.	Composition du réactif NIT I (pour la recherche du nitrate réductase).	8/13
Tableau 43.	Composition du réactif NIT II (pour la recherche du nitrate réductase).	8/13
Tableau 44.	Interprétation de la coloration de Gram.	9/13
Tableau 45.	Tableau d lecture galerie API 20 E.	10/13
Tableau 46.	Tableau d lecture galerie API 20 STREP.	11/13
Tableau 47.	Tableau d lecture galerie API 20 NE	12/13

LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES

Listes des figures

N°	Figure	Page
Figure 1.	Technique de lavage des mains à l'eau et au savon	05
Figure 2.	Technique de friction des mains avec le gel hydro-alcoolique	06
Figure 3.	Technique de désinfection chirurgicale par frictions	07
Figure 4.	Anatomie de la peau	10
Figure 5.	Composition de la flore cutanée selon les différents sites anatomiques 11	13
Figure 6.	texture du gel hydro alcoolique	18
Figure 7.	Procédé de fabrication d'un gel	19
Figure 8.	Protocole expérimental pour étudier l'efficacité des gels hydro alcooliques.	24
Figure 9.	Les gels hydro alcooliques utiliser dans notre étude (G1, G2, G3)	25
Figure 10.	Mode de prélèvements.	26
Figure 11.	Les étapes de la coloration de Gram.	31
Figure 12.	Plaque de la galerie API 20 E (Photo personnelle).	32
Figure 13.	Plaque de la galerie API 20 NE (Photo personnelle).	34
Figure 14.	Plaque de la galerie API 20 STREP (Photos personnelles).	36
Figure 15.	Lecture de l'antibiogramme.	43
Figure 16.	Aspects macroscopiques sur gélose nutritive.	45
Figure 17.	Aspects macroscopiques sur gélose Hektoen.	45
Figure 18.	Aspects macroscopiques sur gélose SS.	45
Figure 19.	Aspects macroscopiques sur gélose Mac Conkey.	46
Figure 20.	Aspects macroscopiques sur gélose Columbia au sang frais [A: colonie α -hémolytique, B : colonie β -hémolytique et C : colonie non hémolytique γ].	46
Figure 21.	Aspects macroscopiques sur gélose Chapman.	47
Figure 22.	Aspects macroscopiques sur gélose King A et King B [A : King A, B : King B].	47
Figure 23.	Résultats de l'observation microscopique après coloration	50
Figure 24.	API 20 E de la souche Shigella spp (Photo personnelle).	50
Figure 25.	API 20 E de la souche Citrobacter Koseri (Photo personnelle).	50
Figure 26.	API 20 NE de la souche Burkholderia cepacia (Photo personnelle).	51
Figure 27.	API 20 NE de la souche Pseudomonas luteola (Photo personnelle).	51
Figure 28.	API 20 STREP de la souche Streptococcus suis 1 (Photo personnelle).	51
Figure 29.	API 20 STREP de la souche Enterococcus faecium (Photo personnelle).	51
Figure 30.	Résultat catalase (a : positif, b : négatif).	53
Figure 31.	Résultat oxydase (a : négatif, b : positif).	53
Figure 32.	Résultat coagulase (négatif).	53
Figure 33.	Résultats du test TSI. (Photo personnelle) (A : Production de gaz. B : Fermentation de glucose. C : Fermentation de glucose, saccharose et lactose. D : Fermentation de glucose, saccharose, lactose et production de gaz).	55
Figure 34.	Résultats de l'antibiogramme de <i>Citrobacter Koseri</i> (Photo personnelle).	56
Figure 35.	Représentation graphique des résultats de l'antibiogramme appliqué à <i>Citrobacter Koseri</i> .	56
Figure 36.	Résultats de l'antibiogramme de <i>Citrobacter freundii</i> (Photo personnelle).	57
Figure 37.	Représentation graphique des résultats de l'antibiogramme appliqué à	57

LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES

	<i>Citrobacter freundii</i> .	
Figure 38.	Résultats de l'antibiogramme de <i>Pseudomonas luteola</i> (Photo personnelle).	58
Figure 39.	Représentation graphique des résultats de l'antibiogramme appliqué à <i>Pseudomonas luteola</i> .	58
Figure 40.	Pourcentage de la charge bactérienne de chaque gel hydro alcooliques (G1, G2, G3).	59
Figure 41.	Pourcentage de la charge bactérienne de chaque gel hydro alcooliques avec P1	60
Figure 42.	Pourcentage de la charge bactérienne de chaque gel hydro alcooliques avec P2	60
Figure 43.	Pourcentage de la charge bactérienne de chaque gel hydro alcooliques avec P3	60
Figure 44.	<i>Citrobacter freundii</i> (Résultat de l'API 20 E).	13/13
Figure 45.	<i>Enterobacter amnigenus</i> 1 (Résultat de l'API 20 E).	13/13
Figure 46.	<i>Aeromonas hydrophila</i> (Résultat de l'API 20 NE).	13/13
Figure 47.	<i>Psychrobacter phenylpyruvicus</i> (Résultat de l'API 20 NE).	13/13
Figure 48.	<i>Enterococcus durans</i> (Résultat de l'API 20 STREP).	13/13

TABLE DES MATIERES:

Dédicaces

Remerciements

Résumé

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction..... 1

PARTIE 1 : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 01 : Généralités sur l'hygiène..... 3

I. Historique de l'hygiène..... 3

II. Historique sur l'hygiène des mains 3

III. Méthodes d'hygiène des mains 4

1. Le lavage des mains 4

2. La friction hydro-alcoolique..... 5

3. Désinfection chirurgicale par friction..... 6

IV. Règles d'hygiène des mains pour le grand public selon l'Afssaps..... 7

V. Normes « AFNOR » et « EN »..... 8

1. Les normes NF EN..... 8

2. Les normes AFNOR..... 9

VI. Phénomènes de contaminations..... 9

Chapitre 02 : Ecologie microbienne de la peau..... 10

I. Particularités de la peau des mains..... 10

II. La flore bactérienne cutanée..... 11

1. La flore résidante..... 11

2. La flore transitoire..... 11

III. Localisation des bactéries..... 11

V. Méthodes d'étude de la flore microbienne cutanée..... 13

1. Les méthodes biopsiques..... 14

2. Les méthodes par impression 14

3. Les méthodes au ruban adhésif 14

4. Les méthodes par écouvillonnage.....	15
5. Les méthodes par lavage	15
Chapitre 03 : Les gels hydro alcooliques.....	16
I. Produits hydro-alcooliques PHA.....	16
1. Définition.....	16
2. Les formes des PHA.....	16
3. Composition des produits hydro-alcooliques.....	16
4. Formulations préconisées par l’OMS.....	17
5. Protocole de fabrication.....	17
II. Gels.....	18
1. Définition.....	18
2. Gélification.....	19
III. Gels hydro alcooliques.....	19
1. Définition.....	19
2. Composition générale.....	20
3. Efficacité.....	21
4. Utilisation.....	21
5. Avantages.....	21
6. Inconvénients.....	21
7. Critères de choix d’un bon gel hydro alcoolique.....	22
8. Risques liés à l’utilisation des gels hydro alcooliques.....	22
PARTIE 2 : MATERIELS ET METHODES	23
I. Objectifs.....	24
II. Zone et période d’étude.....	24
III. Protocole expérimentale.....	24
IV. Prélèvements.....	24
* Méthode de prélèvement.....	25
* Conditions de prélèvement.....	25
* Matériel nécessaire pour le prélèvement.....	26
V. Étude bactériologique.....	26
1. Isolement.....	27
2. Milieux de cultures.....	27
3. Identification morphologique.....	27
4. Identification biochimique et enzymatiques	28
5. Triple Sugar Iron Agar	31

6. Etude de la sensibilité et la résistance bactérienne.....	41
--	----

PARTIE 3 :RESULTATS ET DISCUSSION

I. Identification morphologique :	44
1.Examen macroscopique :	44
2. Examen microscopique.....	48
II. Identification biochimique et enzymatique.....	50
1. Les galeries d'identification biochimique.....	50
2. Tests biochimiques complémentaires.....	52
3. Triple Sugar Iron Agar.....	54
4. Etude de la sensibilité et la résistance bactérienne.....	56
III. Etude de l'efficacité des gels hydro alcooliques utilisés dans notre étude.....	59
Conclusion.....	62
Référence Bibliographique.....	63
Annexe.....	1/14

Avant la fin du XVII^{ème} siècle, l'homme ignorait que ses mains pouvaient être responsables de la transmission de maladies. Pasteur (1822-1895) pose les bases de l'hygiène moderne, le meilleur moyen de lutter contre les maladies infectieuses est de respecter les règles d'asepsie, c'est-à-dire de prévenir la transmission des microbes, cela passe évidemment par une hygiène rigoureuse des mains. Par la suite, les progrès durant le XX^{ème} siècle sont devenus nombreux : étude de la flore cutanée des mains, découverte de nouveaux antiseptiques (chlorhexidine, povidone iodée), intérêt indiscutable du lavage des mains... Les produits hydro alcooliques n'apparaissent que dans les années 90, où ils commencent à être utilisés seulement chez les travailleurs du domaine médicaux et paramédical (**DCCP, 2002**).

L'usage des gels hydro-alcooliques, alternative au lavage des mains à l'eau et au savon, est l'une des recommandations que le ministère de la santé a sollicité comme gestes-barrières à la pandémie Covid 19. L'hygiène des mains est primordiale pour limiter la propagation de certaines formes de virus et microorganismes et doit donc être encouragée (**Manus, 2010**). Le lavage ou la désinfection des mains est alors nécessaire plusieurs fois par jour: après s'être mouché, avoir éternué ou toussé, après un passage par un environnement collectif, après avoir été en contact avec des surfaces ou des objets potentiellement contaminés [**1**].

La commercialisation des gels hydro-alcooliques s'est développée à la faveur de l'épidémie de Covid 19. Vendu le plus souvent en pharmacie et parapharmacie, ce produit est disponible dans une large gamme de commerces, traduisant à la fois une augmentation de la demande et une diversification de l'offre (**Manus, 2010**).

Notre travail, constitue une contribution à l'étude bactériologique des gels hydro alcooliques utilisés pendant la pandémie de Covid 19 en Algérie. Sont-ils efficaces en matière de désinfection ? L'objectif de ce mémoire est donc le contrôle bactériologique de la flore de la peau des mains, avant et après un traitement avec trois gels hydro-alcoolique antibactériens les plus utilisés en Algérie pendant l'épidémie corona virus en Algérie et l'évaluation de leur efficacité.

Le travail est structuré en trois parties.

- La première partie est une synthèse bibliographique subdivisée en trois chapitres. Dans le chapitre 1 des généralités sur l'hygiène sont abordés. Le chapitre 2 traite l'écologie microbienne de la peau et le chapitre 3 résume tout ce qui est gels hydro alcooliques.
- La seconde partie rassemble le matériel utilisé ainsi que la méthodologie adoptée.
- Enfin les résultats et discussions sont présentés dans la troisième et dernière partie.

Le mémoire est achevé par une conclusion qui résume les principaux résultats obtenus et des perspectives.

CHAPITRE 01 : Généralités sur l'hygiène

I. Historique de l'hygiène :

L'hygiène : ensemble des mesures préventives de préservation de la santé, est devenue une composante essentielle de notre vie.

Aujourd'hui, se laver les mains, faire vacciner ses enfants, ou boire de l'eau saine nous semble évident. Mais cela n'a pas toujours été de soi : la notion d'hygiène étroitement liée aux croyances populaires, aux coutumes, mais aussi à l'état des connaissances scientifiques et médicales a évolué.

Ainsi, l'hygiène peut se raconter en deux grandes périodes fondamentales séparées par la révolution biologique qu'a été la découverte des microorganismes et celle de leur rôle dans les maladies.

C'est à partir du moment où l'origine et la transmission des infections ont été découvertes que les principes d'hygiène avec les techniques d'asepsie et de stérilisation ont pu être appliqués.

Cette découverte propulse l'hygiène au rang d'une discipline scientifique s'appuyant sur des observations irréfutables (**Sournia, 1992**).

II. Historique sur l'hygiène des mains :

Avant la fin du XVIII^{ème} siècle, l'homme ignorait que ses mains pouvaient être responsables de la transmission de maladies. Vers 1820, le pharmacien Antoine-Germain Labarraque (1777-1850) mit au point et étudia le chlorure de chaux, un mélange d'hypochlorite de calcium et de chlorure de calcium qu'il utilisait contre l'odeur des cadavres et comme désinfectant.

C'est Ignace Philippe Semmelweis (1818-1865) qui réalisa en 1846 le premier travail scientifique à la maternité de l'hôpital de Vienne. Il émit l'hypothèse que la fièvre puerpérale serait transmise par les mains des étudiants qui apporteraient des « particules cadavériques » depuis la salle d'autopsie.

L'antisepsie est une notion mise en avant par le chirurgien britannique Joseph Lister et introduite en France à partir de 1869 par le docteur Just Lucas-Championnière. Elle vise à

éliminer temporairement les micro-organismes au niveau de la peau grâce à l'application d'un produit antiseptique.

Puis Pasteur (1822-1895) pose les bases de l'hygiène moderne. Selon lui, le meilleur moyen de lutter contre les maladies infectieuses est de respecter les règles d'asepsie, c'est-à-dire de prévenir la transmission des microbes. Cela passe évidemment par une hygiène des mains rigoureuse.

Les progrès durant le XX^{ème} siècle sont nombreux : étude de la flore cutanée des mains, découverte de nouveaux antiseptiques (chlorhexidine en 1950, povidone iodée en 1956), intérêt indiscutable du lavage des mains... Les produits hydro alcooliques (PHA) n'apparaissent en France que dans les années 90, où ils commencent à être utilisés dans le milieu hospitalier.

Le 5 décembre 2001, " l'avis du comité technique national des infections nosocomiales sur la place de la friction hydro-alcoolique dans l'hygiène des mains lors des soins " préconise la friction avec un produit hydro-alcoolique en remplacement du lavage des mains. En 2002, la technique de friction au PHA est mise en avant par la Société française d'hygiène hospitalière (SFHH) et par les « guidelines » des Centers Pour Disease Control and Prevention (DCCP, 2002).

III. Méthodes d'hygiène des mains :

L'hygiène des mains est réalisée principalement par le lavage au savon et à l'eau ou par friction hydro-alcoolique des mains. Les produits utilisés, leur qualité et les techniques d'hygiène des mains influencent le résultat obtenu. Les mains restent contaminées en l'absence d'hygiène des mains (SFHH).

1. Le lavage des mains :

Le lavage des mains au savon et à l'eau est indiqué lorsque les mains sont visiblement sales (OMS, 2009).



Figure 1. Technique de lavage des mains à l'eau et au savon (OMS, 2010).

2. La friction hydro-alcoolique :

La méthode la plus efficace pour une hygiène des mains optimale est la friction des mains avec un produit hydro alcoolique. Celle-ci doit être réalisée quand les mains sont visiblement non souillées. Cette méthode est aussi appelée antiseptie des mains ou désinfection des mains par friction. C'est une désinfection réalisée avec un produit spécifique PHA. Elle est plus rapide, plus efficace et mieux tolérée que le lavage au savon et à l'eau selon des études (OMS, 2009).



Figure 2. Technique de friction des mains avec le gel hydro-alcoolique (OMS, 2010).

3. Désinfection chirurgicale par friction :

La préparation des mains à la chirurgie est une combinaison des deux techniques précédentes. Cette technique peut s'effectuer par lavage au savon antimicrobien et à l'eau ou par friction hydro-alcoolique. Dans ce dernier cas (figure 3), un lavage simple des mains au savon ordinaire précède la préparation des mains à la chirurgie par friction hydro-alcoolique (OMS, 2010).

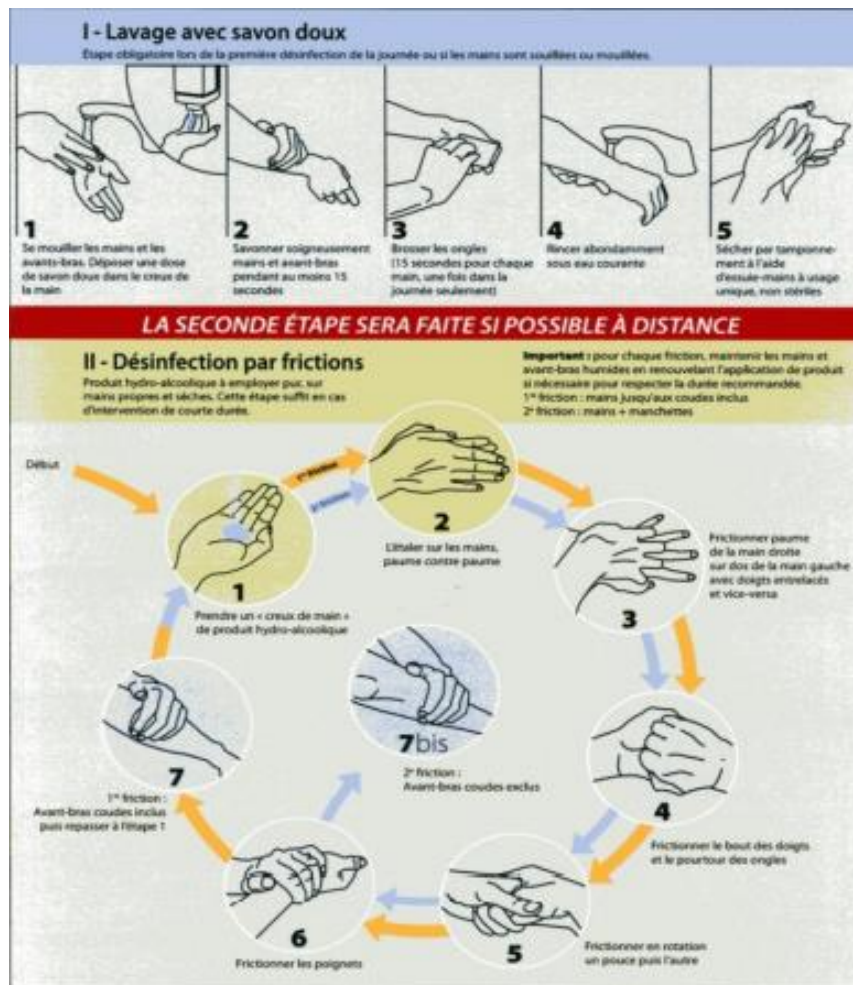


Figure 3. Technique de désinfection chirurgicale par frictions (SFHH).

IV. Règles d'hygiène des mains pour le grand public selon l'AFSSAPS :

Le 28 septembre 2009, l'AFSSAPS a émis dans un avis relatif à l'utilisation par le grand public de désinfectants pour les mains à peau saine (AFSSAPS, 2009).

- **Lorsqu'un point d'eau est disponible :** il faut se laver les mains avec du savon en frottant pendant au moins 30 secondes, car l'action mécanique est un élément essentiel à l'efficacité du lavage. Il faut ensuite bien se rincer et se sécher les mains, car l'humidité résiduelle semble favoriser la transmission de micro-organismes (Garnier, 2010).
- **En l'absence de point d'eau et lorsque les mains sont visiblement propres :** il est recommandé d'utiliser un PHA en respectant le temps de friction indiqué sur l'emballage et jusqu'à l'obtention de mains sèches. L'AFSSAPS recommande de privilégier les formes solution et gel, car elle évoque un manque de données d'efficacité pour les formes lingettes et mousses (Garnier, 2010).

Tableau 1. Lavage hygiénique des mains (MES, 1998).

Dénomination européenne et française	Dénomination courante	Matériel/Produit	Technique
Lavage hygiénique des mains	Lavage antiseptique Lavage hygiénique	Savon désinfectant Eau du réseau Essuie-mains à usage unique	-Mouiller les mains -Savonner les mains 30 à 60 s -Sécher
Traitement hygiénique des mains par frictions	Frictions hygiéniques des mains Antiseptie des mains	Produits désinfectant pour frictions	-Frictionner jusqu'au séchage complet des mains -Temps 30 au 60 s en fonction des indications du fabricant

V. Normes « AFNOR » et « EN » :

1. Les normes NF EN :

Tableau 2. Les normes d'application obtenues *in vivo* (Garnier, 2010).

Norme NF EN 1500 : Traitement hygiénique des mains par friction	
Germes	Escherichia coli K12 Flore transitoire
Protocole	Comparaison avec une friction de référence. (2x3 ml d'une solution à 60% de 2-propanol pendant 30 secondes).
Résultat	La réduction doit être inférieure ou égale à la friction de référence.

