

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République algérienne démocratique et populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
جامعة عين تموشنت بلحاج بوشعيب
Université –Ain Temouchent- Belhadj Bouchaib
Faculté des Sciences et de Technologie
Département des Sciences de la Nature et de la Vie



Projet de Fin d'Etudes
Pour l'obtention du diplôme de Master en : Biochimie
Domaine : Sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biochimie
Thème

Formulation et évaluation de l'activité antifongique des solutions hydro-alcooliques

Présenté Par :

- 1) M. BAKHTI ahmed sami
- 2) M. AZZOUZ mohamed
- 3) M. AMAR BENSABER farouq

Devant le jury composé de :

Dr. Fatima Zohra MOGHTIT	M C B	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Examineur 1
Dr. Nassera GHAMBAZA	M C B	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Examineur 2
Dr. Ouassila BENHABIB	M C B	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Encadrant

Année Universitaire 2020/2021

Remerciement

*Nous remercions tout d'abord **Allah le tout puissant**, pour nous avoir donné la force et la patience pour pouvoir accomplir ce travail, car l'homme propose mais Allah dispose. Nous commençons par exprimer notre profonde reconnaissance et mes vifs*

*Je tiens particulièrement à remercier ma directrice de thèse, Madame **Ouassila BENHABIB**, Professeur à l'Université d'Ain temouchent qui nous a honorés en acceptant de diriger ce travail, pour ses encouragements, ses conseils et sa disponibilité. Elle trouve ici l'expression de notre profonde gratitude pour ses précieux conseils et ses encouragements.*

*Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury Madame **Fatima Zohra MOGHTIT** et Madame **Nassera GHAMBAZA** maitres de conférences à l'université d'Ain Témouchent, pour leur lecture attentive de ce mémoire, ainsi que pour les remarques qu'ils nous adresseront lors de cette soutenance afin d'améliorer notre travail, et nos enseignants, espérant que vous allez voir, dans ce manuscrit, les fruits du dévouement avec lequel vous avez fait preuve durant les enseignements que vous nous avez prodigué.*

Un grand merci à l'ensemble de nos familles et plus particulièrement à nos parents pour leurs amour, leurs confiance, leurs conseils ainsi que leurs soutien inconditionnel qui nous ont permis de réaliser les études pour lesquelles nous destinons et par conséquent ce mémoire.

*Nous remercions toutes nos connaissances et amis qui nous ont souhaité le meilleur et le succès dans nos vies, en particulier notre collègue **Hadjar KADDOUR AHMED**, pour son soutien et son encouragement au cours de la réalisation de ce mémoire.*

Nos sentiments de reconnaissances et nos remerciements vont également à l'encontre de toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail,

Le grand remercie va à tous les enseignants de notre carrière éducatif du primaire à l'université.

BAKHTI ahmed sami

AZZOUZ mohamed

AMAR BENSABAR farouq

Dédicace

C'est avec l'aide et la grâce de l'Allah que nous avons achevé ce modeste travail que nous dédions :

En ce jour mémorable pour moi je dédie ce travail à l'âme de mes grands-parents.

***BENALI Mohamed , BENCHERIF souiad, DJEBAR kaltoun, BAKHTI hammadi ,BOUSHABA dzajya et ma tante BAKHTI fatiha** que Dieu les accueille dans son vaste paradis.*

Avec un énorme plaisir et une immense joie, que je dédie ce travail à mes chères parentes, pour leurs sacrifices et leurs soutiens permanents pendant mes années d'études.

*A mon amour père **Saïd** Qui a été le premier à m'encourager à aller si loin dans mes études. J'ai voulu mener ce travail à terme pour que tu sois fier de moi.*

**je t'aime beaucoup papa **

*A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureux, mon adorable mère **Cherifa**.*

Durant mon enfance et même à l'âge adulte 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.

**Je t'aime très fort Mama **

*À mes chers frères **Djawed** et **Souhil** qui ont toujours été présents pour moi et qui m'ont toujours soutenu et encouragée.*

*A ma chère **KADDOUR AHMED Hadjar** qui occupe une place dans mon cœur, Depuis que je t'ai connu, tu n'as cessé de me soutenir et de m'épauler.*

*À mes tentes **BENALI khadidja** et **BENALI djazia**.*

*À mes oncles, **BENALI moustapha et mohamed , BAKHTI hassan et mohamed***

*A mes aimables amies **AZZOUZ Mohamed, ABDELNABI Seifeïne, Baghdouch Anouar.***

Sami

Dédicace

J'ai le grand plaisir de dédier ce modeste travail à tous ceux qui me sont chers :

A la mémoire de mes chers grands-parents, qu'ALLAH ait leurs âmes dans son vaste Paradis.