2. Les normes AFNOR :

Tableau 3. Les normes AFNOR encore en usage (Darbord, 2003).

Référence		Domaine d'application	
NF T 72170/171	Bactéricidie	avec	substances interférences
NF T 72180	Virucidie		
NF T 72230/231	Sporicidie		

VI. Phénomènes de contaminations :

L'homme vit au contact d'un très grand nombre de micro-organismes (bactéries, virus, parasites...), présents dans son environnement : (eau, air, sol, alimentation et surfaces des objets...).

Avec nos mains, nous sommes sans cesse en contact avec des micro-organismes de notre environnement et en relation avec les autres : (personnes, animaux, objets...), c'est pour ça nous sommes susceptibles d'être contaminés par plusieurs agents pathogènes issus de notre environnement.

Il est classique de dire que l'homme lui-même est un porteur d'une très grande quantité de micro-organismes, essentiellement des bactéries. Le nombre total de bactéries présentes sur la peau, les muqueuses, les téguments et le tube digestif a été évalué à dix mille milliards [2].

CHAPITRE 02 : Ecologie microbienne de la peau.

De nombreuses bactéries sont normalement présentes sur la peau et les muqueuses des sujets sains. Elles constituent les flores commensales et résidentes. Celles-ci participent activement au maintien de la santé, en prévenant par son équilibre la prolifération de bactéries commensales potentiellement dangereuses et en empêchant la colonisation par des bactéries pathogènes. La flore cutanée est constituée, outre la flore résidente, d'une flore transitoire, de contamination récente (Abbara, 2004). Elle est variable en qualité et en quantité (102 à 106/cm²) selon la topographie. Les mains portent souvent une flore transitoire abondante d'où leur rôle dans la transmission croisée (Masson, 2009).

I. Particularités de la peau des mains :

La peau des mains est adaptée à l'usage d'outil que l'homme a fait. Les paumes ont une couche cornée renforcée et riche en lipides épidermiques. Elle repose sur un hypoderme épais afin de protéger contre les coups et la pression. Les glandes sudoripares y sont plus denses que sur le reste du corps. Mais la peau glabre des paumes souffre d'un manque de sébum, car sa production a normalement lieu dans les follicules pilo-sébacés.

La peau du dos des mains est particulièrement fine. De plus, la densité des glandes sébacées est bien inférieure à celle des autres parties du corps car elle n'est recouverte que de quelques poils fins. L'absence de glandes sébacées engendre une réduction du film hydrolipidique. Les mains sont donc moins bien protégées et plus sensibles à la déshydratation par augmentation de la perte insensible en eau.

La peau a un rôle de protection, la couche cornée protège des agressions, qui peuvent être de nature multiple comme les agressions mécaniques, et microbiologiques (Garnier, 2010).

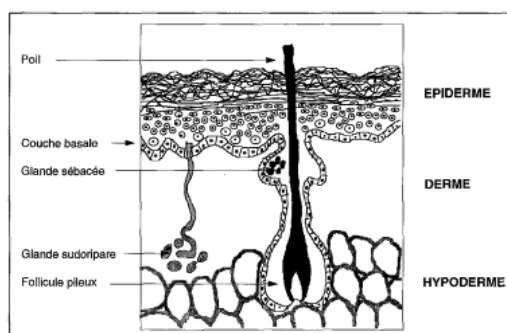


Figure 4. Anatomie de la peau (Teyssou, 1997).

II. La flore bactérienne cutanée :

C'est au XVII^{ème} siècle, avec la découverte du microscope, que l'existence des bactéries fut mise à jour : ce sont de minuscules organismes ou micro-organismes non visibles à l'œil nu et présents partout, y compris sur la peau de l'homme (**Travkine, 2012**).

La flore cutanée varie quantitativement et qualitativement d'un site à un autre et d'un individu à un autre en fonction de l'humidité, du pH, de la température, des lipides et autres nutriments présents sur la surface cutanée et de l'exposition aux ultraviolets (**LMp, 2010**).

Les germes présents sur la peau sont classés en deux groupes : la flore résidante et la flore transitoire.

1. La flore résidante :

Elle est constituée de micro-organismes ancrés de façon permanente au niveau des couches superficielles de la peau. Cette flore bactérienne varie qualitativement et quantitativement d'un site à un autre chez un même individu ainsi que d'un individu à un autre. Elle se renouvelle régulièrement et elle est rarement à l'origine d'infections. Elle est composée de bactéries aérobies et anaérobies. (**Zouaoui et al, 2016**).

Cette flore est difficile à éliminer, se reconstitue rapidement (4 à 6 heures), à partir de la flore de voisinage et des bactéries survivantes. Elle est seulement réduite malgré l'action mécanique du lavage et l'action bactéricide des antiseptiques (**Haxhe et Zumofen, 2000 ; Abbara, 2004**).

La flore résidente comprend des bactéries :

- aérobies : surtout germes Gram +, staphylocoques à coagulase négative comme *Staphylococcus epidermidis*, *corynébactéries*, *microcoques*.
- anaérobies : essentiellement *Propionibacterium acnes* (**Haxhe et Zumofen, 2000 ; Abbara, 2004**).

2. La flore transitoire (ou commensale) :

Elle est composée le plus souvent de bactéries saprophytes, issues de l'environnement (eau, plantes...) et parfois de bactéries pathogènes provenant de la flore commensale des patients soignés. Sa composition varie au cours de la journée en fonction des activités et des contacts auxquels la peau a été soumise. Cette flore est la principale cause d'infections

croisées. Elle est constituée par des bactéries à Gram négatif et des bactéries à Gram positif (Zouaoui *et al*, 2016).

Cette flore est totalement éliminée par un lavage simple ou hygiénique des mains avec un savon antiseptique (Abbara, 2004 ; Grosset, 2004).

La flore transitoire se compose essentiellement de :

- *Entérobactéries*
- *Pseudomonas spp* provenant de l'environnement
- *Klebsielles*
- *Streptocoques* du groupe A
- *Enterococcus spp*
- *Staphylococcus aureus*
- *Candida albicans*, chez les sujets immunodéprimés ou diabétiques
- Spores de *Bacillus spp* et *Clostridium spp*, provenant de l'environnement (Abbara, 2004 ; Grosset, 2004).

Tableau 4. Tableau comparatif de la flore résidente et transitoire cutanée (LMP, 2010).

	Flore résidente	Flore transitoire
Origine	- Non pathogène sur peau saine. - Source d'infection en cas de lésion cutanée, intervention chirurgicale, manœuvre instrumentale ou localisation oculaire.	- Comporte des espèces à un Moment donné provenant de L'environnement extérieur, de Contacts humains ou du tube Digestif
Espèces dominantes	- <i>Staphylococcus epidermidis, hominis</i> - <i>Staphylocoques</i> coagulase négative - <i>Corynébactéries</i> , - <i>Propioni bacterium</i> - <i>Micrococcus et Streptococcus</i> - <i>Pseudomonas</i> - Champignons (<i>Pityriosporum</i> ++)	- <i>Staphylococcus aureus</i> , - <i>Streptocoques bêta Hémolytiques</i> - <i>Entérobactéries</i> - <i>Pseudomonas</i> - <i>Clostridium difficile</i> - <i>Bacillus ssp</i> - <i>Candida albicans</i>
Zones les plus riches	Cuir chevelu, aisselles, aine, espace interdigital plantaire et les mains	

III. Localisation des bactéries :

On trouve la présence de microorganismes essentiellement au niveau de l'épiderme et notamment du *stratum corneum* qui sont majoritairement des bactéries aérobies, et des annexes qui sont plutôt des bactéries anaérobies (Fournier, 2013). Néanmoins des études récentes ont montré que certaines espèces bactériennes peuvent également résider plus profondément au niveau du derme (Nakatsuji *et al*, 2013).

La répartition des bactéries varie selon leur localisation dans des sites qui diffèrent par leurs aspects physiologiques (Figure 5).

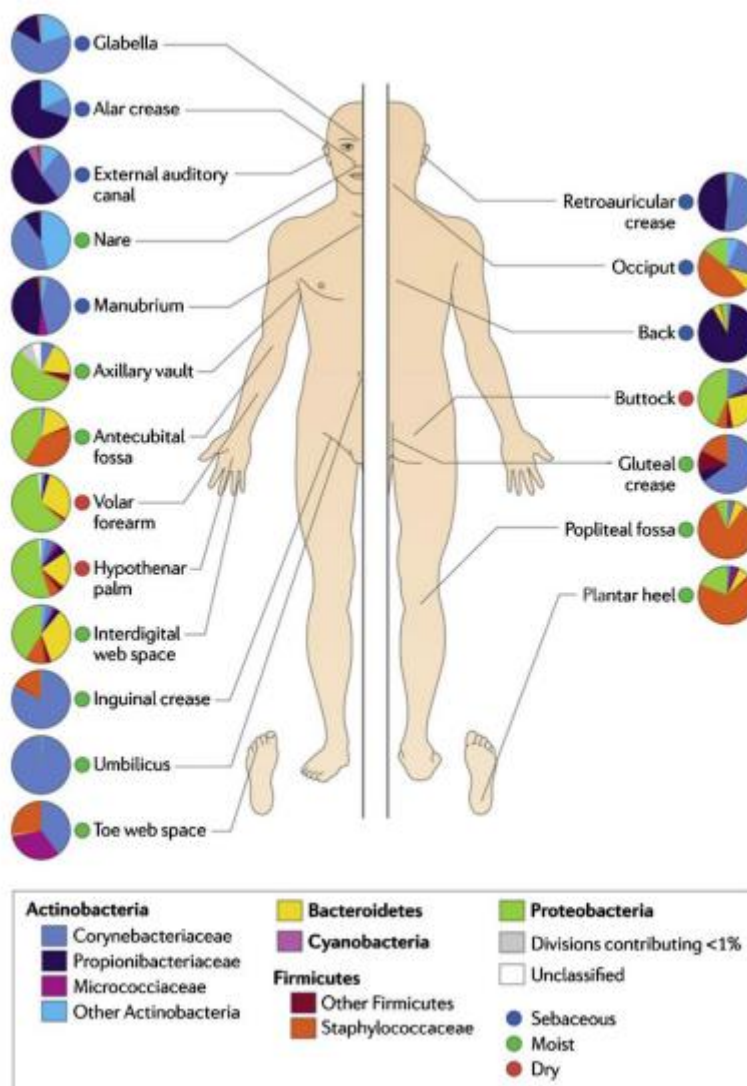


Figure 5. Composition de la flore cutanée selon les différents sites anatomiques (Grice et Segre, 2011).

La flore cutanée de la main est dynamique car elle est plus influencée par les facteurs temporels. La main est un vecteur de transmission de microorganismes entre notre corps et l'environnement.

La diversité y est plus importante que sur le reste du corps, on y trouve entre 8 et 24 familles de bactéries et plus de 150 espèces sur la paume. Les mains peuvent également être porteuses de germes pathogènes comme les SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la pénicilline) (Edmonds *et al*, 2015).

V. Méthodes d'étude de la flore microbienne cutanée :

Les bactéries colonisent l'épiderme en surface et en profondeur. En conséquence, selon les indications cliniques du prélèvement, les techniques utilisées seront différentes. Cinq méthodes d'étude de la flore cutanée peuvent être employées (Fleurette, 1995).

1. Les méthodes biopsiques :

On effectue un prélèvement stérile d'un fragment de peau de 10 mm sur 3 mm puis il est broyé et ensemencé sur les milieux de culture adéquats en aérobiose et en anaérobiose. Cette technique permet d'identifier et de dénombrer les bactéries, y compris celles qui colonisent les follicules pileux. Elle doit être considérée comme la méthode de référence pour l'étude de la flore cutanée. L'interprétation du résultat est fonction du nombre d'unités formant colonies (UFC)/g de tissu (Teyssou, 1997).

2. Les méthodes par impression :

On distingue les méthodes directes qui consistent à appliquer sur la peau un milieu de culture gélose (par exemple, empreintes digitales sur gélose), et les méthodes indirectes nécessitant le recueil de la flore superficielle au moyen d'un tampon qui est appliqué ensuite sur un milieu gélose. Les méthodes directes permettent également une quantification en nombre d'UFC/cm de peau, par l'utilisation de géloses de type count-tact. Ce sont des méthodes d'utilisation facile, mais dont l'intérêt est limité car elles ne recueillent que les micro-organismes se développant à la surface de la peau (Teyssou, 1997).

3. Les méthodes au ruban adhésif :

Cette méthode utilise un ruban adhésif qui permet de détacher les différentes couches de l'épiderme. Plusieurs arrachements sont ainsi pratiqués au même endroit afin d'obtenir plusieurs couches épidermiques. Les rubans sont ensuite placés dans une boîte de Pétri, et une

gélose est coulée par-dessus. Cette technique lourde et douloureuse pour le patient permet néanmoins d'évaluer la colonisation bactérienne des différentes couches de l'épiderme (Teyssou, 1997).

4. Les méthodes par écouvillonnage :

L'utilisation d'un écouvillon d'alginate de calcium est certainement la technique la plus utilisée à l'hôpital. Elle possède effectivement l'avantage de la simplicité. Néanmoins, cette méthode, qui permet un recueil de la flore superficielle, ne donne que des résultats qualitatifs ou semi-quantitatifs et nécessite un transport rapide, un ensemencement immédiat et une procédure de contrôle de qualité des résultats (Teyssou, 1997).

5. Les méthodes par lavage :

Ces techniques consistent à recueillir les bactéries cutanées dans un liquide de lavage, contenant un détergent non bactéricide qui permet une dissociation des squames cutanées et des colonies bactériennes. Ces méthodes sont considérées comme les plus performantes et les plus reproductibles (Teyssou, 1997).

La technique des "sacs" est une méthode de lavage particulière, appliquée aux prélèvements de la flore microbienne des mains. Celles-ci sont introduites dans des sacs en plastique stériles contenant 150 ml d'un liquide de recueil. (Teyssou, 1997).

Elles permettent de recueillir la flore superficielle et profonde. Elles sont particulièrement indiquées dans l'évaluation de l'activité des antiseptiques. L'association avec une méthode de recueil de la flore superficielle (méthode par impression ou écouvillonnage) permet une étude comparative des deux populations (Teyssou, 1997).

CHAPITRE 03 : Les gels hydro alcooliques.

I. Produits hydro-alcooliques PHA :

1. Définition :

Ce sont des préparations alcooliques contenant habituellement 60 à 95% d'éthanol ou d'isopropanol et conçues pour être appliquées sur les mains en vue d'y réduire le nombre de micro-organismes viables (**Boyce et Pittet, 2002**). Ce sont des produits à séchage rapide conçue spécifiquement pour la désinfection des mains. Ils contiennent un émollient et parfois un antiseptique. Ils s'appliquent par friction sans rinçage des mains sèches et d'apparence propre. Les PHA sont des désinfectants pour les mains et entrent dans la catégorie des produits biocides de type 1, c'est-à-dire celle des produits biocides destinés à l'hygiène humaine (**OMS, 2009 ; Yves et Lowe, 2010**) [3].

2. Les formes des PHA:

Ils se présentent sous plusieurs formes :

- **Les solutions hydro-alcooliques ou SHA** : Ce sont des solutions, non nettoyantes permettant une antisepsie sans apport d'eau exogène et sans rinçage ni séchage (**Lejeune, 2008 ; WHO, 2009**).
- **Les gels hydro-alcooliques** : sont des préparations semi-solides ayant les mêmes propriétés que celles des SHA.
- **Les mousses.**
- **Les lingettes** (**Travkine, 2012**).

3. Composition des produits hydro-alcooliques :

Les PHA sont composés d'une certaine concentration d'alcool associée à des agents hydratants. Un antiseptique peut compléter la formule afin d'élargir le spectre d'activité du produit.

La liste des désinfectants appropriés, mise à jour par la SFHH chaque année, nous indique les substances actives que l'on retrouve dans les PHA :

- Alcools : éthanol, 1-propanol, 2-propanol, phénoxyéthanol, méthylpropanol.

- Antiseptiques : gluconate et digluconate de chlorhexidine, chlorure de benzalkonium, polyvidone, triclosan, huiles essentielles...

Des substances hydratantes complètent la formule, mais elles ne font pas partie des substances actives. On cite par exemple la glycérine, l'extrait d'aloë vera, le panthénol (ou provitamine B5), le bisabolol... (Garnier, 2010).

4. Formulations préconisées par l'OMS :

L'OMS a réalisé un guide qui donne les clés pour la fabrication d'un PHA de base. Son efficacité est garantie par le respect de la norme EN 1500, et la tolérance cutanée est bonne grâce à la présence de glycérine. Les formules sont simples, car elles doivent être reproduites dans le monde entier à moindre frais (Madi, 2018).

Tableau 5. Constituants des Formulations OMS de PHA (OMS).

Pour produire 1 litre d'un PHA dont les concentrations finales (en v/v) sont 80% d'éthanol, 1,45% de glycérine et 0,125% de peroxyde d'hydrogène	
Ethanol 96% v/v	833,3 mL
Glycérine 98%	14,5 mL
Peroxyde d'hydrogène 3%	41,7 mL
Eau distillée	Quantité suffisante pour 1000 mL

Pour produire 1 litre d'un PHA dont les concentrations finales (en v/v) sont 75% de 2-propanol, 1,45% de glycérine et 0,125% de peroxyde d'hydrogène	
2-propanol (99,8% de pureté)	751,5 mL
Glycérine 98%	14,5 mL
Peroxyde d'hydrogène 3%	41,7 mL
Eau distillée	Quantité suffisante pour 1000 mL

5. Protocole de fabrication :

- Mettre le volume d'alcool désiré, puis l'eau oxygénée et la glycérine. Compléter avec de l'eau distillée (ou bouillie puis refroidie) jusqu'au volume final désiré, qui ne doit pas excéder 50 litres sans la présence de locaux adaptés et ventilés.
- Le mélange doit se faire délicatement, sans utiliser de mélangeurs électriques non protégés contre le risque d'explosion.

- Le volume total doit être divisé en petits conditionnements (100 ml à 500 ml) qu'il faut ensuite laisser reposer pendant 72 heures, le temps que les spores présentes à l'intérieur de la solution soient éliminées par le peroxyde d'hydrogène.
- Les points éclairés de l'éthanol à 80% v/v et du 2-propanol à 75% v/v sont respectivement de 17,5°C et 19°C. Il faut donc être vigilant aux conditions de stockage, et éviter de produire une étincelle à leur niveau (OMS).

II. Gels :

1. Définition :

Le gel est un état de la matière. Il s'agit généralement d'une solution ou une suspension colloïdale qui subit une transformation physique ou chimique conduisant à un état semi-solide tout en conservant une grande partie du solvant à l'intérieur de sa structure (Springinsfeld, 2009).

Un gel macromoléculaire est une matrice polymère gonflée par une grande quantité de solvant. Les chaînes polymères sont connectées entre elles, formant un réseau qui sert à retenir le liquide et qui lui donne sa rigidité. Les gels sont doux et humides, ils ressemblent à des matériaux solides mais ils sont capables de subir de grandes déformations. Ils sont constitués d'au moins deux constituants :

- **Le gélifiant** : c'est le composé dispersé ou solubilisé formant le réseau du gel. Il présente une mobilité réduite, tout comme un solide.
- **Le solvant** : ce composé possède un comportement de type liquide (Bounouira, 2015).



Figure 6. texture du gel hydro alcoolique [4].

2. Gélification :

La gélification est un processus aboutissant à la formation d'un gel, lors du passage de l'état fluide ou liquide à un état presque solide appelé état gel. Elle peut être forcée par l'apport de gélifiants qui augmente la viscosité (**Bounouira, 2015**).