A mon père, Tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux, honnête, de la personne méticuleuse, je tiens à honorer l'homme que tu es.

Grâce à toi papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Je voudrais te remercier pour ton amour, ta générosité, ta compréhension.

A ma chère mère qui m'a entouré d'amour, d'affection et qui fait tout pour ma réussite, Quoi que je fasse ou que je dis, je ne saurai point te remercier comme il se doit, que dieu vous garde.

*A ma sœur **Amel** et mon frère **Abdelkader**, qui ont partagé avec moi tous les moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail. Ils m'ont chaleureusement supporté et encouragé tout au long de mon parcours.*

Je dédie ce travail aussi,

*A ma tante **BAKHTI Zahra** et **KHALDI Zoulikha**.*

*A mes oncles, **KHALDI Djamel** ; **AZZOUZ Mourad** et **AZZOUZ Ahmed**.*

*A tous mes collègues et amis particulièrement **BAKHTI Ahmed Sami**, **BENASKER Farés** et **KADDOUR AHMED Hadjar**.*

Mohamed





Dédicace

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

*A ma très chère mère **BENDJELLOUL Hakima**, qui me donne toujours l'espoir de vivre et qui n'a jamais cessé de prier pour moi.*

*A mon très cher père **AMARA BENSABER Omar**, pour ses encouragements, son soutien, surtout pour son amour et son sacrifice afin que rien n'entrave le déroulement de mes études.*

*A mon frère **Anas** et ma sœur **Soumia**, source de joie et de bonheur.*

A tous mes amis.

A tous les membres de ma famille, et tous qui ont participé à ma réussite.



Farouq

Résumé

Les solutions hydroalcooliques sont utilisées pour l'hygiène des mains, afin de prévenir le risque de transmission de microorganismes notamment les levures par contamination des mains.

Dans ce contexte, nous avons réalisé deux types de solutions hydroalcooliques (SHA). Une SHA formulée selon OMS (2010) et une autre SHA additionnée avec de l'huile essentielle (HE) de l'origan (*Origanum vulgare L.*). Ensuite, nous avons évalué l'activité antifongique *in vitro* de ces deux dernières vis-à-vis de *Candida albicans* IP444, souche de référence et *C. parapsilosis*, souche cliniquement isolée selon la technique d'inhibition par diffusion sur milieu solide.

Les résultats de notre étude ont révélé que la solution hydroalcoolique exerce une activité antifongique sur la souche de référence *C. albicans* et *C. parapsilosis* avec des zones d'inhibition de diamètres respectivement de 10mm et 12mm. En revanche, SHA présente, une activité très importante lorsqu'elle est associée à l'huile essentielle de l'origan (*Origanum Vulgare*) vis-à-vis de ces deux souches testées avec des diamètres d'inhibition 20 mm et 45 mm.

Notre formulation SHA+HE d'origan est à recommander pour l'hygiène des mains, puisqu'elle présente une extrême sensibilité des souches *Candida albicans* qui est une levure de la flore transitoire cutanée et *Candida parapsilosis* qui fait partie de la flore cutanée de la peau des mains.

Mots clés : Solution hydroalcoolique, Huile essentielle, Activité antifongique, *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, Origan (*Origanum Vulgare L.*).

Abstract

Hydroalcoholic solutions are used for hand hygiene, in order to prevent the risk of transmission of microorganisms, especially yeast, through hand contamination.

In this context, we made two types of hydroalcoholic solutions (SHA). One SHA formulated according to WHO (2010) and another SHA added with essential oil (EO) of oregano (*Origanum vulgare L.*). Then, we evaluated the in vitro antifungal activity of these two last ones against *Candida albicans* IP444, reference strain and *C. parapsilosis*, clinically isolated strain according to the technique of diffusion inhibition on solid medium.

The results of our study revealed that the hydroalcoholic solution exerts an anti-fungal activity on the reference strain *C. albicans* and *C. parapsilosis* with inhibition zones of 10 mm and 12 mm diameters respectively. On the other hand, SHA presents a very important activity when associated with the essential oil of oregano (*Origanum Vulgare*) against these two tested strains with inhibition diameters of 20 mm and 45 mm.

Our SHA+HE formulation of oregano is to be recommended for hand hygiene, since it is extremely sensitive to *Candida albicans*, which is a yeast of the transient skin flora, and *Candida parapsilosis*, which is part of the skin flora of the hands.

Keywords: Hydroalcoholic solution, Essential oil, Antifungal activity, *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, Origan (*Origanum Vulgare L.*).

تلخيص

تُستخدم المحاليل المائية الكحولية لتنظافة اليدين ، من أجل منع خطر انتقال الكائنات الدقيقة ، وخاصة الخمائر عن طريق تلوث اليدين.

في هذا السياق ، قمنا بإنتاج نوعين من المحاليل المائية الكحولية (SHA). تمت صياغة SHA وفقاً لمنظمة الصحة العالمية (2010) وأخرى SHA مضافاً إليها الزيت العطري (ET) من الأوريغانو (*Origanum vulgare L*). بعد ذلك ، قمنا بتقييم النشاط المضاد للفطريات في المختبر من النوعين الأخيرين ضد *Candida albicans* IP444 ، السلالة المرجعية و *C. parapsilosis* ، السلالة المعزولة سريريًا وفقاً لتقنية التثبيط عن طريق الانتشار على وسط صلب.

أظهرت نتائج دراستنا أن المحلول الكحولي المائي يمارس نشاطاً مضاداً للفطريات على السلالة المرجعية *C. albicans* و *C. parapsilosis* مع مناطق تثبيط بأقطار 10 مم و 12 مم على التوالي. من ناحية أخرى ، يقدم SHA نشاطاً مهماً للغاية عندما يرتبط بالزيت العطري للأوريغانو (*Origanum Vulgare*) مقابل هاتين السلالتين اللتين تم اختبارهما بأقطار تثبيط 20 مم و 45 مم.

يُنصح باستخدام تركيبة SHA + HE من الأوريغانو لتنظافة اليدين ، نظرًا لأنها تحتوي على حساسية شديدة لسلالات المبيضات البيضاء وهي خميرة من الفلورا الجلدية العابرة وشلل المبيضات وهو جزء من الفلورا الجلدية لجلد اليدين.

الكلمات المفتاحية: محلول مائي كحولي ، زيت عطري ، نشاط مضاد للفطريات ، المبيضات البيضاء ، داء المبيضات ، داء المبيضات ، أوريغانوم (*Origanum Vulgare L*).

Sommaire

Introduction.....	1
-------------------	---

Etude bibliographique

1	Hygiène des mains	2
2	Le rôle des mains dans la transmission des germes	2
3	Techniques de lavage des mains et leurs indications	3
4	Les solutions hydro-alcoolique et hygiène des mains	4
4.1	produits hydro-alcooliques	6
4.1.1	Les solutions hydro-alcooliques	6
4.1.2	Les gels hydro-alcooliques	6
4.1.3	Composition des solutions hydro-alcooliques (SHA).....	7
4.1.4	Formulations préconisées par l’OMS.....	8
5	Les avantages et les inconvénients des gels hydro-alcooliques.....	8
5.1	Les avantages	8
5.2	Les inconvénients des gels hydro-alcooliques.....	9
6	Les microorganismes présents sur les mains	9
6.1	Flore microbienne ou microbiote de la peau	9
7	Les levures <i>Candida</i>	11
7.1	<i>Candida albicans</i>	11
7.2	<i>Candida parapsilosis</i>	11

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

1	Evaluation de l'activité anti fongique de la SHA <i>in vitro</i>	12
1.1	Matériel biologique	12
1.2	Préparation d'une solution hydro-alcoolique.....	12
2	Evaluation de l'activité antifongique des solutions hydro-alcooliques.....	13

2.1	Technique de diffusion sur gélose.....	13
-----	--	----

Résultats et discussion

1	Evaluation de l'activité antifongique des solutions hydroalcooliques <i>in vitro</i>	15
	Conclusion	19
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	20

Liste des abréviations

% : pourcentage

°C : degré Celsius

μFC : Micro Fuel Cells

μl : microlitre

C. albicans : *Candida albicans*

C. parapsilosis : *Candida parapsilosis*

C₂H₆O: éthanol

C₃H₈O₃: Glycérol

cm: centimètre

Covid: Corona Virus

GHA : gels hydro-alcooliques

h : heure

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène

HE : huile essentielle

IAS : Infections associées aux soins

IPP : Institut Pasteur Paris

ml : millilitre

mm : millimètre

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PHA : produits hydro-alcooliques

s : seconde

SHA : solutions hydro-alcooliques

SRAS-CoV-2 : coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère

VIH : virus de l'immunodéficience humaine

WHO: World Health Organisation

LISTE DES FIGURES

Figure 1: friction hydro-alcoolique .	5
Figure 2 : <i>Candida parapsilosis</i> isolée cliniquement, ensemencé à partir d'une collection de souches.....	15
Figure 3: effet des disques sec sur <i>Candida albicans</i>	16
Figure 4: effet des disques sec sur <i>Candida parapsilosis</i>	16
Figure 5: L'activité antifongique de SHA+ HE l'origan vis-à-vis de <i>Candida parapsilosis</i> .	17
Figure 7: effet de la SHA sur <i>Candida parapsilosis</i> .	17
Figure 6: effet du mélange (SHA + Origon) sur <i>Candida parapsilosis</i> .	17

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Les différentes techniques d'hygiène des mains et leurs indications.	3
Tableau 2: Comparaison des différentes techniques d'hygiène des mains .	4

Introduction

Les mains sont parmi les principales sources de contagion lorsqu'elles touchent des surfaces et des personnes contaminées. Elles doivent être fréquemment désinfectées pour éviter la prolifération des microorganismes (OMS, 2010).