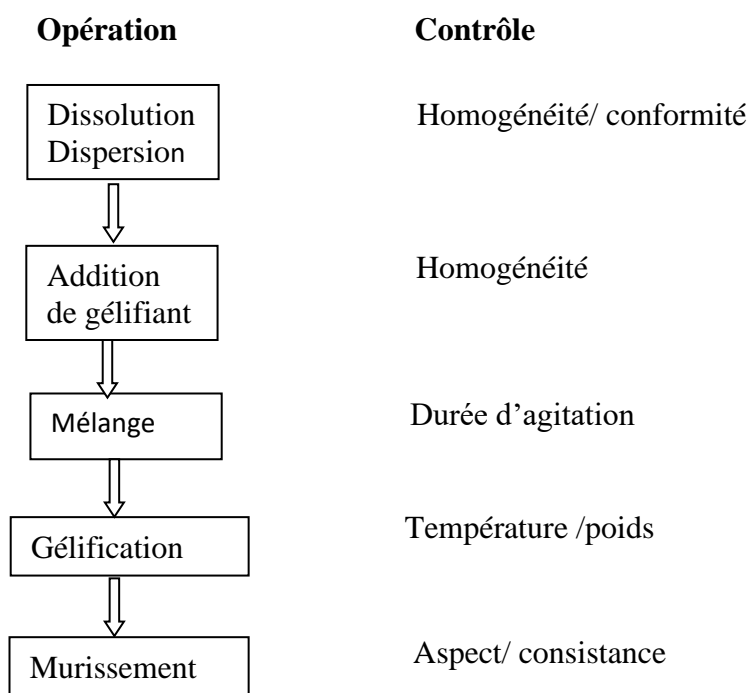


Figure 7. Procédé de fabrication d'un gel (**Madi, 2018**).

III. Gels hydro alcooliques :

1. Définition :

Le gel hydro-alcoolique est une solution permettant de se nettoyer et se désinfecter les mains sans eau ni savon. Il est apprécié notamment pour sa forme compacte dit 'de poche'. Sa composition est principalement à base d'alcool (éthanol) à 70% qui joue un rôle antiseptique. Contrairement au savon, il ne permet pas de se débarrasser d'une saleté lors de l'application cutanée. Son action est essentiellement bactéricide. Une simple friction des mains, avec un gel pendant 30 secondes permet d'éliminer 99.99% de germes présents (**Travkine, 2012 in Madi, 2018**).

2. Composition générale :

Selon la formule de de l'OMS, le gel hydro-alcoolique est composé d'un principe actif (l'alcool), l'eau, l'émollient et un gélifiant (**Madi, 2018**).

- **Le principe actif (antiseptique) :**

Un antiseptique est un produit qui permet de supprimer ou d'empêcher le développement des bactéries ou des virus. Il est utilisé sur la surface du corps. Les antiseptiques peuvent être fongicides, bactéricides, virucides ou sporicides.

Les alcools sont les premiers antiseptiques utilisés en friction. Les principaux sont l'éthanol 77%, l'isopropanol 60% et le n-propanol 42%.

Parmi les inconvénients l'assèchement de la peau, ce qui rend nécessaire son association à un émollient pour assurer une bonne tolérance. Aussi, leur efficacité est diminuée, par dilution, sur les mains humides, ce qui explique pourquoi on ne doit pas les employer que sur des mains sèches. (**Garnier, 2010**).

- **Émollient :**

Un usage fréquent des gels hydro-alcooliques pour l'hygiène des mains peut causer une sécheresse de la peau. La présence d'un émollient est indispensable pour garantir un bon état cutané, moins d'irritation ou de sécheresse de la peau par rapport aux détergents antimicrobiens et favoriser ainsi l'observance de la méthode de friction hydro-alcoolique des mains. Les principaux émollients utilisés sont la glycérine, l'alcool myristique, la triéthanolamine, l'hydroxy urée, la diméthicone (huile de silicone) (**Samake, 2011**).

- **Agent Gélifiant :**

Ce sont des macromolécules hydrophiles d'origine naturelles (d'origine minérale, végétale) synthétique (styrène, acrylates copolymère, acrylate crosspolymer, Carbomères) ou semi-synthétique capable de former des gels emprisonnant une grande quantité de solvant. En faible quantité ils sont épaississants. De façon générale ils apportent de la consistance aux produits cosmétique en améliorant leur stabilité (**Springinsfeld, 2009**).

- **Additifs :**

Des additifs tel que des vitamines, colorants, parfums, aeo vera sont ajoutés pour l'enrichissement des gels (**Madi, 2018**).

3. Efficacité :

L'efficacité dépend de plusieurs facteurs comme :

- Le type d'alcool.
- La concentration en alcool.
- Le temps de contact, varient selon les différentes formulations.
- Le volume de gel hydro alcoolique utilisé.
- L'état des mains lorsque le gel hydro alcoolique est appliqué.
- La méthode de friction (**Travkine, 2012**).

4. Utilisation :

L'utilisation d'un gel hydro-alcoolique est préconisée :

- **En médecine :**

- Recommandé par l'OMS dans le cadre du plan de lutte contre les infections nosocomiales.
- Recommandée dans la pratique des soins de santé.
- Remplacement ou en complément du lavage chirurgical se généralise dans les blocs opératoires.
- Afin de prévenir la transmission d'herpès, de gastro-entérite, de grippe (**Travkine, 2012**).

- **En santé public :**

- Partout où le nettoyage des mains à l'eau et au savon est impossible.
- Passage aux toilettes publiques.
- Utilisation des transports en commun.
- Contact avec une surface à risque élevé de contamination ou contaminée.
- Mouchage et éternuement.
- Dans l'école et les maisons de retraite (**Travkine, 2012**).

5. Avantage :

Les gels hydro-alcooliques présentent de nombreux avantages, on peut citer :

- Ils sont simples à utiliser et sont prêts à l'emploi, ce qui favorise une bonne observance en général.

- Ils sèchent rapidement 30 secondes.
- Ils permettent un gain de temps (déplacement et enchaînement de soins...) et une certaine économie car leur utilisation ne nécessite ni eau, ni savon, ni papier.
- Leur accessibilité est immédiate (chambre du patient, chariots de soins, poches).
- Ils peuvent être utilisés par tous.
- Leur efficacité est supérieure à celle du lavage des mains au savon.
- Ils possèdent une bonne tolérance cutanée (**Samake, 2012**).

6. Inconvénients :

Ils présentent également quelques inconvénients que l'on ne peut négliger :

- Ils ne possèdent aucune activité contre les spores et les parasites,
- Ce sont des produits inflammables qui nécessitent certaines précautions d'utilisation et de stockage.
- Ils doivent également être conservés à l'abri de la chaleur et du rayonnement solaire direct.
- Ils sont inutilisables sur des mains souillées, mouillées ou lésées ou lors du port de gants poudrés (inhibition de l'action antiseptique de l'alcool).
- Réactions allergiques.
- Dessèchement et irritation de la peau (**Garnier, 2010**).

7. Critères de choix d'un bon gel hydro alcoolique :

Il existe plusieurs points primordiaux à prendre en compte lors du choix d'un gel hydro alcoolique. Nous pouvons en citer quelques-uns :

- Il doit permettre un effet létal pour les micro-organismes en un temps très bref.
- Il doit posséder un large spectre antibactérien, être actif sur les virus, les champignons et les spores de la peau et des muqueuses,
- Il faut préférer un effet bactéricide rapide et prolongé (rémanence) plutôt que bactériostatique.
- Le produit doit être stable, soluble dans l'eau et avoir un conditionnement adapté à la pratique.
- L'évaporation du produit doit être totale (mains non collantes et non glissantes après friction).
- le séchage doit être rapide.

- Une bonne tolérance cutanée est un critère qu'il ne faut pas négliger.
- Le coût de l'antiseptique est à intégrer au choix (CCLIN, 2000 ; LMp, 2010).

8. Risques liés à l'utilisation des gels hydro alcooliques :

- Dangers liés aux alcools.
- Exposition à l'éthanol lors d'un usage intensif.
- Risque d'ingestion.
- Risques d'intoxication chez l'enfant (Garnier, 2010).

I. Objectifs :

Notre étude a porté sur :

- L'évaluation de l'efficacité des gels hydro alcooliques (G1, G2, G3) sur les germes de la flore cutanée.
- Déterminer l'impact de l'usage d'un gel hydro-alcoolique sur la prévalence de Covid-19.
- L'identification de flore cutanée des mains avant et après l'utilisation des gels hydro-alcooliques fréquemment utilisés par les citoyens pendant la pandémie Covid-19 en Algérie.

II. Zone et période d'étude :

Il s'agit d'une étude bactériologique au niveau du Laboratoire de Microbiologie de l'Université 8 Mai 1945 de Guelma durant la période allant du 01 avril au 28 avril 2021 et poursuivie le 28 avril jusqu'au 29 avril 2021 au sein de Laboratoire Centrale à l'hôpital Hakim Okbi ainsi que du 02 mai au 03 mai au Laboratoire de Bactériologie à l'hôpital Ibn Zohr.

III. Protocole expérimentale :

Le protocole suivi au Laboratoire de Microbiologie de l'Université 8 Mai 1945 de Guelma est représenté dans le schéma ci-dessous :

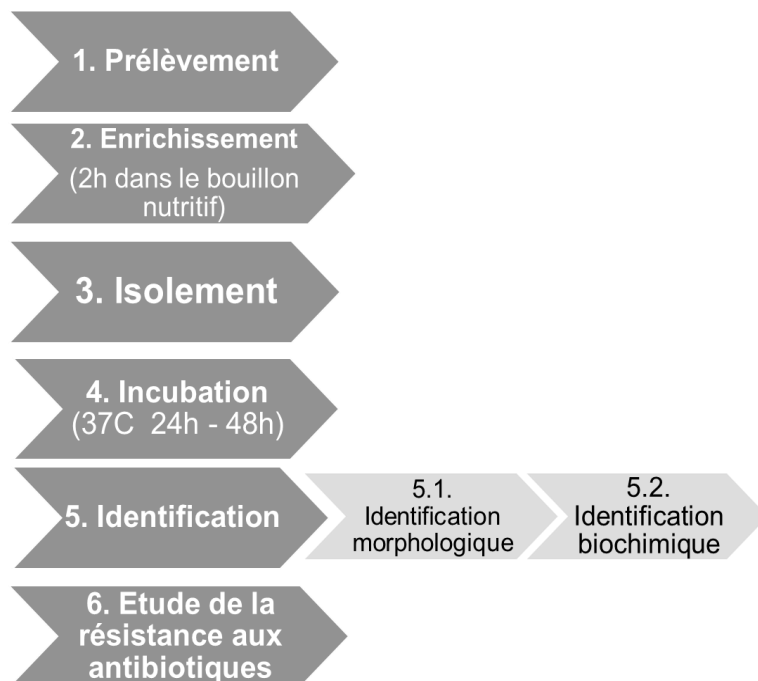


Figure 8. Protocole expérimental pour étudier l'efficacité des gels hydro alcooliques.

IV. Prélèvements :

L'étude est effectuée sur trois gels hydro-alcooliques (figure 9) appliqués sur trois personnes volontaires.

Nous avons réalisés 18 prélèvements, dont 9 ont été effectués avant l'utilisation des trois marques des gels hydro alcooliques et 9 après 2 heures de l'application de ces gels durant trois jours successifs.

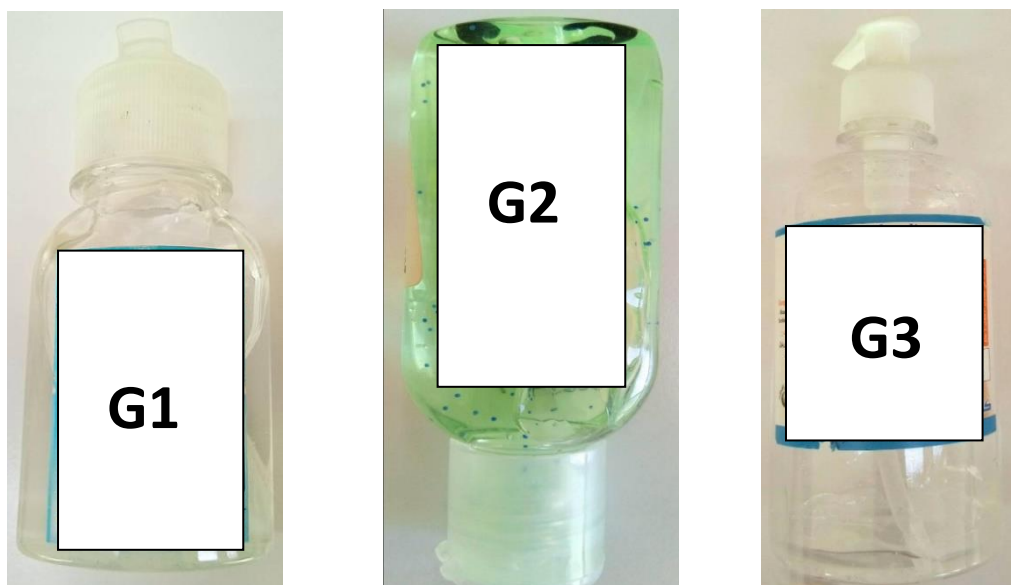


Figure 9. Les gels hydro alcooliques utilisé dans notre étude (G1, G2, G3) (Photos personnelles).

Les gels et les personnes volontaires sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 6. Les personnes volontaires et les gels hydro alcoolique utilisées dans notre étude.

Personnes	Abréviation	Gel hydro alcooliques
Un chauffeur de taxi	P1	G1
Une fonctionnaire dans une administration de notre université	P2	G2
Une technicienne de laboratoire de notre université	P3	G3

- **Méthode de prélèvement :**

Les prélèvements sont réalisés par nous-même, à l'aide d'un écouvillon stérile en effectuant des mouvements rotatoire et droit afin de ramener la plus grande quantité possible

de bactéries avant et après 2 heures de mettre le gel hydro alcoolique. Puis nous ensemençons dans le bouillon nutritif.

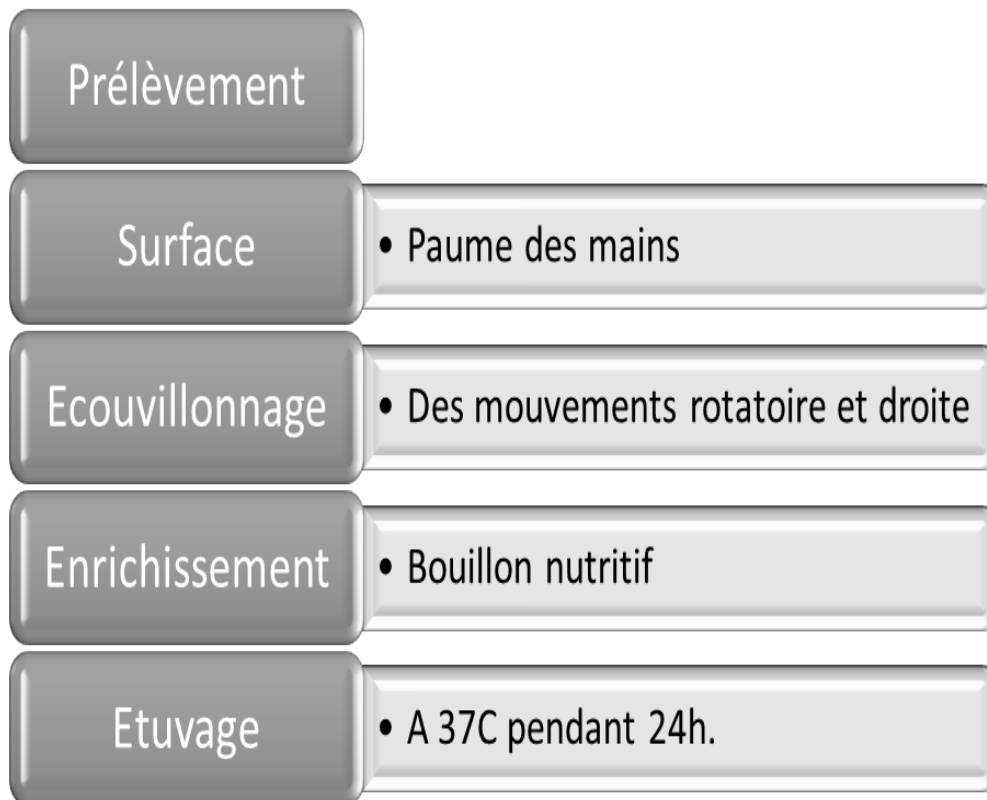


Figure 10. Mode de prélèvements.

- **Conditions de prélèvement :**
 - Evitez de se laver les mains et utiliser le gel hydro alcoolique avant de sortir de la maison.
 - Ces personnes ne doivent plus se laver ou utiliser une deuxième fois les gels pendant les 2 heures.
 - Effectuer les prélèvements au niveau du laboratoire.
- **Matériel nécessaire pour le prélèvement :**
 - Ecouvillons stériles.
 - Milieux d'enrichissement (bouillon nutritif) (Tableau 7).
 - Portoir.
 - Marqueur.
 - Tubes stériles.
 - Gels hydro alcooliques.

Tableau 7. Milieu d'enrichissement « bouillon nutritif ».

	Caractéristiques	Usage	Incubation	Lecture
Bouillon nutritif	-Recommandée dans de nombreuses méthodes standardisées d'analyses. [5] - Milieu à usage général.	micro-organismes peu exigeants. [5]	à 37°C pendant 2h à 24h	-Turbidité résultant de la multiplication microbienne. [5]

Remarque :

Malheureusement, on a envisagé de réaliser notre étude sur 3 personnes aux maximums, à cause de la pandémie du Corona virus (Covid -19). On nous a obligées de limiter notre matériel au niveau de laboratoire.

V. Étude bactériologique :**1. Isolement:**

L'isolement a été réalisé sur différents milieux de culture solide afin d'isoler le maximum des germes de la flore cutanée. Le milieu de culture dépend de germe recherché (**Cherafa et Ziadi, 2017**).

Pour chaque prélèvement, une incubation dans une étuve bactériologique à une température et pendant une durée déterminée (**Solbi, 2013**).

Après l'incubation et à partir de chaque tube on prend une goutte du bouillon nutritif et on ensemence des boîtes de Pétri contenant de la gélose. Pour cela on utilise la technique d'ensemencement par stries sur gélose coulée dans des boîtes de Pétri (**Cherafa et Ziadi, 2017**).

2. Milieux de cultures :

Les milieux de cultures utilisés en bactériologie doivent contenir les éléments nécessaires à la survie et à la multiplication des bactéries, et doivent posséder les propriétés physicochimiques convenant à cette culture. Ces milieux sont indispensables à la multiplication bactérienne, ce qui permet par la suite une identification bactérienne ainsi que l'étude de la sensibilité aux antibiotiques lorsque la bactérie est isolée en culture pure (tableau 8) (**Denis et al. 2016**).

Un milieu de culture est composé d'un mélange de substrats nutritifs, d'un système tampon pour éviter les variations importantes du pH, de sels minéraux et de vitamines. Il est possible d'ajouter d'autres facteurs de croissance (sang, protéines,...). Ils sont de nature solide, semi-solide ou liquide. [6]

Tableau 8. Principaux milieux utilisés pour l'isolement bactérien.

Milieux	Méthodes d'ensemencements	Bactéries recherchés	Incubation
Gélose Nutritive	Par stries	Divers types de bactéries (microorganisme peu exigeants) [7]	à 37°C pendant 24h-48h.
Gélose Hektoen	Par stries	Entérobactéries	à 37°C pendant 24h-48h.
Gélose SS	Par stries	<i>Salmonella et Shigella</i>	à 37°C pendant 24h-48h.
Gélose Mac Conkey	Par stries	<i>E.coli</i>	à 37°C pendant 24h-48h.
Gélose Columbia au sang frais	Par stries	Streptocoques	à 37°C pendant 24h-48h.
Gélose Chapman	Par stries	Staphylocoques	à 37°C pendant 24h-48h.
Gélose King A	Par stries	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	à 42°C pendant 24h-48h.
Gélose King B	Par stries	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	à 42°C pendant 24h-48h.

3. Identification morphologique :

a. Identification macroscopique :

L'identification des germes est basée sur l'observation de l'aspect macroscopique des colonies obtenues à partir des différents milieux d'isolement (Singleton, 2008). Après incubation, le premier critère d'identification sur lequel on se base est celui de l'aspect

macroscopique qui nécessite l'observation à l'œil nu, en lumière naturelle et artificielle, par éclairage direct et par transparence des colonies. (Grosjean, 1999 ; Mami, 2013). Il permet d'apprécier :

- Aspect : Claire, légèrement trouble, trouble.
- Couleur : jaune pâle ou jaune foncé, hématique, coloré avec des médicaments.
- Odeur (El Manni et al, 2004).
- Forme du relief (bombée, semi bombée, plate).
- Transparence (opaque, translucide).
- Allure des contours (régulier, dentelés).
- Pigmentation.
- Aspect de la surface (lisse ou rugueuse) (Mami, 2013).
- Taille : Elle peut être mesurée à l'aide d'une règle graduée pour les grandes colonies. Il est possible aussi d'utiliser le microscope au grossissement le plus faible pour mesurer la taille des petites colonies.
- Aspect de surface : lisse, rugueux, irisé.
- Consistance.

b. Identification microscopique :

La coloration de Gram est un test rapide utilisé dans les laboratoires de microbiologie pour différencier différents types de bactéries en fonction des propriétés biochimiques de la paroi bactérienne. Cette technique a été mise au point en 1884 par Hans Christian Gram, un bactériologiste danois. Après coloration, les bactéries Gram+ deviennent violettes alors que les bactéries Gram- apparaissent en rose. La répartition des bactéries en Gram+ ou Gram- est un critère systématique important pour la classification des bactéries. Elle permet de visualiser facilement les bactéries et de donner des indications sur leurs formes et leurs tailles (Cgarrs, 2020).

• Préparation d'un frottis bactérien :

- Nettoyer une lame à l'alcool.
- Déposer une goutte d'H₂O sur la lame.
- Toucher une colonie à l'aide d'une pipette Pasteur ou anse de platine pour prélever des bactéries. Il n'est pas nécessaire de prendre beaucoup de bactéries
- Frotter la pointe dans la goutte d'eau.

- Passer la lame dans la petite flamme (veilleuse) du bec Bunsen pour fixer l'échantillon à la chaleur [8].
- **Coloration :**
 - Recouvrez le frottis (ou immerger la lame) avec la solution de violet de Gentiane pendant environ 1 minute.
 - Egouttez bien la lame et/ou rincez la délicatement à l'eau et bien l'égoutter.
 - **Fixation et mordantage :** recouvrez le frottis (ou immergez la lame) avec du Lugol pendant environ 1 minute (ou immergez la lame).
 - Rincez-la délicatement à nouveau à l'eau et égouttez la bien.
 - **Décoloration :** lavez la lame avec de l'éthanol en faisant couler goutte à goutte le réactif sur la lame inclinée (faites la osciller tout ce temps pour bien balayer toute la surface) ou en immergeant la lame pendant 30 secondes.
 - Lavez immédiatement à l'eau pour arrêter la décoloration et bien l'égoutter.
 - **Recoloration :** recouvrez le frottis (ou immergez la lame), pour la recolorer, avec la solution de fuchsine pendant 1 minute.
 - Lavez à l'eau, égouttez bien.
 - **Séchage :** laisser la lame sécher à l'air, éventuellement en chauffant à 50/60°C. La lame doit être parfaitement sèche.
 - observez à l'objectif x100, en immersion avec l'huile de cèdre (**Bourdon et Marchal, 1973 in Amira, 2008**) [9].
- **Lecture :**
 - Gram + : bactéries apparaissent violettes.
 - Gram - : bactéries apparaissent roses.

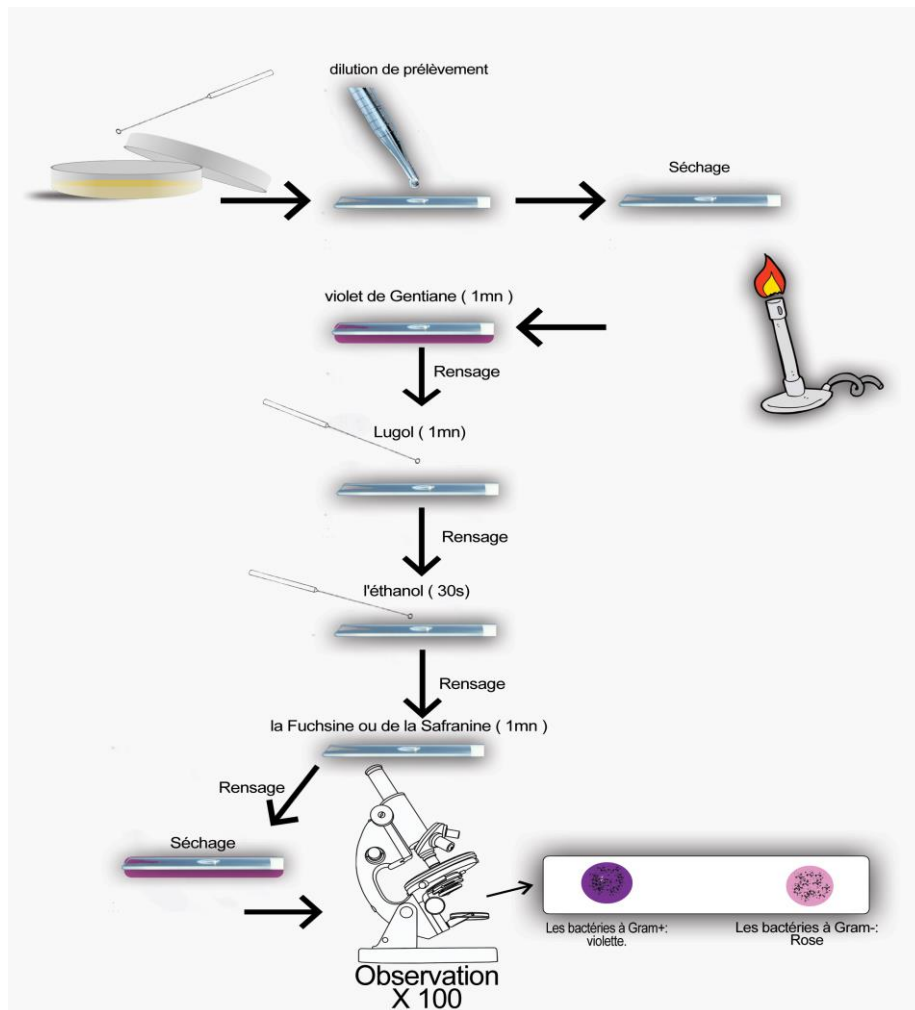


Figure 11. Les étapes de la coloration de Gram.

4. Identification biochimique et enzymatiques :

a. Galeries d'identification biochimique :

La galerie API commercialisée, est un système standardisé pour l'identification de bactéries ; elle est composée d'un nombre variable de micro tubes (10 ou 20 le plus souvent), contenant des substrats déshydratés qui permettent de réaliser des tests biochimiques (Camille, 2008) [10].

Dans cette étude on a utilisé 3 différents type de galerie API : API 20 E, API 20 NE, API STREP, qui permettent une identification rapide des bactéries. (Lanotte *et al.*, 2011).

- **Galerie (API 20 E) :**

API 20 E est un système pour l'identification des Enterobacteriaceae et autres bacilles Gram-négatifs non fastidieux, utilisant 23 tests biochimiques standardisés et miniaturisés, ainsi qu'une base de données (Leyral *et al.*, 1998).

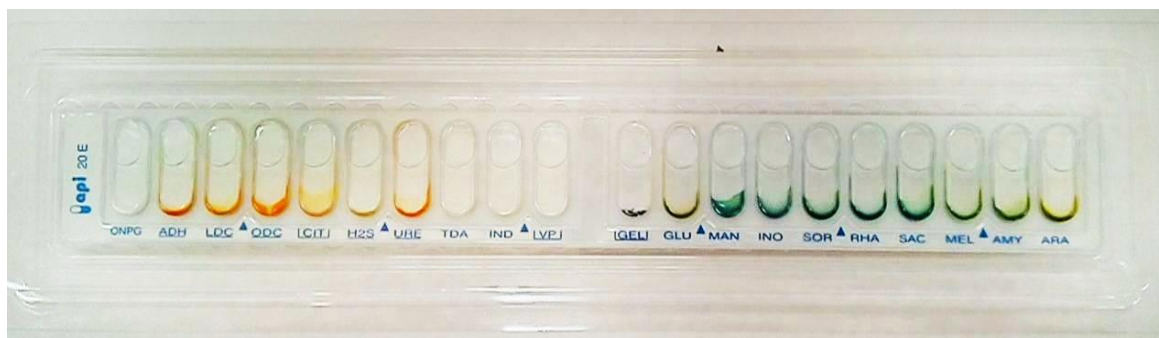


Figure 12. Plaque de la galerie API 20 E (Photo personnelle).

- **Principe :**

La galerie API 20 E comporte 20 micro tubes contenant des substrats sous forme déshydratée. Les tests sont inoculés reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs (**Leyral et al, 1998**).

Préparation de la galerie :

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Incrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.
- Déposer la galerie dans la boîte d'incubation.
- Parallèlement, réaliser le test oxydase sur une colonie identique comme suit :
 - o Déposer un morceau de papier filtre sur une lame de verre.
 - o Humidifier avec une goutte d'eau.
 - o Etaler la colonie choisie avec un applicateur de verre ou de bois.
 - o Ajouter une goutte de réactif ox.
 - o Une couleur violette apparaissant en 1-2 minutes indique une réaction positive (**Leyral et al, 1998**).

Préparation de l'inoculum :

- Ouvrir une ampoule de Suspension Medium (réf. 20 110) (ou eau distillée Stérile, sans additif).
- Prélever à l'aide d'une pipette, une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé.
- Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les Bactéries dans le milieu. (**Leyral et al, 1998**).

Inoculation de la galerie :

- Remplir tubes et cupules des tests (CIT), VP). GEL avec la suspension Bactérienne et avec la pipette ayant servi au prélèvement.
- Remplir uniquement les tubes (et non les cupules) des autres tests.
- Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H₂S en Remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
- Refermer la boîte d'incubation et la placer à 37°C pendant 18-24 heures. (**Leyral et al, 1998**)

Lecture de la galerie :

- Après 18-24 h à 35-37°C, la lecture de la galerie est réalisée en se référant au Tableau de Lecture.
- Noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées
- Si le glucose est positif et/ ou si 3 tests ou plus sont positifs : révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs
 - o Test VP
 - o Test TDA
 - o Test IND
 - o Test NO₂ (**Leyral et al, 1998**).

Identification :

- Avec le tableau d'identification.
- Avec le catalogue analytique.
- Avec le logiciel d'identification.

• **Galerie (API 20 NE) :**

API 20 NE est un système standardisé combinant 8 tests conventionnels et 12 tests d'assimilation, pour l'identification des bacilles à Gram négatif non entérobactéries et non fastidieux (ex. *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Vibrio*, *Aeromonas*, etc.). Les microorganismes fastidieux, exigeants et nécessitant des précautions de manipulation particulières (ex. *Brucella* et *Francisella*) ne font pas partie de la base de données API 20 NE. Il convient d'utiliser d'autres techniques pour exclure ou confirmer leur présence (**Leyral et al. 1998**).



Figure 13. Plaque de la galerie API 20 NE (Photo personnelle).

Principe :

La galerie API 20 NE comporte 20 micro tubes contenant milieux et/ou substrats déshydratés. Les tests conventionnels sont inoculés avec une suspension bactérienne saline qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. Les tests d'assimilation sont inoculés avec un milieu minimum et les bactéries cultivent seulement si elles sont capables d'utiliser le substrat correspondant (**Leyral et al. 1998**).

Préparation de la galerie :

- Réunir fond et couvercle d'une bote d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée (ou toute eau sans aditifs ou dérivés susceptibles de libérer des gaz (Ex : Cl₂, CO₂) dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale.
- Retirer la galerie de son emballage individuel, la déposer dans la boîte d'incubation et jeter le dessicant (**Leyral et al. 1998**).

Préparation de l'inoculum :

- Ouvrir une ampoule de NaCl 0, 85% médium (2 ml) ou utiliser un tube contenant 2 ml de la même solution sans additif.
- Réaliser une suspension bactérienne de turbidité égale à celle de l'étalon 0.5 de McFarland, prélever pour cela 1 à 4 colonies de morphologie identique à l'aide d'une pipette, par aspirations ou par touches successives (**Leyral et al. 1998**).

Inoculation de la galerie :

- Remplir les tubes (et non les cupules) des tests NO₂ à PNPG avec la suspension précédente en utilisant la pipette ayant servi au prélèvement. Eviter la formation de bulles en posant l'extrémité de la pipette sur le côté de la cupule.

- Ouvrir une ampoule d'AUX Medium et y transférer 200 ul, soit environ 6-8 gouttes d'une PSIpette, de la suspension précédente. Homogénéiser avec la pipette en évitant la formation de bulles.
- Remplir tubes et cupules des tests GLU à PAC en veillant à créer un niveau horizontal ou légèrement convexe, mais jamais des cupules concave. incomplètement remplies ou trop remplies peuvent entrainer des résultats incorrects.
- Remplir d'huile de paraffine les cupules des trois tests soulignés (GLU, ADH, URE) pour former un ménisque se convexe.
- Refermer la boîte d'incubation et incuber 24 ha 30°C (**Leyral *et al.* 1998**).

Lecture de la galerie :

- Après 24 h à 30°C, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au Tableau de Lecture.
- Noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées (GLU, ADH, URE, ESC, GEL, PNPG).
- La révélation des deux tests NO₃ et TRP doit se faire en mettant les tests d'assimilation à labri d'une contamination par l'air ; pour cela, placer le couvercle de la boîte d'incubation au-dessus de ces tests, pendant la période de révélation des tests NO₃ et TRP.
- Test NO₃.
- Test TRP.
- Test d'assimilation (**Leyral *et al.* 1998**).

Identification :

- Tableau de Lecture et identification.
- Catalogue Analytique.
- logiciel d'identification (**Leyral *et al.* 1998**).

- **Galerie (API 20 STREP) :**

La galerie API 20 STREP est système standardisé associant 20 tests biochimiques qui présentent un grand pouvoir discriminant. Il permet de faire un diagnostic de groupe ou d'espèces pour la plupart des streptocoques rencontrées en bactériologie médicale (**Leyral *et al.*, 1998**).



Figure 14. Plaquette de la galerie API 20 STREP (Photos personnelles).

Protocole :

La galerie API 20 STREP comporte 20 micro tubes contenant les substrats déshydratés pour la mise en évidence d'activités enzymatiques ou de fermentation de sucres. Les tests enzymatiques sont inoculés avec une suspension dense, réalisée à partir d'une culture pure, qui réhydrate les substrats. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. Les tests de fermentation sont inoculés avec un milieu enrichi (contenant un indicateur de pH) qui réhydrate les sucres. La fermentation des carbohydrates entraîne une acidification se traduisant par un virage spontané de l'indicateur coloré (**Leyral et al., 1998**).

Préparation de la galerie :

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée [ou toute eau sans additif ou dérivés susceptibles de libérer des gaz (Ex : Cl₂, CO₂.)] dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Inscire latérale de la boîte.
- Retirer la galerie de son emballage individuel, la déposer dans la boîte d'incubation. (**Leyral et al., 1998**).

Préparation de l'inoculum :

- Ouvrir une ampoule de suspension Medium (2 ml) ou utiliser un tube contenant 2 ml d'eau distillée sans additif.
- A l'aide d'un écouvillon, prélever toute la culture préalablement préparée afin de réaliser une suspension très dense : opacité supérieure à celle de l'étalon 4 de McFarland. (**Leyral et al. 1998**).

Inoculation de la galerie :

- Dans la première moitié de la galerie (tests VP à ADH) répartir la suspension précédemment préparée. Remplir environ 100 µl dans chaque cupule pour les tests : VP à LAP. Et uniquement le tube pour le test ADH.
- Dans la deuxième moitié de la galerie (tests RIB à GLYG), transférer le reste de la suspension, soit 0,5 ml au minimum dans une ampoule d'API GP Medium, répartir cette nouvelle suspension dans les tubes uniquement.
- Créer une anaérobiose des tests soulignés ADH à GLYG en remplissant leurs cupules d'huile de paraffine.
- Incuber la boîte d'incubation à 35-37°C en pendant 4 heures pour une première lecture et 24 heures si nécessaire pour une deuxième lecture (**Leyral *et al.* 1998**).

Lecture de la galerie :

- ajouter les réactifs :
 - test VP : 1 goutte de VP 1 et VP 2.
 - test HIP : 2 gouttes de NIN.
 - tests PYRA, aGAL, BGUR, BGAL, PAL, LAP : 1 goutte de ZYMA et ZYM B.
- Attendre 10 minutes, puis lire toutes les réactions en se référant au Tableau de Lecture. Si nécessaire, exposer la galerie à une lampe forte (1000 W) - 10 secondes - pour décolorer le réactif en excès dans les tubes PYRA à LAP.
- Relire après 24 heures les réactions ESC, ADH et RIB à GLYG sans relire les réactions enzymatiques (HIP, PYRA, AGAL, BGUR, BGAL, PAL, LAP) et VP. Noter toutes les réactions sur la fiche de résultats (**Leyral *et al.* 1998**).

Identification :

- Tableau de Lecture et identification.
- Catalogue Analytique.
- logiciel d'identification (**Leyral *et al.* 1998**).

b. Tests biochimiques complémentaires :

• Test de catalase :

La catalase est une enzyme contenant du fer, qui catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en eau et en oxygène. (**Singleton, 2005 in Kirat et Agabi, 2020**).

But :

C'est un test discriminatif qui permet de différencier les bactéries à Gram positif entre Elles. (Kebeiche *et al.*, 2020)

Technique :

- Sur une lame propre et sèche déposer une goutte d'eau oxygénée
- à l'aide d'une pipette pasteur, ajouter l'inoculum, observé immédiatement (Joffin *et al.*, 2001).

Réaction :**Interprétation :**

- Réaction positive : une production de bulles indique la présence de catalase.
- Réaction négative : une absence de bulles signe un test négatif (Bestandji et Daci, 2016).

Tableau 9. Les germes bactériens selon le caractère biochimique catalase.

Test catalase	Genre bactériens
Catalase positif	<i>Bacillus</i>
Catalase négatif	<i>Clostridium</i>

- **Test de l'oxydase :**

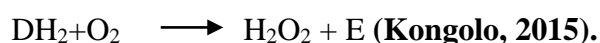
Les bactéries possédant une chaîne respiratoire complète sont dotées d'un cytochrome oxydase (Denis *et al.*, 2011 in Kirat et Adjabi, 2020).

But :

Ce test est à la base de l'identification des bactéries Gram négatif. (Kirat et Agabi, 2020).

Technique :

Sur une lame, on place un disque d'Oxydase et l'imbiber avec une goutte d'eau distillée ou d'eau physiologique stérile, puis on y dépose une colonie ou deux avec une pipette Pasteur stérile (Delarras, 2014 in Kirat et Agabi, 2020).

Réaction :

Interprétation :

- Oxydase (+) : Le disque donne une coloration violette immédiatement ou dans les 10 secondes (Singleton, 2005).
- Oxydase (-) : Le disque reste incolore (Meziani, 2012).

• **Test de coagulase :**

La coagulase est une enzyme capable de coaguler le sang, c'est un critère indispensable pour l'identification des Staphylocoques. (Singleton, 2005 in Kirat et Agabi, 2020).

But :

Le test de la coagulase sert à différencier entre les staphylocoques (Amartin, 2016).

Technique :

- Une version du test en tube consiste à ajouter dans un tube à essai, 0,5 ml d'une culture liquide (dans un bouillon cœur cerveau) de 18 à 24 heures de la souche à tester à 1 ml de plasma.
- Le tube est maintenu à 37 °C et est examiné après 1, 2, 3, 4 et 24 heures, pour voir si un caillot s'est formé (Singleton, 2005 in Kirat et Agabi, 2020).

Interprétation :

- Coagulase (+) : si le plasma coagule en moins de 24h, le germe possède une coagulase (Delarras, 2014). Cela permet de confirmer que le germe est un *Staphylococcus aureus*.
- Coagulase (-) : si le plasma ne coagule pas c'est les autres staphylocoques (env. 30 à 40 espèces) dont *S.epidermidis* (Amartin, 2016).

5. Triple Sugar Iron Agar :

La Triple Sugar Iron Agar contient trois glucides (glucose, lactose et saccharose). La fermentation de ces glucides provoque une production d'acide, qui est détectée par l'indicateur au rouge de phénol. Des changements de couleurs en résultent, et le milieu vire au jaune en cas de production d'acide, ou au rouge en cas d'alcalinisation [12].

But : La gélose TSI est utilisée pour l'identification présomptive des entérobactéries basée sur la fermentation du glucose, du lactose, du saccharose et sur la production de gaz et d'H₂S [11].

Principe :

- Lorsque l'un des glucides est fermenté, la baisse du pH fera passer le milieu de l'orange rougeâtre (la couleur originale) au jaune.
- Une couleur rouge foncé indique une alcalinisation des peptones.
- Le thiosulfate de sodium dans le milieu est réduit par certaines bactéries en sulfure d'hydrogène (H₂S), ce dernier réagit avec les ions ferriques dans le milieu pour produire du sulfure de fer, un précipité insoluble noir [11].