L'hygiène des mains est définie comme toute méthode retirant ou détruisant les microorganismes présents à la surface des mains (Widmer, 2000). Cependant, afin de la préserver, le nettoyage par lavage constant et correct à l'eau et au savon et/ou l'utilisation de désinfectants à base d'alcool, notamment des solutions hydro-alcooliques, sont les méthodes les plus recommandées (OMS, 2010).

En effet, l'utilisation des solutions hydro-alcooliques (SHA) pour la friction des mains a un rôle permettant de contrôler la transmission manu portée des microorganismes notamment des levures (Girard, 2008).

Bien que, la pandémie actuelle du covid 19 a mis l'accent sur l'hygiène des mains pour éviter la propagation du coronavirus SRAS cov-2, d'autres espèces microbiennes émergentes sont de plus en plus répandue. A savoir, les levures du genre *Candida*, responsables d'un large éventail de manifestations cliniques dont les infections candidosiques de pronostic redoutable et le plus souvent nosocomiales (Eggimann et Pittet, 2014).

La levure *Candida parapsilosis* fait partie du microbiote naturel qui constitue la peau (Nutrium, 2011). Cependant, elle expose au risque de contaminations manu portées (Develoux et Bretagne, 2005). Pour cela, une bonne hygiène des mains contribue à réduire ou à limiter le risque de transmission de cette levure. C'est dans ce contexte que s'inscrit notre étude qui a porté sur deux volets:

- Formulations de solution hydro-alcoolique seule et de solution hydroalcoolique additionnée de l'huile essentielle de l'origan. Sachant, que cette substance naturelle a un effet anticandidosique.

- Evaluation de l'activité antifongique de ces deux solutions préparées au laboratoire, vis-à-vis de *Candida albicans* IP444, souche de référence et *Candida parapsilosis* cliniquement isolée.

Etude
bibliographique

1 Hygiène des mains

Les mains sont à l'origine de la transmission de divers micro-organismes, tant ceux présents sur la peau saine, que ceux récoltés lors des soins (**Publication conseil supérieur de la santé, 2008**).

L'hygiène des mains fait partie des mesures préventives considérées comme très efficaces avec un haut niveau de preuve dans la lutte contre les infections liées aux soins de santé (**Uçkay et al, 2013**). Elle est donc indiquée chaque fois qu'il y a un risque de transfert de micro-organismes de la peau ou d'une surface inanimée vers une autre surface (**H.A.S, 2012**).

En effet, l'hygiène des mains est la mesure essentielle pour réduire les infections. Un geste simple, peut-être, mais auquel l'observance des professionnels soignants demeure problématique dans le monde entier (**WHO, 2009**).

2 Le rôle des mains dans la transmission des germes

Une bonne hygiène des mains vise à contrôler efficacement la prolifération de la flore cutanée au niveau des mains et ce, notamment, en éliminant la flore transitoire et en réduisant la flore commensale, elle veille à éliminer les salissures (**Publication conseil supérieur de la santé, 2008**).

Les micro-organismes germes à l'origine des infections associées aux soins sont des virus, des champignons notamment les levures du genre *Candida*, des parasites et, plus fréquemment, des bactéries. Aussi bien les micro-organismes présents sur la peau ou sur les muqueuses des patients (micro-organismes endogènes) que les micro-organismes transmis d'un patient à un autre, par le personnel soignant ou par l'environnement du patient (micro-organismes exogènes) sont à l'origine des IAS (**OMS, 2010**). Dans la plupart des cas, les mains du personnel soignant sont le véhicule de transmission des microorganismes au patient, néanmoins, les patients eux-mêmes peuvent également être à l'origine de contaminations (**OMS, 2010**).

3 Techniques de lavage des mains et leurs indications

On distingue plusieurs types de lavage ou de désinfection des mains d'efficacité, de technique et d'indications différentes (**Tableau N°1**). Le choix de la technique va dépendre du niveau de salissure des mains, du niveau de risque infectieux du geste qui va être ou qui a été réalisé et des équipements disponibles sur le lieu des soins (**Gilles *et al.*, 2009**).

Tableau 1: Les différentes techniques d'hygiène des mains et leurs indications.