Interprétation :

- Si la bactérie n'utilise que le glucose : le culot devient jaune et la pente rouge.
- Si la bactérie utilise le glucose, saccharose et /ou lactose : le culot et la pente devenant jaunes.
- Bactérie n'utilise aucun des sucres: Dans ce cas la bactérie consommera les peptones.
- Production de gaz.
- production H₂S [11].

Lecture :

Après 24 heures à 37°C en aérobiose, en général [12].

Tableau 10. Lecture milieu TSI (Hajna, 1945).

Microorganismes	Pente lactose et ou saccharose	Culot gaz (1)	H ₂ S
<i>Escherichia</i>	+ (-)	+	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	+ (-)	-
<i>E.coli (biotype A.d.)</i>	-	-	-
<i>Citrobacter freundii</i>	+	+	+ (-)
<i>Shigella</i>	-	-	-
<i>Proteus mirabilis</i>	- ou +	+ ou -	+
<i>Salmonella Enteritidis</i>	-	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-

6. Etude de la sensibilité et la résistance bactérienne :

La détermination de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées est fondée sur l'antibiogramme (Eyquem *et al.*, 2000 in Kirat et Agabi, 2020). Ces méthodes reviennent fondamentalement à classer un germe en fonction d'une CMI estimée et des concentrations critiques (Flandrois, 1998 in Kirat et Agabi, 2020), la méthode de diffusion en milieu gélosé (méthode des disques) représente la méthode la plus utilisée en laboratoire (Eyquem *et al.*, 2000 in Kireat et Agabi, 2020)

Définition :

Un antibiogramme est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques connus. Le principe consiste à placer la culture de bactéries en présence des disques d'antibiotiques et à observer leur comportement. (Kebieche *et al.*, 2020).

Méthode manuel :

L'antibiogramme est réalisé par méthode de diffusion en disque d'après les recommandations du CLSI pour chaque germe isolé (Ministère de la santé, 2014).

Principe :

Un inoculum standardisé de bactéries (le plus souvent 0.5Mcf) est tamponné sur la surface d'une boîte de gélose Mueller-Hinton. Des disques de papier filtre imprégnés d'agents antimicrobiens sont placés sur la gélose. Après une nuit d'incubation, le diamètre de la zone d'inhibition est mesuré autour de chaque disque. En se référant aux tableaux de la norme CLSI (la même que la standardisation algérienne) / EUCAST, on obtient un rapport qualitatif de sensible, intermédiaire ou résistant [13].

Milieu d'ensemencement :

Le milieu retenu pour la majorité des espèces bactériennes est celui de Mueller-Hinton. Il doit être coulé en boîtes de pétri sur une épaisseur de 4mm. La gélose doit être séchée l'emploi. (Harrath, et Djebiha, 2014).

Préparation d'inoculum :

Elle consiste à réaliser une suspension bactérienne avec de l'eau distillée stérile d'une turbidité équivalente à celle de l'étalon 0,5 de la gamme de McFarland ou à une densité optique de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm à partir d'une culture pure (OMS, 2005) (SFM, 2018).

Inoculation des géloses :

- L'inoculum bactérien doit idéalement être employé dans les 15 min qui suivent sa préparation. (SFM, 2018 in Kirat et Agabi, 2020).
- Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum préparé.
- L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la gélose de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération 2 fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.
- Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon par la périphérie de la gélose (Courvaline et Leclercq, 2012 ; in Meziani, 2012) (Brahmia, 2016).

Dépôt des disques imprégnés d'antibiotique :

- Déposer les disques fermement à la surface de la gélose inoculée et séchée.
- Les disques une fois déposés ne peuvent être déplacés car la diffusion des antibiotiques est très rapide.
- Appliquer une légère pression avec une pince ou une aiguille stérile pour assurer un contact complet du disque avec la gélose.
- Déposer les disques d'antibiotique sur la gélose (maximum 6 disques sur boîte de pétri de 9 cm de diamètre).
- Les boîtes doivent être laissées à une température ambiante pendant 30 minutes pour permettre la diffusion des ATB dans la gélose (SFM, 2018).

Incubation :

L'incubation de l'antibiogramme se fait à l'étuve à 37 C° pendant 18 à 24 heures.

Lecture :

- Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'une règle. Les mesures seront prises en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de Pétri fermée (SFM, 2018).
- La mesure du diamètre de ces zones nous permet de déterminer si elle en est sensible, intermédiaire ou résistante en se référant aux valeurs données par le comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (Torres, 2012).
- On compare les résultats aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondante (Bonacorsi, 2011).

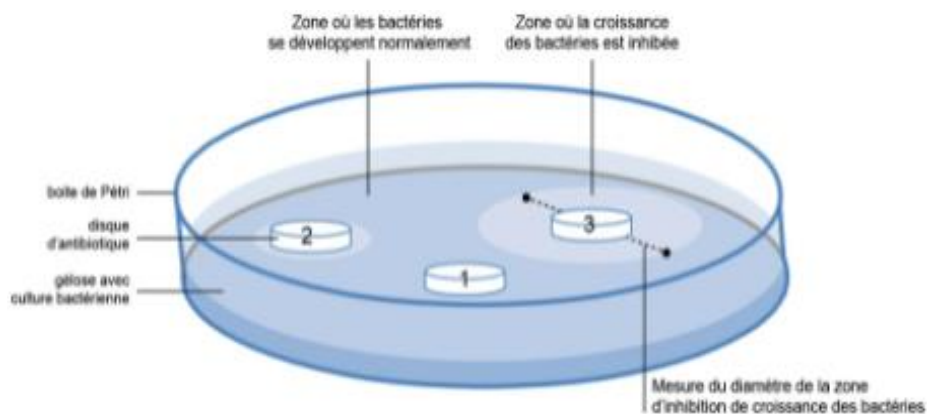


Figure 15. Lecture de l'antibiogramme [13].

Tableau 11. Listes des antibiotiques utilisés. [13]

Antibiotiques	Famille	Charge	Abréviation	Origine
Amoxicilline	β -lactamine	25	AMX	Himedia laboratoire
Pénicilline	β -lactamine	10	P	Himedia laboratoire
Chloramphénicol	Phénicolés	30	C	Himedia laboratoire
Erythromycine	Macrolides	15	E	Himedia laboratoire
Vancomycine	Glycopeptides	30	VA	Himedia laboratoire
Gentamicine	Aminosides	10	GEN	Himedia laboratoire

I. Identification morphologique :**1. Examen macroscopique :**

Après isolement et purification des prélèvements dans différents milieux, les principaux caractères macroscopiques sont rassemblés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 12. Résultats de l'examen macroscopique.

Milieux	Taille	Couleurs	Transparence	consistance	Forme	Figures
Gélose nutritive	Petite à moyenne	Blanches	Opaques	Crémeuses Lisses	Arrondies Bombées	Figure 16
Gélose Hektoen	Moyenne	Orange ou jaune saumon	Opaques	Lisses	Arrondies Bombées	Figure 17
Gélose SS	Moyenne à petite	Rose entourées d'un halo rose ou orange. Vertes. Orange avec centre blanc.	Opaques	Lisses	Arrondies Bombées	Figure 18
Gélose Mac Conkey	Petites, moyennes et grandes	Rose pâle avec et sans centre blanc. Marronnées	Opaques	Crémeuses Moelleuses	Arrondies Bombées	Figure 19
Gélose Columbia au sang frais	Petites	Blanches ou grisâtres	Opaques	Lisses	Arrondies	Figure 20
Gélose Chapman	Très variable	Jaunes ou blanchâtres avec ou sans virage de couleur	Plus ou moins opaques	Lisses	Régulière Arrondies Bombées	Figure 21
Gélose King A	Petite à grande	Blanchâtres	Plus ou moins opaques	Crémeuses Lisses	Régulière Arrondies Bombées	Figure 22
Gélose King B	Petite à grande	Blanchâtres	Plus ou moins opaques	Crémeuses Lisses	Régulière Arrondies Bombées	Figure 23

Plusieurs colonies ont poussé dans les différents milieux utilisés. Dans une même boîte de Pétri, on peut trouver plusieurs colonies de tailles, de formes, de couleurs et de consistances différentes mettant en évidence l'existence de divers aspects.

PARTIE 3 : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Les photos personnelles qui suivent illustrent certains aspects des colonies isolées sur les milieux de cultures.



Figure 16. Aspects macroscopiques sur gélose nutritive.



Figure 17. Aspects macroscopiques sur gélose Hektoen.



Figure 18. Aspects macroscopiques sur gélose SS.



Figure 19. Aspects macroscopiques sur gélose Mac Conkey.



Figure 20. Aspects macroscopiques sur gélose Columbia au sang frais [A: colonie α -hémolytique, B : colonie β -hémolytique et C : colonie non hémolytique γ].

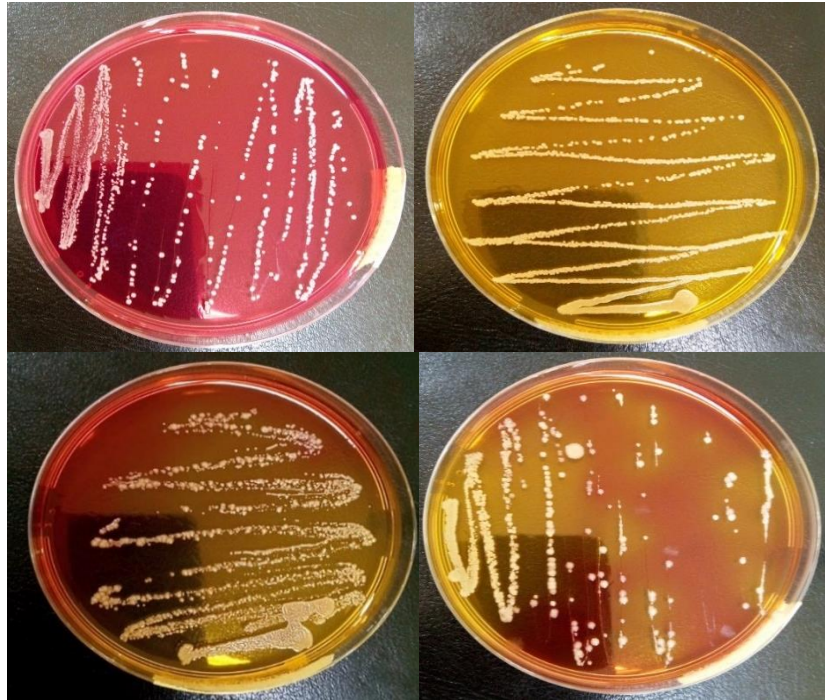
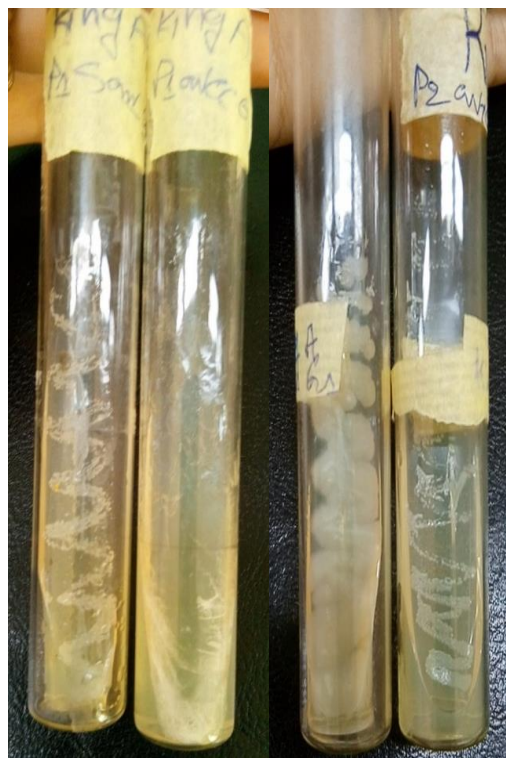


Figure 21. Aspects macroscopiques sur gélose Chapman.



A et B

A et B

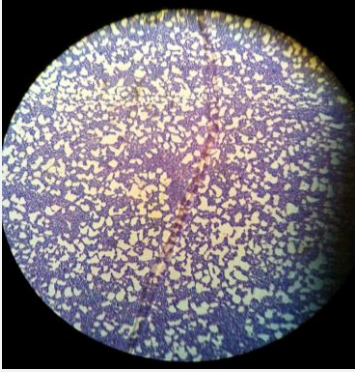
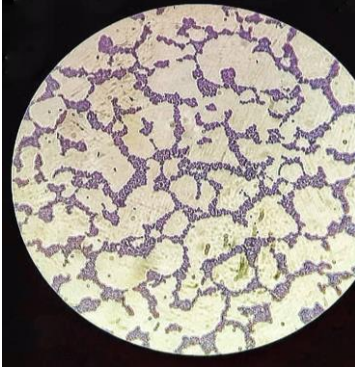
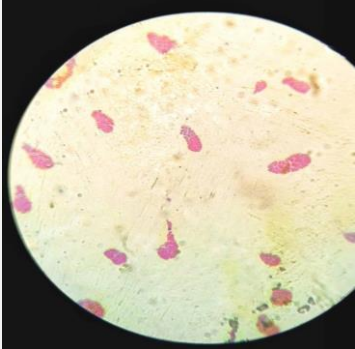
Figure 22. Aspects macroscopiques sur gélose King A et King B [A : King A, B : King B].

2. Examen microscopique :

L'examen microscopique a été fait pour toutes les cultures. Après la coloration différentielle de Gram, nous avons au total 37 frottis, nous avons isolés 16 frottis à Gram positif (G+) et les autres 21 frottis à Gram négatif (G-).

Le tableau et les figures qui suivent montrent l'aspect microscopique de quelques bactéries isolées sur les milieux utilisés.

Tableau 13. Résultats de coloration de Gram.

Milieux	Figures	G+ ou G-	Formes
GN		G+	Cocci
Chapman		G+	cocci en chainette
Hektoen		G-	Cocci en amas

PARTIE 3 : RESULTATS ET DISCUSSIONS

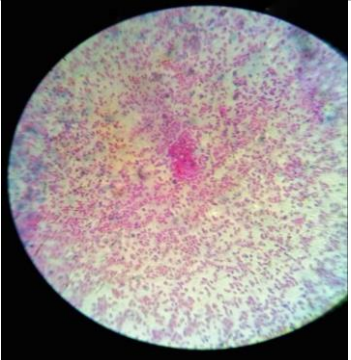

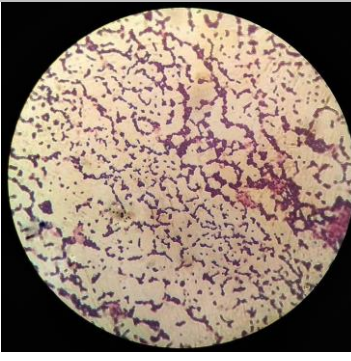
Mac Conkey		CG-	Bacilles
SS		CG-	Bacilles
Columbia		CG+	Coccis en chainettes

Tableau 14. Résultats de l'observation microscopique après coloration.

Observations	Effectifs	Fréquences
Gram positif (G+)	16	43.2%
Gram négatif (G-)	21	56.8%
Totale	37	100%

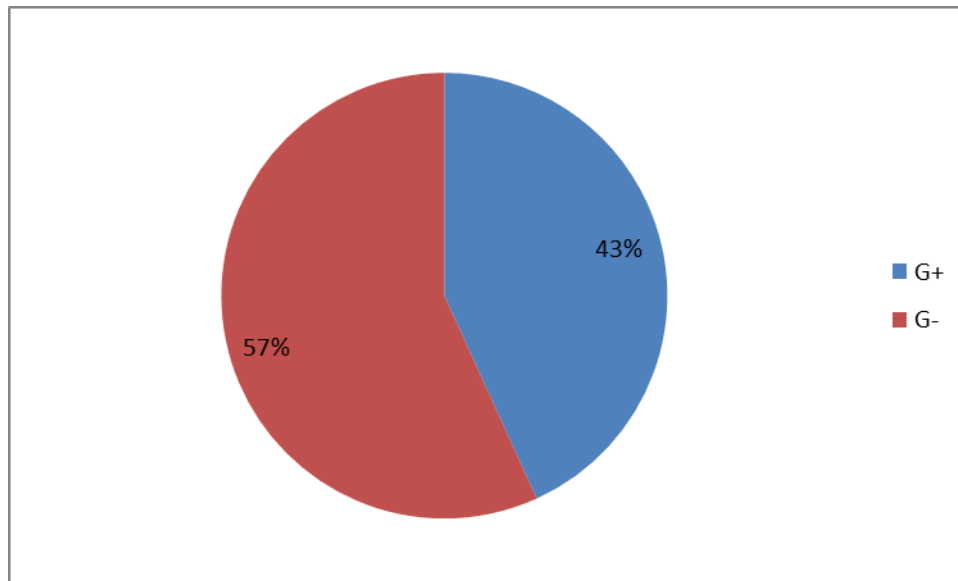


Figure 23. Résultats de l'observation microscopique après coloration.

La coloration des Gram a montré presque une égalité de nombre de présence des Gram positifs et Gram négatifs et de multiples formes de cocci, bacilles en chaînette, en amas et en grappes de raisins, isolés.

II. Identification biochimique et enzymatique :

1. Les galeries d'identification biochimique :

Dans notre étude biochimique, nous avons utilisés trois types de galerie (API 20 E, API 20 NE, API STREP). Après la préparation et l'incubation des galeries nous avons trouvés plusieurs espèces de cellules bactériennes présentées sur les figures suivantes :

- La galerie API 20 E :

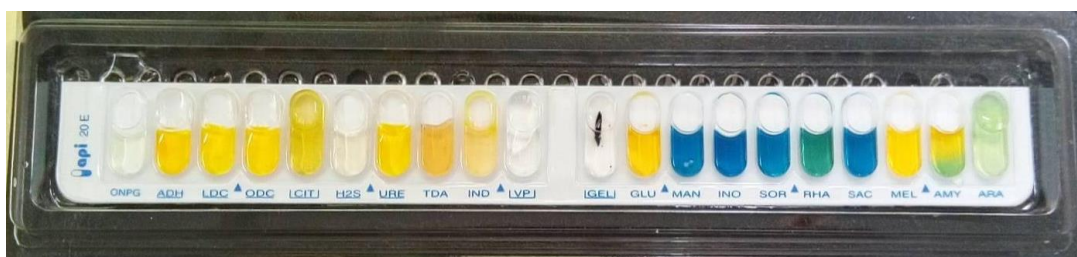


Figure 24. API 20 E de la souche *Shigella* spp (Photo personnelle).

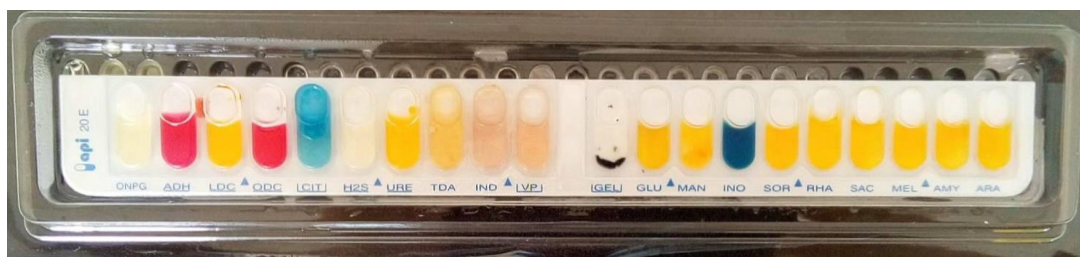


Figure 25. API 20 E de la souche *Citrobacter Koseri* (Photo personnelle).

- La galerie API 20 NE :



Figure 26. API 20 NE de la souche *Burkholderia cepacia* (Photo personnelle).

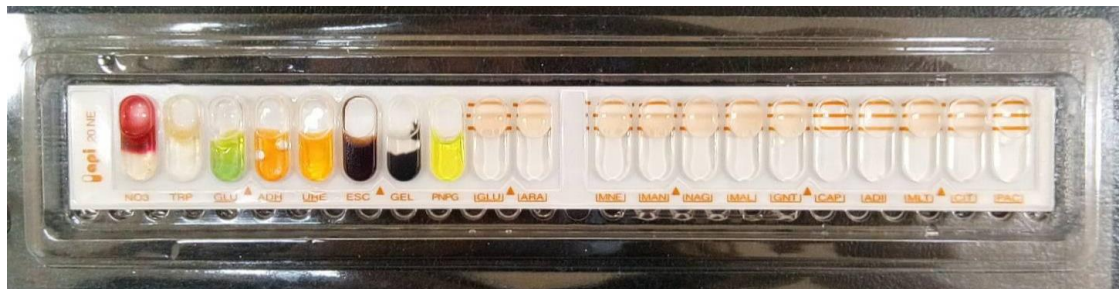


Figure 27. API 20 NE de la souche *Pseudomonas luteola* (Photo personnelle).

- La galerie API STREP :

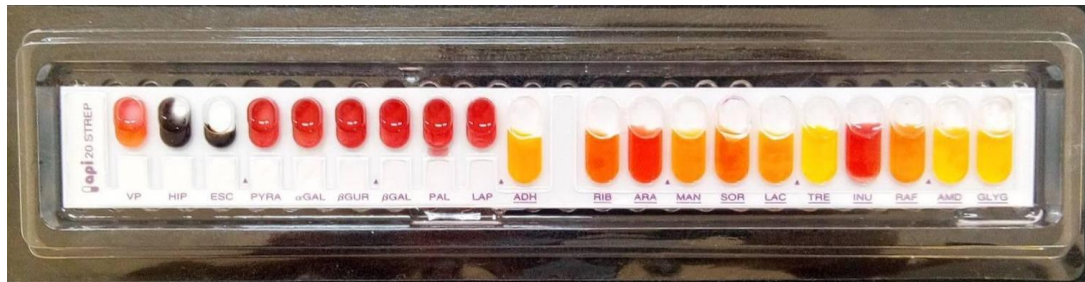


Figure 28. API 20 STREP de la souche *Streptococcus suis 1* (Photo personnelle).

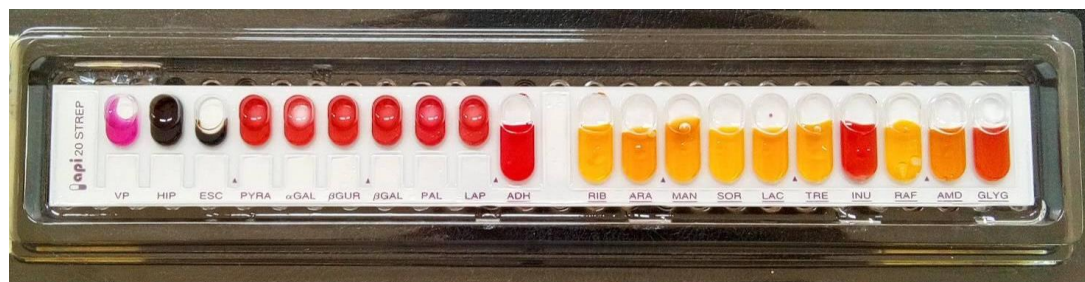


Figure 29. API 20 STREP de la souche *Enterococcus faecium* (Photo personnelle).

Les caractères biochimiques obtenus suite à l'utilisation des galeries d'identification nous ont révélés la présence de plusieurs espèces bactériennes isolées. On peut citer : *Enterococcus*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Citrobacter*, *Shigella*, *Enterobacter*, *Streptococcus*.

2. Tests biochimiques complémentaires :

Nous avons effectués les trois tests (Catalase, Oxydase, Coagulase) sur différentes souches. Leurs résultats et réactions sont résumés dans le tableau.

Tableau 15. Résultats des tests biochimiques.

Souche	Milieu d'isolement	Test biochimiques		
		Catalase	Oxydase	Coagulase
P3 avec G3	Chapman	+	+	/
P1 sans G2	Chapman	+	-	-
P2 sans G2	Chapman	+	-	-
P2 sans G3	Mac Conkey	/	-	/
P3 avec G1	Mac Conkey	/	+	/
P3 avec G2	Mac Conkey	/	-	/
P3 sans G2	Hektoen	/	-	/
P1 sans G1	Hektoen	/	-	/
P2 avec G2	Hektoen	/	-	/
P2 sans G3	Hektoen	/	-	/
P3 avec G1	SS	/	-	/
P2 sans G2	SS	/	-	/
P3 sans G3	SS	/	-	/
P1 sans G2	Columbia	/	/	-
P2 sans G1	Columbia	/	/	-
P3 avec G2	Columbia	/	/	-
P2 avec G1	Columbia	/	/	-
P3 sans G3	Columbia	/	/	-

PARTIE 3 : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Les photos personnelles suivantes montrent les caractères Catalase, Oxydase et Coagulase chez les bactéries isolées.

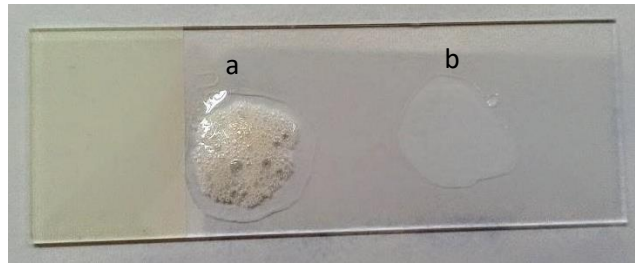


Figure 30. Résultat catalase (a : positif, b : négatif).

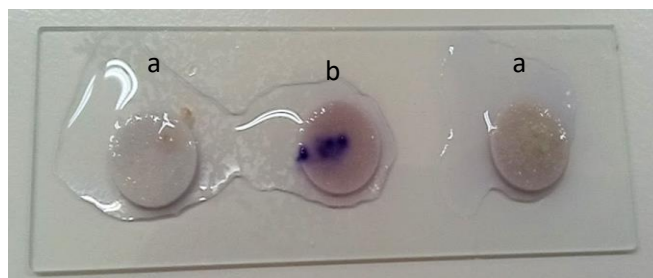


Figure 31. Résultat oxydase (a : négatif, b : positif).



Figure 32. Résultat coagulase (négatif).

- Le test catalase a permis de différencier les Staphylocoques des Streptocoques (des Entérocoques). En effet, la réaction s'avérait positive pour 35% des isolats de cocci Gram positif ce qui conduit à estimer que ce sont des Staphylocoques.
- Le test oxydase : la totalité des colonies isolées sur gélose Hektoen étaient dépourvues de l'oxydase mais la réaction s'avérait positive pour la gélose Mac Conkey.
- Le test de la coagulase était négatif pour toutes les colonies testées.

3. Triple Sugar Iron Agar :

Le tableau suivant résume les résultats du test Triple Sugar Iron Agar.

Tableau 16. Résultats de TSI.

	Fermentation de glucose	Fermentation de saccharose et lactose	Production de gaz	Production d'H₂S
P3 sans G1 Chapman	+	-	-	-
P2 avec G2 Hektoen	+	+	-	-
P2 avec G2 Columbia	-	+	-	-
P2 sans G2 MacConkey	+	+	-	-
P3 avec G3 Chapman	+	-	-	-
P2 sans G2 MacConkey	+	+	-	-
P3 avec G1 SS	+	+	+	-
P2 avec G1 Chapman	-	+	-	-
P3 avec G1 Hektoen	+	+	+	-
P1 avec G1 Columbia	-	+	-	-
P2 sans G2 Hektoen	-	-	+	-
P3 sans G1 Columbia	+	-	-	-

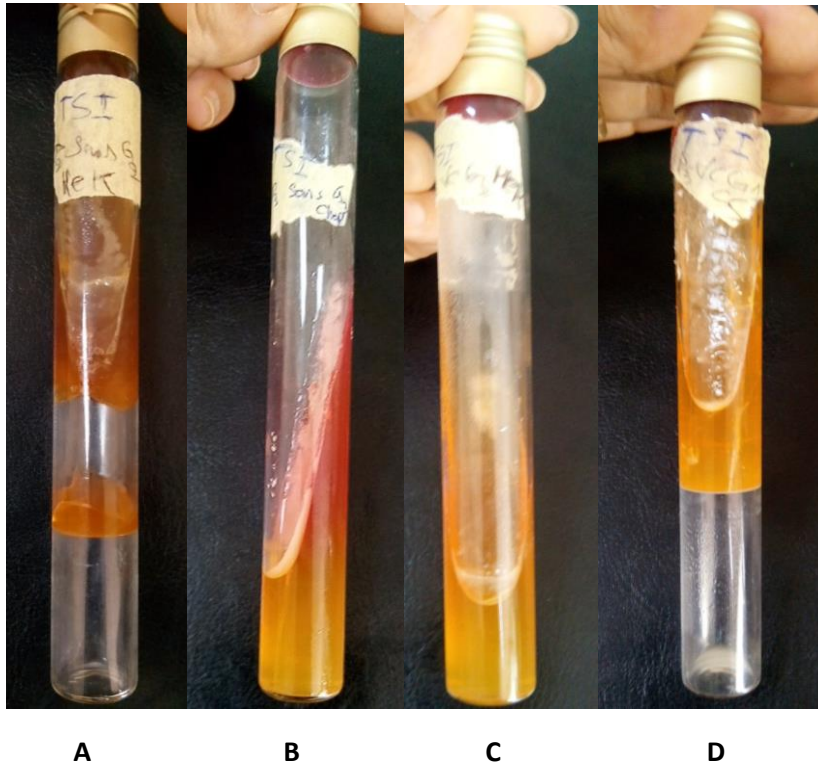


Figure 33. Résultats du test TSI. (Photo personnelle) (A : Production de gaz. B : Fermentation de glucose. C : Fermentation de glucose, saccharose et lactose. D : Fermentation de glucose, saccharose, lactose et production de gaz).

D'après les résultats trouvés, toutes les souches étudiées ne produisent pas le sulfure d'hydrogène et cela explique l'absence de la couleur noire dans le culot.

En ce qui concerne la production de gaz qui se manifeste par la fragmentation de la gélose dans les tubes, seulement trois souches (P3 avec G1 SS, P3 avec G1 Hektoen, P2 sans G2 Hektoen) sont capable de le synthétiser. D'autres souches ont fermenté du glucose, saccharose et lactose.

4. Etude de la sensibilité et la résistance bactérienne :

- L'espèce *Citrobacter Koseri* présente une résistance aux : E, VA, P, par contre elle présente une sensibilité pour les autres antibiotiques : Gen, Nit, C.

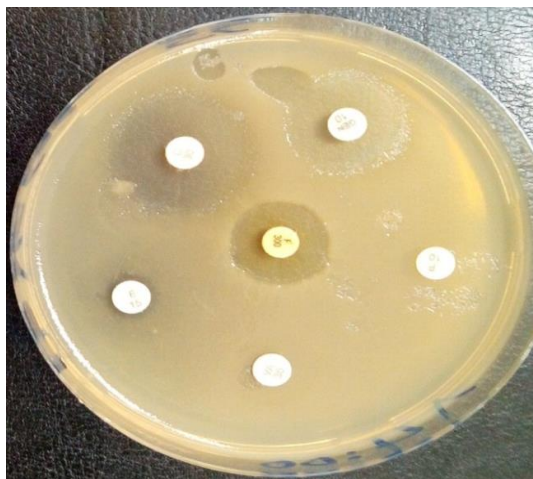


Figure 34. Résultats de l'antibiogramme de *Citrobacter Koseri* (Photo personnelle).

Tableau 17. Résultats de l'antibiogramme de *Citrobacter Koseri*.

Antibiotiques	E	VA	GEN	P	NIT	C
Diamètres	6 mm	6 mm	20 mm	6 mm	16 mm	25 mm
Catégorie clinique	R	R	S	R	S	S

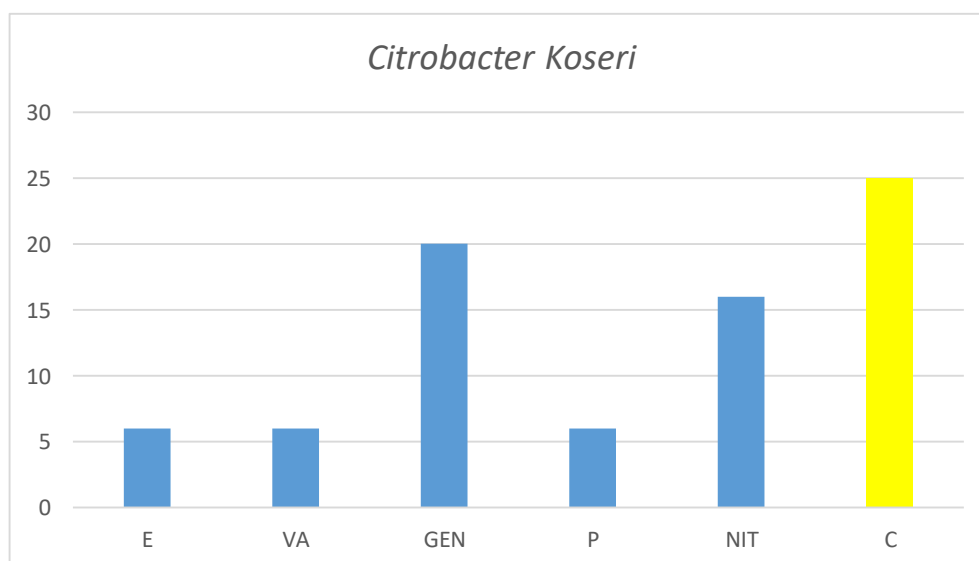


Figure 35. Représentation graphique des résultats de l'antibiogramme appliqué à *Citrobacter Koseri*.

- L'espèce *Citrobacter freundii* présente une sensibilité pour tous les antibiotiques testés et intermédiaire pour la pénicilline.

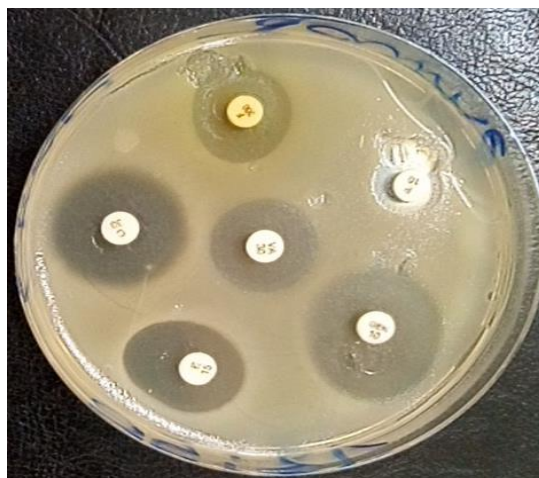


Figure 36. Résultats de l'antibiogramme de *Citrobacter freundii* (Photo personnelle).

Tableau 18. Résultats de l'antibiogramme de *Citrobacter freundii*.

Antibiotiques	E	VA	GEN	P	NIT	C
Diamètres	17mm	19mm	25mm	12mm	18mm	23mm
Catégorie clinique	S	S	S	I	S	S

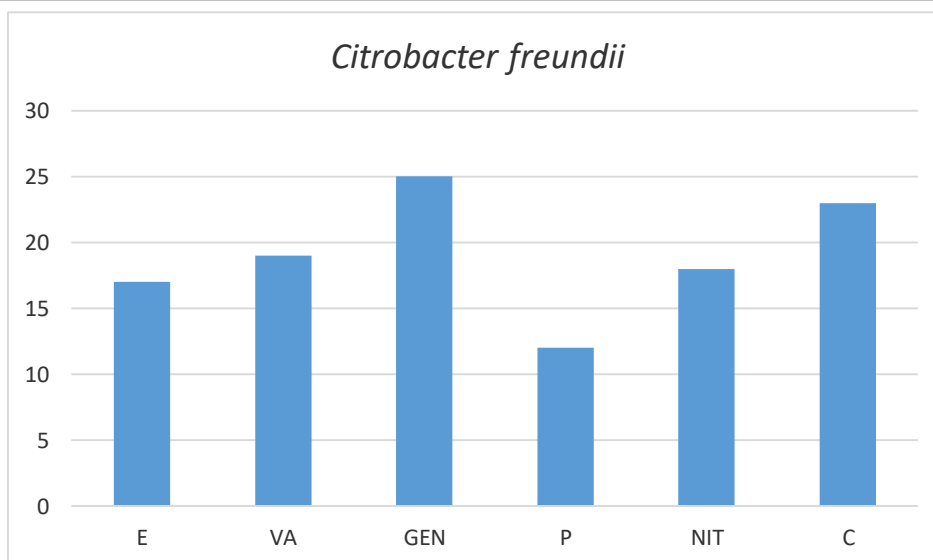


Figure 37. Représentation graphique des résultats de l'antibiogramme appliqué à *Citrobacter freundii*.

PARTIE 3 : RESULTATS ET DISCUSSIONS

- L'espèce *Pseudomonas luteola* montre une sensibilité pour tous les antibiotiques testés sauf pour la pénicilline qui est intermédiaire.



Figure 38. Résultats de l'antibiogramme de *Pseudomonas luteola* (Photo personnelle).

Tableau 19. Résultats de l'antibiogramme de *Pseudomonas luteola*.

Antibiotiques	E	VA	GEN	P	NIT	C
Diamètre	28mm	17mm	24mm	6mm	26mm	23mm
Catégorie clinique	S	S	S	I	S	S

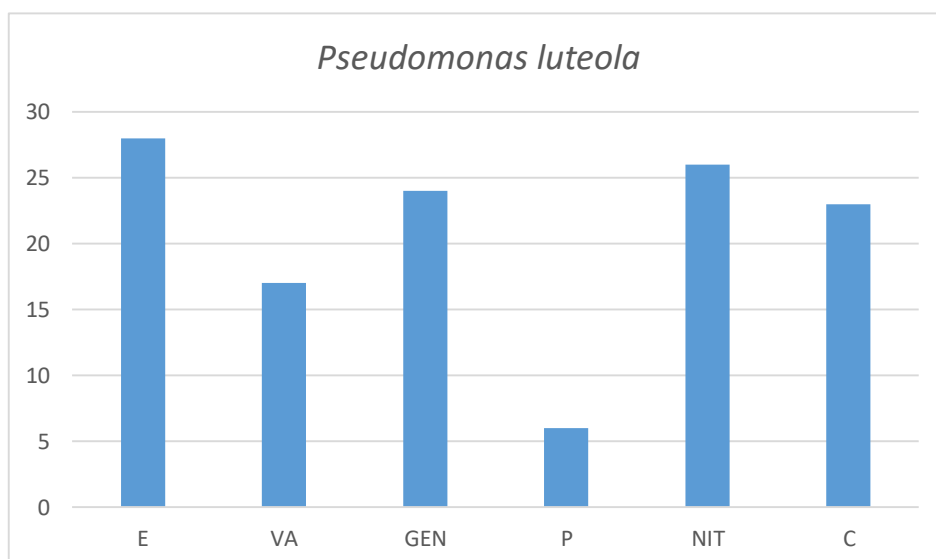


Figure 39. Représentation graphique des résultats de l'antibiogramme appliqué à *Pseudomonas luteola*.

III. Etude de l'efficacité des gels hydro alcooliques utilisés dans notre étude :

Notons qu'une croissance bactérienne, avec ou sans utilisation des trois gels hydro alcooliques, chez les trois personnes volontaires, a été mise en évidence suite aux tests effectués. Ceci est bien clair sur le **tableau** et les **figures**

Tableau 20. La présence des bactéries chez P1, P2, P3 avant et après l'utilisation des G1, G2, G3. (++ : Faiblement chargé, ++++ : moyennement chargé, ++++++ : fortement chargé, ++++++++ : extrêmement chargé).

	G1		G2		G3	
	Avant G1	Après G1	Avant G2	Après G2	Avant G3	Après G3
P1	+++++++	+++	+++++++	+++	++++	+++
P2	++++	+++	+++++++	+++++	+++++++	++++
P3	++	+++	+++++++	+++++++	+++++++	++++

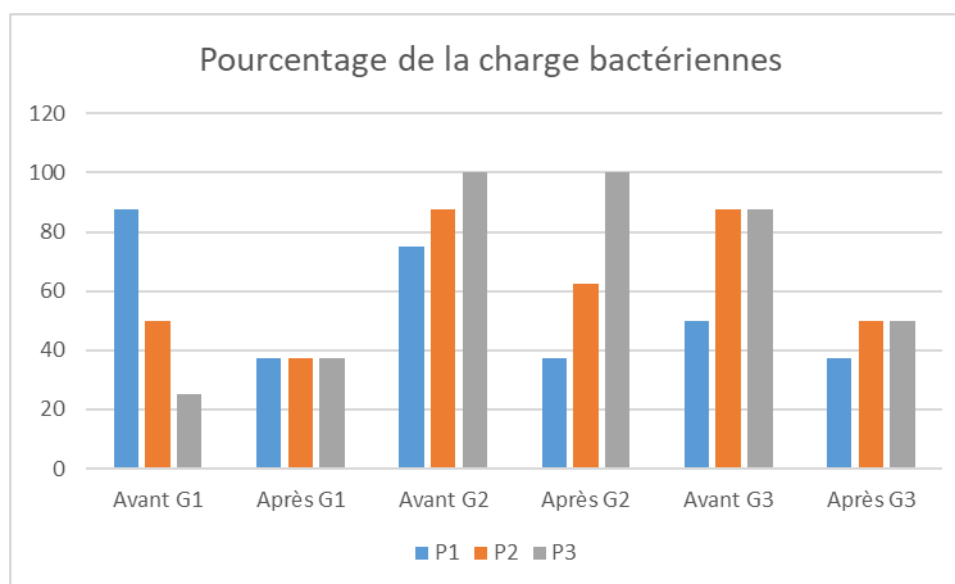


Figure 40. Pourcentage de la charge bactérienne de chaque gel hydro alcooliques (G1, G2, G3).