Procédure	Technique	Indications
<p><u>Lavage simple :</u> Opération ayant pour but d'éliminer les salissures et de réduire la flore.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - mouiller les mains. - prendre une dose de savon liquide non désinfectant. - savonner 15 secondes au moins en insistant sur les espaces interdigitaux, le pourtour des ongles, les bords externes des mains. - rincer à l'eau du robinet. - sécher par tamponnement avec un essuie-mains à usage unique. - utiliser le dernier essuie-mains pour fermer le robinet. - jeter l'essuie-mains dans la poubelle. 	<ul style="list-style-type: none"> – en début et fin de journée. – entre deux activités non invasives. – systématiquement, entre deux patients ne présentant pas de risque infectieux identifié. – après un geste de la vie courante (après s'être mouché, être allé aux toilettes). – en présence de poudre sur les mains, au retrait des gants. – chaque fois que les mains sont visiblement souillées.
<p><u>Lavage hygiénique:</u> Opération ayant pour but d'éliminer ou de réduire la flore transitoire.</p>	<p>Même technique que pour le lavage simple mais :</p> <ul style="list-style-type: none"> - prendre une dose de savon liquide désinfectant. 	<ul style="list-style-type: none"> – après tout contact avec un objet ou du linge potentiellement contaminé. – après tout contact avec un patient infecté ou porteur d'une Bactéries. – avant tout contact avec un patient immunodéprimé. – avant toute manipulation

		de dispositifs médicaux. - Avant la chirurgie.
Traitement hygiénique par friction: Opération ayant pour but d'éliminer ou de réduire la flore transitoire et la flore résidente.	Sur des maines sèches , propres et non poudrées : - déposer une dose d'un produit hydro-alcoolique aux creux des mains. - frictionner 30 à 60 secondes toute la surface des mains en 6 étapes selon la technique standardisée, jusqu'à séchage complet .	- Mêmes indications que pour le lavage simple et le lavage hygiénique. - éloignement ou absence d'un point d'eau.

Les effets de différentes techniques de lavage des mains sont résumés dans le **tableau n°2**.

Tableau 2: Comparaison des différentes techniques d'hygiène des mains (Abbara, 2020).

Type d'hygiène des mains	Lavage simple des mains	Désinfection hygiénique des mains	
	Savon simple	Savon Antiseptique	Solution hydro-alcoolique
Elimination de la flore transitoire	90%	99,9%	99,99%
Elimination de la flore résidente	S Aucune action	50%	99%
Elimination des souillures	+	+	-

4 Les solutions hydro-alcooliques et hygiène des mains

L'intérêt du lavage des mains dans la prévention de la transmission des agents infectieux est connu depuis de nombreuses années, cependant son application reste trop souvent

insuffisante, différentes raisons sont alors invoquées : intolérance aux savons, manque de temps, absence de point d'eau ce constat incite à promouvoir de nouvelles techniques d'hygiène des mains, comme la technique de désinfection des mains avec un produit hydro-alcoolique (CTIN, 2001).

Cette technique de friction des mains avec un produit à forte teneur en alcool (solution ou gel hydro-alcoolique) permet une hygiène des mains rapide, même en l'absence de point d'eau à proximité du lieu de soin comme au domicile du patient ou en situation d'urgence (Figure 1). Sa recommandation a été proposée en 2001 par le Comité Technique des Infections Nosocomiales (CTIN, 2001).



Figure 1: friction hydro-alcoolique (Pittet, 2009).

4.1 produits hydro-alcooliques

Les produits hydro alcooliques permettent d'effectuer un traitement hygiénique des mains par frictions appelé désinfection des mains, Ils se présentent sous plusieurs formes (**Travkine, 2012**) :

- les solutions hydro-alcooliques ou (SHA). Ce sont des solutions, non nettoyantes permettant une antiseptie sans apport d'eau exogène et sans rinçage ni séchage.
- les gels hydro-alcooliques (GHA) sont des préparations semi-solides ayant les mêmes propriétés que celles des SHA.
- les mousses.
- Les lingettes.

4.1.1 Les solutions hydro-alcooliques

Les solutions hydro-alcooliques sont des solutions à séchage rapide, conçues spécifiquement pour la désinfection des mains. Elles contiennent de l'alcool, un émollient, et parfois un autre antiseptique. Elles s'appliquent par friction sans rinçage sur des mains sèches et d'apparence propres (c'est à dire sans souillure visible) , ce sont des préparations alcooliques contenant habituellement 60% à 77% d'éthanol ou d'isopropanol et conçues pour être appliquées sur les mains en vue d'y réduire le nombre de micro organismes viables (**Maslo, 2002**).

Les solutions hydro-alcooliques sont des désinfectants pour les mains et entrent dans la catégorie de produits biocides de type 1, c'est-à-dire celle des produits biocides destinés à l'hygiène humaine tels que définis dans l'annexe V de la directive 98/8/CE concernant la mise sur le marché des produits biocides (**Afssaps, 2011**).

4.1.2 Les gels hydro-alcooliques

Les gels hydro-alcooliques sont des préparations semi-solides ayant les mêmes propriétés que celles des SHA, permet de nettoyer et se désinfecter les mains sans eau ni savon. 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 de 30 secondes permet d'éliminer 99.99% de germes présents (**WHO, 2009**).

4.1.3 Composition des solutions hydro-alcooliques (SHA)

1- Alcool

Le principe actif présent dans les SHA est, comme leur nom l'indique, un alcool. Pour répondre aux critères d'utilisation des SHA, cet alcool doit être miscible dans l'eau, avoir un large spectre antibactérien et une certaine rapidité de séchage, c'est le premier antiseptique à avoir été utilisé en friction. Par ordre décroissant d'efficacité on classe les différents alcools : n-propanol > isopropanol > éthanol, l'efficacité dépend également de la concentration en alcool de la solution, Les équivalences sont les suivantes : n-propanol 42% = isopropanol 60% = éthanol 77% (**Rotter, 1984**).

Les alcools sont actifs sur les bactéries (y compris les mycobactéries si le contact est prolongé), sur les virus enveloppés (herpès, VIH, ..) et sur les champignons (*Candida*). Leur action est plus limitée sur les virus nus. L'activité antifongique de l'éthanol est importante (**Maslo, 2002**).

L'avantage de l'alcool est la rapidité de son effet, sa forte activité contre les germes et sa force d'évaporation rapide. L'inconvénient est qu'il dessèche la peau, ce qui oblige à l'associer à des émoullients pour assurer une bonne tolérance. Son efficacité est réduite par dilution sur mains humides, c'est pourquoi il ne doit être utilisé que sur mains sèches (**Maslo, 2002**).

2- L'antiseptique associé

L'antiseptique associé le plus fréquemment est la chlorhexidine à 0.5 %. L'association des 2 composés allie en effet la rapidité d'action de l'alcool et la persistance d'activité de la chlorhexidine. Il existe des SHA associant à l'alcool un ammonium quaternaire, le triclosan ou le peroxyde d'hydrogène (**Maslo, 2002**).

3-L'eau

L'eau est un constituant essentiel des PHA : elle a un rôle de potentialisation de l'action des alcools. L'activité antimicrobienne des alcools est attribuée à leur capacité à dénaturer les protéines et elle sera d'autant plus efficace en présence d'eau. Ainsi, les préparations contenant de 60 à 80 % d'alcool seront les plus efficaces comme dit précédemment et les concentrations plus élevées le seront moins du fait de leur plus faible teneur en eau (**WHO, 2010**).

4-Émollient

Un usage fréquent des solutions hydro-alcoolique pour l'hygiène des mains peut causer une sécheresse de la peau à ce niveau à moins qu'un émollient ou produit similaire soit ajouté à la formulation de la solution de friction en vu de protéger la peau des mains. Il existe, sur la base d'études scientifiques, la preuve d'une meilleure tolérance des solutions hydro-alcooliques et des produits désinfectants lorsqu'ils contiennent des émollients ou autres additifs cosmétiques. L'effet de dessèchement de l'alcool peut être ainsi réduit ou éliminé en y ajoutant 1% à 3% de glycérol. La présence d'un émollient est indispensable pour garantir un bon état cutané et favoriser ainsi l'observance de la méthode de friction hydro-alcoolique. Les divers émollients utilisés sont la glycérine, l'alcool myristique, la triéthanolamine, l'hydroxyurée (Maslo, 2002) (WHO, 2010).

4.1.4 Formulations préconisées par l'OMS

L'OMS a réalisé un guide qui donne les clés pour la fabrication d'une solution hydroalcoolique 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 pouvoir être reproduites dans le monde entier à moindre frais. : (WHO, 2010).

5 Les avantages et les inconvénients des gels hydro-alcooliques

5.1 Les avantages

- L'OMS recommande l'utilisation de produits hydro-alcooliques sur les bases suivantes (OMS, 2010) :
- Ils sont simples à utiliser et sont prêts à l'emploi, ce qui favorise une bonne observance en général.
- Rapidité de la procédure (20-30s).
- Utilisation appropriée dans des régions disposant de ressources limitées, dans des zones sans lavabos ou autres installations nécessaires à la pratique de l'hygiène des mains disponibles (y compris l'accès à de l'eau propre, à des essuie-mains, etc.).
- Ils permettent un gain de temps pour le personnel, dans la période d'activité journalière.
- Avantage économique 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.
- Meilleure tolérance cutanée.