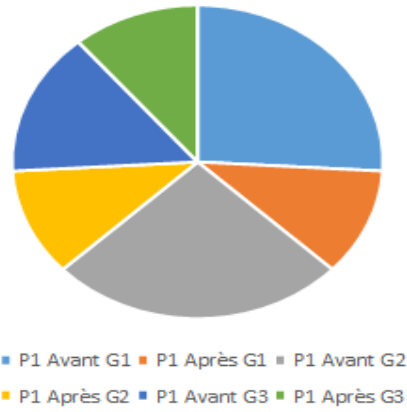


Figure 41. Pourcentage de la charge bactérienne de chaque gel hydro alcooliques avec P1.

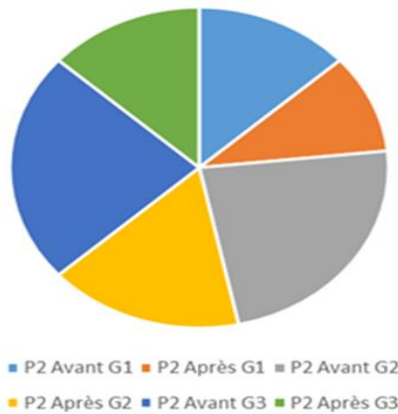


Figure 42. Pourcentage de la charge bactérienne de chaque gel hydro alcooliques avec P2.

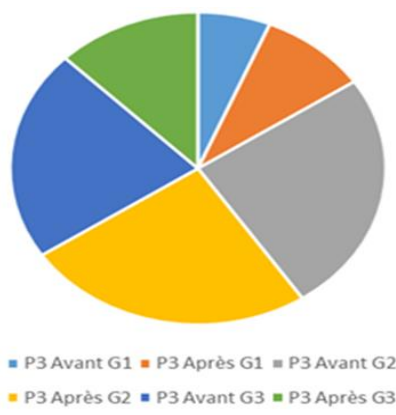


Figure 43. Pourcentage de la charge bactérienne de chaque gel hydro alcooliques avec P3.

A partir des résultats susmentionnés nous pouvons tirer les conclusions suivantes :

- Le gel hydro alcoolique (G1) : a une efficacité élevée.
- Le gel hydro alcoolique (G2) : a une efficacité normalisée ou faible.
- Le gel hydro alcoolique (G3) : a une efficacité normalisée ou faible.

CONCLUSION

En pleine épidémie de coronavirus et en absence d'eau et de savon, les gels hydro alcooliques sont conseillés pour éliminer le virus des mains et réduire sa transmission. Dans ce contexte, ce travail est basé sur une étude préliminaire des gels hydro alcooliques et leurs effets sur la désinfection de la flore cutanée vu que de nombreuses marques ont été commercialisés et utilisés par les citoyens algériens.

L'étude est effectuée sur trois gels hydro-alcooliques (G1, G2, G3), appliqués sur trois personnes volontaires. Après isolement, ensemencement sur milieux gélosés et identification morphologique et biochimique des bactéries.

Nous avons trouvé plusieurs colonies de tailles, de formes, de couleurs et de consistances différentes. Le nombre de présence des Gram positifs et Gram négatifs est presque le même et de multiples formes de cocci, bacilles en chaînette, en amas et en grappes de raisins, isolés sont observés. L'étude biochimique a révélé l'existence de plusieurs espèces de cellules bactériennes telles que *Shigella* spp, *Citrobacter koseri*, *Pseudomonas luteola*, *Burkholderia cepacia*, *Streptococcus suis I*, *Enterococcus faecius*, *Enterobacter freundii*, *Psychrobacter phenylpyrivicus*, *Aeromonas hydrophila*... . L'étude de la sensibilité et de la résistance aux antibiotiques a montré que la plupart des bactéries sont sensibles à l'Erythromycine et résistants à la Pénicilline. Alors que les plus efficaces sont la Gentamycine et le Chloramphénicol.

Ces résultats indiquent que l'efficacité des gels hydro alcooliques varie selon leurs types, le gel G1 a une efficacité élevée, alors que les gels G2 et G3 ont une efficacité normale à faible.

Les résultats obtenues sont très intéressants, néanmoins, ils peuvent faire l'objet d'autres recherches plus approfondies basées essentiellement sur l'analyse d'un nombre élevé et important de prélèvements. Une identification plus précise de souches et une recherche d'autres microorganismes au niveau de la peau des mains sont souhaités.

Bibliographie :

- **Abbara. (2004).** Ecologie microbienne de la peau, la flore cutanée et ses caractéristiques [en ligne].France.2004. (page consultée le 21/05/07). Adresse URL: http://www.alyabbara.com/livre_gyn_obs/termes/hygiène/flore_transitoire_résidente_peau_mains.html
- **AFSSAPS. (2009).** les mains à peau saine (produits hydro-alcooliques; PHA) par le grand public, dans le cadre de l'épidémie de la grippe A(H1N1), Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé, 28 septembre 2009 (disponible sur http://www.afssaps.fr/var/afssaps_site/storage/original/application/61e214a666eb691596a04b75393bcb29.pdf,
- **AFSSAPS.** Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé relatif à l'utilisation de désinfectants pour
- **Amartin, E. (2016).**La flore cutanée normale. Thèse de doctorat en pharmacie, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille.79p.
- **Amira, W. (2008).** Degré de contamination de l'eau de la mare Redjla (Tahar) par les nitrates : Détermination de la qualité physicochimique et microbiologique de l'eau. Mémoire de Magister. Université de Jijel.
- **Aouati, H. (2009).**Isolement des souches de Staphylococcus aureus résistantes à la méthicilline.Etude de leurs sensibilités aux autres familles d'antibiotiques.Thèse de Magistère en Microbiologie appliquée et Biotechnologies microbiennes, Université Mentouri Constantine. 123 p.
- **Bestandji, I. et Daci, H. (2016).**Diagnostic des infections à Streptococcus sp. Thèse de Master, Université des Frères Mentouri Constantine. 89p.
- **Bizot, M. et Corbiere, S. (2006).** Les staphylocoques à coagulase négative dans l'écosystème des salaisons. P : 11 et 13.
- **Bonacorsi, S. (2011).** « Bactériologie médicale Technique usuelles », 2ème édition, Masson, Paris, Examen cyto bactériologique des urines(ECBU), chapitre 18 :180, 186.
- **Bounouira. (2015).** Thèse pour l'obtention de Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. Les gels, aspects théoriques et Applications. Université MOHAMMED V – RABAT 2015.
- **Bourdon, TL. et Marchal, N. (1973).** Techniques Bactériologiques. Dion. 335p.
- **Boyce, JM. et Pittet, D. (2002).** Guideline for Hand Hygiene in Health Care Settings Recommendations of the Health care Infection Control Practices - Advisory Committee and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA - Hand Hygiene Task Force. MMWR/CDC2002;51
- **Camille, Delarras. (2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Lavoisier. Editions TEC and DOC. 11, rue la voisier F-75008 Paris : 2007 ; p463.ISBN : 978-2-714-30-0945-8
- **CCLIN. (2000).** Sud-ouest. Le bon usage des antiseptiques, 2000/2001.Disponible sur : <http://www.cclin-sudouest.com/recopdf/atsp2p.pdf> Consulté le 03/06/11.
- **Cherafa, I. et Ziadi Chibane, M. (2017).** Isolement des bactéries en milieu hospitalier et l'étude de la résistance aux antibiotiques.
- **Cgarrs. (2020).** Comité de gérance des antimicrobiens des régions régionales de la santé du Nouveau-Brunswick, octobre 2020.

- **Courvaline, P. et Leclreq, R. (2012).** AntibioGramme. 3ème édition. ESKA. Paris. P: 48, 49.
- **Darbord. (2003).** Désinfection et stérilisation dans les établissements de soins, 5ème édition. Masson, 2003, -273p.
- **DCCP. (2002).** Guideline for Hand Hygiene in Health-Care Settings, Centers for Disease Control and Prevention, 2002 (disponible sur http://www.premierinc.com/safety/topics/guidelines/downloads/03_cdchandhygfinal02.pdf,
- **Delarras, C. (2014).** Pratique en microbiologie de laboratoire recherche de bactéries et de levures-moisissures. Paris : Lavoisier-Tec & Doc
- **Denis, F., Ploy, M.C., Martin, C et Cattoir, V. (2016).** Bactériologie médicale : techniques usuelles. 3ème édition. 600p.
- **Denis, F., Ploy, M.C., Martin, C., Bingen, É et Quentin, R. (2011).** Bactériologie médicale : techniques usuelles. 2ème édition. Issy-les-Moulineaux : Elsevier-Masson
- **Dubois. (2008).** La peau, de la santé à la beauté. Notions de dermatologie et de dermocosmétologie. Privat, 2008, -204p
- **Edmonds., Nurinova., Zapka., Fierer., Wilson. (2015).** Review of human hand microbiome research. J Dermatol Sci. oct 2015;80(1):312.
- **El Manni, H., Meziane, M., Taha, B et Aboutaieb, E. (2004).** L'examen des urines pour le diagnostic de l'infection urinaire ; Esperance médicale, 22:15-16.
- **Eyquem, A., Alouf, J et Montagnier, L. (2000).** Traité de microbiologie clinique : deuxièmes mises à jour et compléments. 2ème édition. Padoue, Italie : Piccin.
- **Flandrois, J.P. (1998).** Bactériologie médicale. Lyon : Presses universitaires de Lyon.
- **Fleurette. (1995).** Les flores microbiennes de la peau et des muqueuses. In : Antisepsie et désinfection. Fleurette J., Freney J., Reverdy M.E. Eds., ESKA, Paris, 1995, 362-403.
- **Fournier. (2013).** La Flore Cutanée. Unité de Recherche sur les Maladies Infectieuses et Tropicales Emergentes. Institut Hospitalo-Universitaire Méditerranée-Infection; 2014.
- **Garnier. (2010).** Thèse pour l'obtention de Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. Les produits hydro-alcooliques : de l'hôpital au grand public, synthèse des informations à l'usage du pharmacien. Université Joseph Fourier de Grenoble 2010.
- **Grice, Segre. (2011).** The skin microbiome. Nat Rev Microbiol. avr 2011;9(4):244-53.
- **Grosjean, M. et Lacoste, M. (1999)** Communication et intelligence collective: le travail à l'hôpital. Presses Universitaires de France-PUF.
- **Grosset. (2004).** Hygiène hospitalière [en ligne]. Tours, France. Faculté de médecine de Tours, juin 2004. Adresse URL : <http://www.med.univ-tours.fr/enseign/santepub/doc-ped/prevention/prevention-IN/lavage-mains.html>
- **Hajna, A. A. (1945).** Triple Sugar Iron medium for the identification of the intestinal group of bacteria. Journal of bacteriology 49 : 516 – 517.
- **Harrath, M. et Djebiha, S. (2014).** Profil bactériologique des exacerbations aiguës des bronchopneumopathies chroniques obstructives (EABPCO).
- **Aurore, V Masson. (2009).** Evaluation per-opératoire de l'efficacité d'un savon antiseptique à base de chlorhexidine sur la désinfection des mains. P 30 et 31

- **Haxhe et Zumofen. (2000).** Hygiène des mains [en ligne].Faculté de médecine, Université catholique de Louvain, UCI Bruxelles, octobre 2000 . Adresse URL : <http://www.md.ucl.ac.be/didac/hosp/cours/mains.htm>
- **Joffin, J JN. et Leyrol., G. (2001).** Microbiologie Technique 1 : dictionnaire des techniques. 3ème éditions. CRDP d'Aquitaine. 320p
- **Kebieche, I., Adjeroud, L. et Ksouri, I. (2020).** Le Rhumatisme articulaire aigu prélèvements de gorge et du sang dans la région de GUELMA.
- **Kirat, H. et Agabi, R. (2020).** Etude du profil microbiologique des germes impliqués dans les infections génitales basses dans la région de Guelma.
- **Kongolo, N. (2015).**Prévalence des infections respiratoires supérieures chez les enfants de 0 à 15 ans. Mémoire de master en sciences biomédicales, Université Kalemie, Congo.105p.
- **Lanotte, P., Mereghetti, L et Quentin, R. (2011).** Bactériologie médicale Technique usuelles, 2ème édition, Masson, Paris, Démarche de l'examen bactériologique, 158p.
- **Lejeune., Aho Glele., Barbut., Ertzscheid., Foegle., Hajjar., Lasheras., Rogues., Segurier. (2008).** L'hygiène des mains en questions. Ektopic, 2008, -107p.
- **Leyral, G., Joffin, J.N et Boineau, F. (1998).** Microbiologie technique : Documentation technique. 2ème édition. Bordeaux (France) : Centre Régional de Documentation Pédagogique.
- **LMp. (2010).** Laboratoire Meda pharma.Guide pratique Bétadine, 2010, -71p
- **Madi. (2018).** Préparation et caractérisation d'une formule d'un gel hydroalcoolique
- **Mami, A. (2013).**Recherche des bactéries lactiques productrices de bactériocines large spectred'actionvis-a-visdesgermesimpliquésdanslestoxi-infectionsalimentairesenAlgérie.Thèse de doctorat en microbiologie appliquée, Université d'Oran.176p.
- **Masson. (2009).** Evaluation peropératoire de l'efficacité d'un savon antiseptique à base de Chlorhexidine sur la désinfection des mains.
- **MES. (1998).** Ministère de l'Emploi et de la Solidarité. Circulaire DGS/DH n° 98-249 du 20 avril 1998 relative à la prévention de la transmission d'agents infectieux véhiculés par le sang ou les liquides biologiques lors des soins dans les établissements de santé. Annexe II. Bulletin officiel n° 25 du 20 avril 1998, 1-13.
- **Meziani, M. (2012).** Contribution du diagnostic biochimique bactérien dans l'établissement des parentés phylogénétiques : Cas des Entérobactéries et Pseudomonas Mémoire de Magister .Université Mentori. Constantine P : 30 ,32 69 Microbial. Infect. 10:12-13.
- **Nakatsuji., Chiang., Jiang., Nagarajan., Zengler., Gallo. (2013).** The microbiome extends to subepidermal compartments of normal skin. Nat Commun. 5 févr 2013;4:1431.
- **OMS. (2009).** Guide d'hygiène des mains 'l'organisation mondiale de la santé'. Hygiène des mains pourquoi, comment et quand Révision : août 2009.
- **OMS. (2005).** Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale. 4ème édition. Ministère de la santé, de la population et de la réforme hospitalière.
- **OMS. (2009).** Guide de Production locale :Formulations des Produits hydro-alcooliques recommandés par l'OMS.

- **OMS.** Guide de production de formulation des produits hydroalcoolique recommandé par l'OMS.
- **Pittet., Hugonnet., Harbarth *et al.*, (2000).** Effectiveness of a hospital-wide programme to improve compliance with hand hygiene. *Infection Control Programme. Lancet* 2000;356:1307-1312
- **Pittet, Sax, Hugonnet, Harbarth, (2004).** Cost implications of successful hand hygiene promotion. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2004;25:264-266.
- **Qobebi. (2019).** Enquête sur les mesures d'asepsie prise par les médecins généralistes sur TANGER.
- **Samake et Diallo. (2011).** Thèse pour l'obtention de Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. Mise en place de la stratégie multimodale de l'OMS pour La promotion de l'hygiène des mains au chu Gabriel Touré dans le département de médecine : état des lieux.. Université des sciences, des techniques et des technologies de BAMAKO, 2011 /2012.
- **SFHH. (2009).** Recommandations Hygiène des mains 2009. *Hygiènes* 2009;XVII.
- **SFM. (2018).** Société Française de Microbiologie. Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (CA-SFM). Paris.
- **Singleton, P. (2008).** Bactériologie de la médecine, la biologie et les biotechnologies. DUNOD. Belgique. P : 418.
- **Singleton, P. (2005).** Bactériologie : pour la médecine, la biologie et les biotechnologies : cours. 6ème édition. Paris : Dunod.
- **Solbi, S. (2013).** Effet du repiquage de *Pseudomonas aeruginosa* sur les caractères morphologiques, biochimiques et sensibilité aux antibiotiques. Thèse de doctorat en pharmacie, Université Mohammed V de Rabat. 116p.
- **Sournia, JC. (1992).** Histoire de la médecine, Paris, Edition La Découverte, 1992, 222-243
- **Springinsfeld. (2009).** Thèse pour l'obtention de Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. Mécanismes de gélification et comportement rhéologique d'émulsions d'alcane partiellement cristallisés. Université PIERRE ET MARIE CURIE – PARIS VI 2009.
- **Torres, C. (2012).** L'effet du repiquage de *Klebsiella pneumoniae* sur les caractères morphologiques, biochimiques et sensibilité aux antibiotiques. Thèse de doctorat en pharmacie, Université Mohammed V de Rabat. 125p
- **Travkine. (2012).** Thèse pour l'obtention de Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. L'intérêt des produits hydro-alcooliques en milieu hospitalier, collectivité et milieu individuel et familial. Université de LORRAINE 2012.
- **WHO. (2009).** Guide de Mise en Œuvre de la Stratégie multimodale de l'OMS pour la Promotion de l'Hygiène des Mains
.http://whqlibdoc.who.int/hq/2010/WHO_IER_PSP_2009.02_fre.pdf .
- **WHO. (2010).** Résumé des Recommandations de l'OMS pour l'Hygiène des Mains au cours des Soins- Premier Défi Mondial pour la Sécurité des Patients: Un Soins propre est un Soins plus sûr. Genève- Organisation mondiale de la Santé 2010 disponible sur.
http://whqlibdoc.who.int/hq/2010/WHO_IER_PSP_2009.07_fre.pdf. 2010.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **WHO. (2009).** WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO Guidelines on Hand Hygiene in Health Care, 2009 Disponible sur : http://whqlibdoc.who.int/publications/2009/9789241597906_eng.pdf
- **Yves et Lowe. (2010).** Sélection des solutions hydro-alcooliques en milieu de soins.
- **Zouaoui, Z., Errouane, S et A. Kendi, A. (2016).** Les infections associées aux soins et l'hygiène des mains. 3^{ème} journée de l'infirmier en hématologie.

Webographie :

- [1] : <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-maladies/2598700-solutions-gel-hydroalcoolique-coronavirus-covid-19-achat-composition-precaution-prix-efficacite-norme/>
- [2] : <https://devsante.org/articles/1-homme-et-les-micro-organismes>
- [3] : http://www.afssaps.fr/var/afssaps_site/storage/original/application/ab1c0695739af2bb39b92f8766402db6.pdf .
- [4] : <https://www.ladepeche.fr/2020/06/19/gel-hydroalcoolique-attention-aux-dangers-du-soleil,8939974.php>
- [5] : <https://microbiologie-clinique.com/Bouillon-nutritif.html>
- [6] : Campus de Microbiologie - Collégiale des enseignants de bactériologie-virologie- hygiène (2010-2011) UMVF - Université Médicale Virtuelle Francophone disponible sur http://campus.cerimes.fr/microbiologie/enseignement/microbiologie_4b/site/html/6.html(Consulté le 12/05/2020)
- [7] : Vaucouleurs Nicolas. Gélose nutritive disponible sur : https://docs.google.com/viewer?a=v&pid=sites&srcid=ZGVmYXVsdGRvbWFpbntaWNYb2Jpb2xvZ2l1Y291cnN8Z3g6MTE2M2EzYjQ3ZGJkMWQ1NA&fbclid=IwAR2WBT5yQ_2c zZd
- [8] : <https://www.bioutils.ch/protocoles/5-la-coloration-de-gram>
- [9] : <http://www.bioltrop.fr/spip.php?article158>
- [10] : <http://tpeinfectionsnosocomiales.e-monsite.com/pages/conclusion>
- [11] : <https://microbiologie-clinique.com/TSI.html>
- [12] : <https://microbiologie-clinique.com/milieuxcultures.html>
- [13] : <https://microbiologie-clinique.com/antibiogramme.html>

Annexe 02 :

Tableau 22. Propriétés des principales familles d'antiseptiques à l'exception des biguanides et des ammoniums quaternaires (Aurore, 2009).