5.2 Les inconvénients des gels hydro-alcooliques

Les produits hydro-alcooliques présentent également quelques inconvénients que l'on ne peut négliger (Goetz, 2004) :

- aucune activité contre les spores et les parasites
- Inflammabilité du produit, (Ce sont des produits inflammables qui nécessitent certaines précautions d'utilisation et de stockage).
- Odeur.
- le risque d'ingestion accidentelle ou délibérée.
- ne doivent pas être utilisés sur des mains sales ou mouillées ou lésées ou lors du port de gants poudrés (inhibition de l'action antiseptique de l'alcool).
- Obligation d'utiliser des gants non poudrés.

6 Les microorganismes présents sur les mains

6.1 Flore microbienne ou microbiote de la peau

En 1938, Price publie pour la première fois un bilan de ses études sur les microorganismes de la peau des mains et décrit deux flores : la flore résidante et la flore de passage, appelée également transitaire. Ce scientifique évalue à plusieurs millions le nombre de germes présents sur la peau des mains (WHO, 2009).

La peau abrite de nombreux microorganismes commensaux, qui constituent le microbiote cutané. Ce dernier est défini comme les groupes de micro-organismes qui peuvent vivre en symbiose avec leur hôte humain. Il représente l'ensemble de bactéries, de champignons et de virus (Mokni et Abdelhak, 2014). Les microorganismes commensaux du microbiote partagent de nombreuses caractéristiques avec les pathogènes comme leur capacité à pénétrer l'hôte, à se multiplier et à se propager. Cependant, une différence-clé est que les commensaux trouvent leur niche naturelle dans l'organisme sans nuire à l'hôte. Contrairement, aux

microorganismes pathogènes, qui envahissent l'hôte en se multipliant dans les cellules de l'hôte et par conséquent, introduisent une inflammation (**Di domizio et al, 2016**).

Le microbiote se divise en deux parties : La flore cutanée résidente et la flore cutanée transitaire.

➤ La flore résidente :

La flore résidente ou de séjour ou commensale est la flore normale non pathogène, appelée aussi microbiote permanent. Ce dernier est constitué des microorganismes qui vivent et se multiplient sur la peau, adhèrent aux couches profondes de la peau, sont difficiles à éliminer (**Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology, 2009**).

Cette flore cutanée de la peau varie de manière quantitative et qualitative d'une personne à l'autre selon l'âge, le sexe, le siège, le système immunitaire et certains facteurs physicochimiques tels que l'humidité, le pH et la température (**Kong et Segre, 2012**). Elle se renouvelle régulièrement et elle est rarement à l'origine d'infections, elle joue un rôle important dans la résistance à la colonisation et la protection, parmi les espèces de la flore résidente, des bactéries (*Staphylococcus epidermidis*, *Corynébactéries*, *Microcoques*, *Brevibacterium...*) et de champignons *parapsilosis* (**Abbara, 2020**) (**Stéphan, 2004**)

➤ La flore transitoire :

La flore transitoire colonise les couches superficielles de la peau, composée de micro-organismes ayant contaminés récemment la peau. Elles sont potentiellement pathogènes et provenant du tube digestif (exemple *Candida albicans*), de l'environnement, de matériel contaminé ou encore du contact avec des individus colonisés ou infectés.

Elles sont généralement considérées comme transitoires mais sont préoccupantes en raison de leur transmission facile par les mains, à moins qu'elles ne soient éliminées par friction mécanique et lavage à l'eau et au savon ou détruites par l'application d'un désinfectant antiseptique (**WHO, 2009**).

Ces micro-organismes transitent la surface de la peau car ils sont incapables de survivre plus de quelques heures au niveau de la peau saine (**Abbara, 2020**).

La flore transitoire se compose essentiellement de bactéries provenant de l'environnement (Entérobactéries ; *Pseudomonas* spp; Klebsielles ; Streptocoques,) et de levure *Candida albicans*, particulièrement chez les sujets immunodéprimés ou diabétiques (Abbara, 2020).

7 Les levures *Candida*

Les levures du genre *Candida* sont des levures saprophytes que l'on retrouve à l'état commensal chez l'homme sur la peau et les muqueuses (Develoux et Bretagne, 2005).

Le genre *Candida* regroupe des levures non pigmentées, non capsulées, à bourgeonnement multilatéral, productrices ou non de pseudomycélium, voire un vrai mycélium (Sundararaj et al, 2005).

7.1 *Candida albicans*

Candida albicans est une levure cosmopolite, commensale des muqueuses, dimorphique, capable de coloniser son hôte sous forme de levures, de chlamydozoïdes, de pseudohyphes ou d'hyphes véritables (mycélium) et d'opérer des changements phénotypiques. Sa virulence élevée est liée à cette capacité de transformation (Gow et al, 2002). Les hyphes de cette levure sont responsables de l'envahissement des tissus notamment cutanés de la peau et de la production du biofilm (Brikci-Benhabib et al, 2016).