Famille d'antiseptique	Mécanisme d'action	Délai d'action	Indications	Stabilité	Présentation
Halogénés chlorés	Destruction de protéines par pouvoir oxydant	1 minute	Antiseptie de la peau, des muqueuses et des plaies	Antagonisme, inactivation avec autres antiseptiques	Solution de Dakin stabilisé, usage externe
Halogénés iodés (povidone iodée)	Destruction de protéines enzymatiques et membranaires par pouvoir oxydant Inhibition par matières organiques	5 minutes <i>in vitro</i> 1 minute <i>in vivo</i>	Détersion, antiseptie de la peau et des muqueuses saines ou lésées Lavages antiseptique et chirurgical des mains Douche pré-opératoire Détersion du champ opératoire	Incompatibilité avec les réducteurs Inactivé par thiosulfate de sodium Instable à la chaleur, à la lumière et à pH alcalin	Savon Solution aqueuse Solution alcoolique
Alcools	Dénaturation des protéines bactériennes par leur coagulation Inhibition par matières organiques	2 minutes <i>in vivo</i> (si peau humide)	Antiseptie de la peau saine pour actes peu invasifs (sites d'injection, prélèvements sanguins) Désinfection hygiénique ou chirurgicale des mains préalablement savonnées (produits hydro-alcooliques)		Alcool éthylique de 60 à 70° Solutions et gels hydro-alcooliques
Diamidine (Hexamidine)	Propriétés tensio-actives	5 minutes <i>in vitro</i>	Traitement d'appoint des affections dermatologiques		Solution dermique Poudre
Oxydants (peroxyde d'hydrogène)	Action mécanique de nettoyage grâce à effervescence Inactivation par matières organiques		Nettoyage à visée antiseptique de la peau érodée et des petites plaies		Solution à usage externe
Colorants	Propriétés insuffisantes pour le milieu médical				
Carbanilides			Détersion de la peau et de la muqueuse vaginale	Incompatibilités avec dérivés cationiques Toxicité si dilution avec eau chaude Trop forte concentration favorise dermatites irritatives et dessèchement cutané	Solution à usage externe

Annexe 03 :

Tableau 23. Spectre d'activité des principales familles d'antiseptiques à l'exception des biguanides et les ammoniums quaternaires (Aurore, 2009).

Familles d'antiseptiques		Spectre d'activité des principales familles d'antiseptiques							
		Gram+	Gram-	Mycobactéries	Levures	Moisissures	Virus nus	Virus enveloppés	Spores
Halogénés	Chlorés (Dakin®)	Bonne	Bonne	Bonne	Bonne	Bonne	Bonne	Bonne	Bonne
	Iodés (PVPI, alcool iodé)	Bonne	Bonne	Bonne	Bonne	Bonne	Bonne	Bonne	Bonne
Alcools (Ethanol à 70°, alcool isopropylique à 60°)		Bonne	Bonne	Bonne	Variable	Variable	Variable	Bonne	Mauvaise
Diamidine (Hexamidine)		Variable	Mauvaise	Mauvaise	Mauvaise	Mauvaise	Mauvaise	Mauvaise	Mauvaise
Oxydants (Eau oxygénée 3%)		Bonne	Bonne	Mauvaise	Non documentée	Bonne	Variable	Bonne	Mauvaise
Colorants		Mauvaise	Mauvaise	Mauvaise	Mauvaise	Mauvaise	Mauvaise	Mauvaise	Mauvaise
Carbanilides		Mauvaise	Mauvaise	Mauvaise	Mauvaise	Mauvaise	Mauvaise	Mauvaise	Mauvaise

Annexe 04 : Compositions des milieux.**Tableau 24.** Compositions du bouillon nutritif.

Composition	(g/L)
Peptones	10,0
Hydrolysate de caséine	5,0
Chlorure de sodium	5,0
Eau distillée	1000ml
pH (25°C) 7,2 ± 0,2	

Tableau 25. Compositions de la gélose nutritive.

Compositions	(g/L)
Extrait de viande de bœuf	1,0
Extrait de levure	2,0
Peptone	5,0
Chlorure de sodium	5,0
Agar	15,0
Eau distillée	1000ml
PH : 7,4 +/- 0,2	

Tableau 26. Compositions de la gélose Hektoen.

Composition	(g/L)
Peptone pepsique de viande	12,0
Extrait autolytique de levure	3,0
Lactose	12,0
Saccharose	12,0
Salicine	2,0
Sels biliaires	9,0
Chlorure de sodium	5,0
Thiosulfate de sodium	5,0
Citrate ferrique ammoniacal	1,5
Bleu de Bromothymol	0,065
Fuchsine acide	0,04
Agar bactériologique	13,5
Eau distillée	1000 ml
pH (25°C) 7,6 ± 0,2	

Tableau 27. Compositions de la gélose SS.

Composition	(g/L)
Peptone	5,0
Extrait de viande	5,0
Sels biliaires	8,5
Vert brillant	0,033
Lactose	10,0
Rouge neutre	0,25
Thiosulfate de sodium	8,5
Citrate ferrique ammoniacal	1,0
Citrate de sodium	8,5
Agar	15,0
Eau distillée	1000ml
pH = 7,3	

Tableau 28. Compositions de la gélose Mac Conkey.

Composition	(g/L)
Peptone	20,0
Sels biliaires n°3	1,0
Cristal violet	0,001
Lactose	10,0
Rouge neutre	0,05
Chlorure de sodium	5,0
Agar	15,0
Eau distillée	1000ml
pH = 7,1	

Tableau 29. Composition de la gélose Columbia au sang frais (+ 5% sang du mouton).

Composition	(g/L)
Polypeptones	23,0
Amidon de maïs	1,0
Chlorure de sodium	5,0
Agar bactériologique	13,5
Eau distillée	1000 ml
pH (25°C) 7,3 ± 0,2	

Tableau 30. Composition de la gélose Chapman au Mannitol.

Composition	(g/L)
Tryptone	5,0
Peptone de viande	5,0
Extrait de viande	1,0
Mannitol	10,0
Chlorure de sodium	75,0
Rouge de phénol	0,025
Agar bactériologique	15,0
Eau distillée	1000 ml
pH (25°C) 7,4 ± 0,2	

Tableau 31. Composition de la gélose King A.

Composition	(g/L)
Peptone de gélatine	16,0
Peptone de caséine	10,0
Cétrimide	0,2
Acide nalidixique ou pas	0,15
Sulfate de potassium	10,0
Chlorure de magnésium	1,4
Agar	10,0
Eau distillée	1000ml
pH = 7,1	

Tableau 32. Composition de la gélose Mueller-Hinton.

Composition	(g/L)
Peptone de caséine acide	17,5
Extrait de viande	2,0
Amidon soluble	1,5
Agar bactériologique	17,0
Eau distillée	1000 ml
pH (25°C) 7,3 ± 0,2	

Tableau 33. Composition du bouillon de Cœur-cervelle.

Composition	(g/L)
Extrait cœur-cervelle	17,5
Peptone pancréatique de gélatine	10,0
Glucose	2,0
Phosphate disodique	2,5
Chlorure de sodium	5,0
Eau distillée	1000 ml
pH (25°C) 7,4 ± 0,	

Tableau 34. Composition du Triple Sugar Iron Agar.

Composition	(g/L)
Extrait auto-lytique de levure	3,0
Extrait de viande	3,0
Peptone	20,0
Chlorure de sodium	5,0
Lactose	10,0
Saccharose	10,0
Glucose	1,0
Thiosulfate de sodium	0,3
Citrate de fer (III)	0,3
Rouge de phénol	0,24
Agar bactériologique	9,0
Eau distillée	1000ml

Annexe 05 : Réactifs et colorants**Tableau 35.** Composition du Violet de Gentiane.

Composition	
Violet de gentiane	1g
Ethanol à 90%	1ml
Phénol	2g
Eau distillée	100ml

Tableau 36. Composition du Lugol.

Composition	
Iode	1g
Iodure de potassium	2g
Eau distillée	100ml

Tableau 37. Composition du Fuschine.

Composition	
Fuchsine basique	1g
Alcool éthylique	100ml
Phéno	15g
Eau distillée	100ml

Tableau 38. Composition du réactif TDA (pour la recherche de tryptophane désaminase).

Composition	
Perchlorure de fer	3.4g
Eau distillée	100ml

Tableau 39. Composition du réactif Kovacs (pour la recherche de l'indole).

Composition	
Paradiméthylaminobenzaldéhyde	5.0 g
Alcool isoamylique	75.0 ml
HCL 37%	25.0 ml

Tableau 40. Réactif VPI (pour la recherche de l'acétoïne).

Composition	
Hydroxyde de potassium	40g
Eau distillée	100ml

Tableau 41. Composition du réactif VPII (pour la recherche de l'acétoïne).

Composition	
Alpha naphthol	6g
Ethanol	100ml

Tableau 42. Composition du réactif NIT I (pour la recherche du nitrate réductase).

Composition	
Acide sulfamilique	0.8 g
Acide acétique 5N	100 ml

Tableau 43. Composition du réactif NIT II (pour la recherche du nitrate réductase).

Composition	
Naphtylamine	0.5 g
Acide acétique 5N	100 ml

Annexe 05 :

Tableau 44. Interprétation de la coloration de Gram (Cgarrs, 2020).

Morphologie des bactéries	Organisme le plus probable
Gram positif	
Cocci en grappes ou en amas	<i>Staphylococcus aureus</i> Staphylocoque à coagulase négative – Exemples : <i>S. epidermidis</i> , <i>S. lugdunensis</i> , <i>S. hominis</i> , <i>S. warneri</i> , <i>S. saprophyticus</i> , <i>S. haemolyticus</i> , etc. <i>Micrococcus</i> <i>Aerococcus</i>
Cocci groupés par deux ou en chaînettes	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (communément, diplocoques à Gram) positif Streptocoques du groupe viridans – Exemples : <i>S. mitis</i> , <i>S. sanguinis</i> , <i>S. salivarius</i> , <i>S. oralis</i> , <i>S. bovis</i> , groupe Anginosus (<i>S. anginosus</i> , <i>S. constellatus</i> , <i>S. intermedius</i>) Streptocoques pyogènes bêta-hémolytiques (groupes A, B, C, F, G) <i>Enterococcus</i> – Exemples : <i>E. faecalis</i> , <i>E. faecium</i> Plus rare : <i>Gemella</i> (parfois observer en grappe), <i>Abiotrophia</i> , <i>Granulicatella</i> Cocci anaérobies
Bacilles – petits, non sporulés	<i>Corynebacterium</i> <i>Cutibacterium</i> (précédemment <i>Propionibacterium</i>) <i>Listeria</i> Bacilles anaérobies gram positif
Bacilles – grands, sporulés ou non sporulés	<i>Bacillus</i> <i>Clostridium</i> <i>Lactobacillus</i>
Bacilles – branchés/perlés/filamenteux	<i>Nocardia</i> et autres actinomycètes aérobies <i>Actinomyces</i> <i>Mycobacterium tuberculosis</i> atypique
Levures et pseudohyphes	<i>Candida</i>
Gram négatif	
Bacilles	Entérobactériacées – Exemples : <i>Escherichia coli</i> , <i>Serratia</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Citrobacter</i> , <i>Morganella</i> , <i>Proteus</i> , <i>Providencia</i> , <i>Salmonella</i> , etc. Bacille non fermentant – Exemples : <i>Pseudomonas</i> , <i>Stenotrophomonas</i> , etc. <i>Legionella</i> Bacilles gram négatif anaérobie – Exemples : <i>Bacteroides</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Porphyromonas</i>
Coccobacilles/bacilles pléomorphes	<i>Haemophilus</i> <i>Acinetobacter</i> (peut être confondu avec un cocci Gram positif) <i>Pasteurella</i> <i>Aggregibacter</i> (précédemment <i>Actinobacillus</i> , <i>Haemophilus aphrophilus</i>) <i>Eikenella corrodens</i> <i>Kingella</i> <i>Francisella tularensis</i> <i>Brucella</i> Autres coccobacilles anaérobies gram négatif
Bacilles fusiformes	<i>Fusobacterium</i> <i>Capnocytophyga</i>
Bacilles courbés ou spirallés	<i>Campylobacter</i> <i>Vibrio</i>
Diplocoques	<i>Neisseria</i> – Exemples : <i>N. meningitidis</i> , <i>N. gonorrhoeae</i> <i>Moraxella catarrhalis</i>
Cocci	<i>Veillonella</i>

Annexe 06 : Tableaux de lecture des API

Tableau 45. Tableau d lecture galerie API 20 E (Leyral *et al.*, 1998).

TESTS	SUBSTRATS	REACTIONS/ENZYMES	RESULTATS	
			NEGATIF	POSITIF
ONPG	ortho-nitro-phenyl-galactoside	beta-galactosidase	incolore	jaune (1)
ADH	arginine	arginine dihydrolase	jaune	rouge/ orangé (2)
LDC	lysine	lysine décarboxylase	jaune	orangé
ODC	ornithine	ornithine décarboxylase	jaune	rouge/ orangé (2)
ICIT	citrate de sodium	utilisation du citrate	vert pâle/ jaune	bleu-vert / bleu (3)
H ₂ S	thiosulfate de sodium	production d'H ₂ S	incolore/ grisâtre	dépôt noir/ fin liseré
URE	urée	uréase	jaune	rouge/ orangé
TDA	tryptophane	tryptophane desaminase	TDA / immédiat	
			jaune	marron foncé
IND	tryptophane	production d'indole	JAMES/ immédiat ou IND/ 2 mn	
			JAMES incolore Vert pâle-jaune	JAMES rose
			IND jaune	IND Anneau Rouge
VP	pyruvate de sodium	production d'acétone	VP 1 + VP 2 / 10 mn	
			incolore	rosé-rouge
GEL	gélatine de Kohn	gelatinase	non diffusion	diffusion du pigment noir
GLU	glucose	fermentation/ oxydation (4)	bleu/ bleu-vert	Jaune
MAN	mannitol	fermentation/ oxydation (4)	bleu/ bleu-vert	Jaune
INO	inositol	fermentation/ oxydation (4)	bleu/ bleu-vert	Jaune
SOR	sorbitol	fermentation/ oxydation (4)	bleu/ bleu-vert	Jaune
RHA	rhamnose	fermentation/ oxydation (4)	bleu/ bleu-vert	Jaune
SAC	saccharose	fermentation/ oxydation (4)	bleu/ bleu-vert	Jaune
MEL	melbiose	fermentation/ oxydation (4)	bleu/ bleu-vert	Jaune
AMY	amygdaline	fermentation/ oxydation (4)	bleu/ bleu-vert	Jaune
ARA	arabinoose	fermentation/ oxydation (4)	bleu/ bleu-vert	Jaune
OX	sur papier filtre	cytochrome-oxydase	OX / 1-2 mn	
			incolore	violet
NO ₃ -NO ₂	tube GLU	production de NO ₂	NIT 1 + NIT 2 / 2-3 mn	
			jaune	rouge
		réduction au stade N ₂	Zn	
			rouge	jaune
MOB	(RPI M) (microscope)	mobilité	immobile	mobile
MAC	milieu de MacConkey	culture sur	absence	présence
OF	glucose (RPI OF)	fermentation : sous huile oxydation : à l'air	vert	jaune jaune

Tableau 46. Tableau d lecture galerie API 20 STREP (Leyral *et al.*, 1998).

TESTS	SUBSTRATS	REACTIONS/ENZYMES	RESULTATS			
			NEGATIF		POSITIF	
VP	Pyruvate	Production d'acétoïne	VP 1 + VP 2 / jusqu'à 10 min (3)			
			Incolore		Rose-Rouge	
HIP	Hippurate	Hydrolyse	NIN / jusqu'à 10 min			
			Incolore/Bleu pâle		Bleu foncé/Violet	
ESC	Esculine	β -glucosidase	4 h	24 h	4 h	24 h
			Incolore Jaune pâle	Incolore Jaune pâle Gris clair	Noir Gris	Noir
PYRA	Pyrrolidonyl 2 naphthylamide	Pyrrolidonyl arylamidase	ZYM A + ZYM B / 10 min (PYRA à LAP) (1) au besoin décoloré par éclaircissement intense			
			Incolore ou Orange très pâle		Orange	
α GAL	6-Bromo-2-naphtyl α -D-galactopyranoside	α -galactosidase	Incolore		Violet	
β GUR	Naphtol AS-BI β -D-glucuronate	β -glucuronidase	Incolore		Bleu	
β GAL	2-naphtyl- β -D- galactopyranoside	β -galactosidase	Incolore ou Violet très pâle		Violet	
PAL	2-naphtyl phosphate	Phosphatase alcaline	Incolore ou Violet très pâle		Violet	
LAP	L-leucine-2-naphtylamide	Leucine arylamidase	Incolore		Orange	
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune		Rouge	
			4 h	24 h	4 h	24 h
<u>RIB</u>	Ribose	Acidification	Rouge	Orange/Rouge	Orange/Jaune	Jaune
<u>ARA</u>	L-Arabinose	Acidification	Rouge	Orange/Rouge	Orange/Jaune	Jaune
<u>MAN</u>	Mannitol	Acidification	Rouge	Orange/Rouge	Orange/Jaune	Jaune
<u>SOR</u>	Sorbitol	Acidification	Rouge	Orange/Rouge	Orange/Jaune	Jaune
<u>LAC</u>	Lactose	Acidification	Rouge	Orange/Rouge	Orange/Jaune	Jaune
<u>TRE</u>	Trehalose	Acidification	Rouge	Orange/Rouge	Orange/Jaune	Jaune
<u>INU</u>	Inulin	Acidification	Rouge	Orange/Rouge	Orange/Jaune	Jaune
<u>RAF</u>	Raffinose	Acidification	Rouge	Orange/Rouge	Orange/Jaune	Jaune
<u>AMD</u>	Amidon (2)	Acidification	Rouge	Orange/Rouge	Orange/Jaune	Jaune
<u>GLYG</u>	Glycogène	Acidification	Rouge ou Orange		Jaune franc	

Tableau 47. Tableau de lecture galerie API 20 NE (Leyral *et al.*, 1998).

TESTS	SUBSTRATS	REACTIONS/ENZYMES	RESULTATS	
			NEGATIF	POSITIF
NO ₃	nitrate de potassium	réduction des nitrates en nitrites	NIT 1 + NIT 2 / 5 min incoloré rose-rouge	
		réduction des nitrates en azote	Zn / 5 min rose incolore	
TRP	tryptophane	formation d'indole	JAMES / immédiat incoloré vert pâle / jaune rose	
GLU	glucose	fermentation	bleu à vert	jaune
ADH	arginine	arginine dihydrolase	jaune	orange / rose / rouge
URE	urée	uréase	jaune	orange / rose / rouge
ESC	esculine	hydrolyse (β-glucosidase)	jaune	gris / marron / noir
GEL	gélatine (à l'encre de chine)	hydrolyse (protéase)	pas de diffusion du pigment	diffusion du pigment noir
PMPG	p-nitrophényl-β-D-galactopyranoside	β-galactosidase	incoloré	jaune
[GLU]	glucose	assimilation	transparence	trouble
[ARA]	arabinose	assimilation	transparence	trouble
[MNE]	mannose	assimilation	transparence	trouble
[MAN]	mannitol	assimilation	transparence	trouble
[NAG]	N-acétyl-glucosamine	assimilation	transparence	trouble
[MAL]	maltose	assimilation	transparence	trouble
[GNT]	gluconate	assimilation	transparence	trouble
[CAP]	caprate	assimilation	transparence	trouble
[ADI]	adipate	assimilation	transparence	trouble
[MLT]	malate	assimilation	transparence	trouble
[CIT]	citrate	assimilation	transparence	trouble
[PAC]	phényl-acétate	assimilation	transparence	trouble
OX	tétraméthyl-p-phenylène diamine	cytochrome-oxydase	OX / 1-2 min incoloré violet	

Annexe 07 : Résultats des galeries API

- Galerie API 20 E :



Figure 44. *Citrobacter freundii*.



Figure 45. *Enterobacter amnigenus 1*.

- Galerie API 20 NE :



Figure 46. *Aeromonas hydrophila*.



Figure 47. *Psychrobacter phenylpyruvicus*.

- Galerie STREP :



Figure 48. *Enterococcus durans*.