En milieu hospitalier, la levure *Candida albicans* représente la cause majeure des infections nosocomiales opportunistes d'origine mycosique. Sa fréquence d'isolement est de 60-80% des cas (Raoult, 1998).

Cette levure devient pathogène lorsque le statut immunitaire ou physiologique de l'individu est altéré, ce qui définit *C. albicans* comme un pathogène opportuniste (Bekkal Brikci-Benhabib et al, 2020).

7.2 *Candida parapsilosis*

Candida parapsilosis est une levure de forme variable, ronde à ovale. Les colonies croissent rapidement, sont blanches, crémeuses, lisses ou plissées. C'est une levure commensale isolée fréquemment de la peau (Paugam et al, 2010).

Cette espèce généralement liée à l'hygiène des mains, peut également se développer dans les solutions de nutrition parentérale (Bekkal Brikci-Benhabib et al, 2015).

Matériel
et
méthodes

1 Evaluation de l'activité anti fongique de la SHA *in vitro*

1.1 Matériel biologique

Pour l'évaluation de l'activité antifongique, nous avons testé deux souches fongiques, qui ont été collecté du laboratoire de recherche : Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique, de l'université de Tlemcen.

Il s'agit de *Candida albicans* IP 444, souche de référence et *Candida parapsilosis*, levure isolée cliniquement. Ces deux souches ont été maintenues par repiquages successifs sur gélose Sabouraud et conservées à 4°C. Il est que, *Candida albicans* fait partie la flore transitoire cutanée habituelle et *Candida parapsilosis* fait partie la flore commensale de la peau.

1.2 Préparation d'une solution hydro-alcoolique

Les solutions hydro-alcooliques (SHA) sont composées, selon les recommandations de l'OMS, en grande proportion d'un alcool, le plus souvent l'éthanol pour son plus large spectre, d'un émoullient pour la tolérance cutanée, de l'eau stérilisée et H₂O₂, un antiseptique pour élargir le spectre d'activité du produit (OMS, 2010).

La solution hydro-alcoolique a été préparée selon le protocole établie par l'OMS (2010), dont les réactifs utilisés pour 100 ml de cette solution sont :

	Volume	Densité
Éthanol (C ₂ H ₆ O) à 96 %	83.3 ml	0,806
peroxyde d'hydrogène 3%(H ₂ O ₂)	4.17 ml	1,01
Glycérol (C ₃ H ₈ O ₃)	1.45 ml	1,26
Eau distillée	q.s.p 100 ml	1,00

Dans un bécher contenant 83.3 ml d'éthanol à 96%, 4.17 ml (H₂O₂) à 3% sont ajoutés en utilisant une éprouvette graduée. Ensuite 1.45 ml de glycérol ont été mélangés précédemment en utilisant une pipette graduée. Cette dernière a été rincée avec un peu d'eau, puis on verse le contenu car le glycérol étant une substance visqueuse adhérant aux parois. Enfin, on ajuste

avec la quantité suffisante (q.s.p) d'eau distillée pour compléter la fiole jaugée jusqu'au trait de jauge jusqu'à 100 ml.

Une deuxième préparation a été effectuée suivant le même protocole (OMS, 2010), en ajoutant à cette dernière deux à trois gouttes de l'huile essentielle de l'origan.

Les deux préparations sont introduites dans deux flacons à vis (chacun de 100 ml), puis placées en quarantaine pendant 72 heures. Ce délai qui permet la destruction des spores bactériennes potentiellement présentes dans l'alcool ou dans le flacon.

2 Evaluation de l'activité antifongique des solutions hydro-alcooliques

L'activité antifongique a été évaluée pour deux solutions hydro-alcooliques. La première SHA seule et la deuxième SHA additionnée de l'huile essentielle de l'origan. Afin de déterminer l'activité de ces deux dernières vis-à-vis de nos souches (*C. albicans* IP 444 et *C. parapsilosis*), nous avons utilisé la technique de diffusion sur gélose nutritive (méthode de disques).

2.1 Technique de diffusion sur gélose

Le principe de la méthode des disques repose sur la diffusion de la solution hydroalcoolique seule ou additionnée à HE de l'origan dans la gélose contenant les souches à tester à partir d'un disque.

Des boîtes de Pétri contenant du milieu Sabouraud dextrose agar additionné de 2% de glucose sont ensemencées aseptiquement à partir d'une suspension de 10^6 cellules/ml qui provient d'une culture jeune de levures.

Les disques stériles, imprégnés de 10 μ L de la SHA seule et SHA + HE origan, à tester sont placés sur gélose Sabouraud préalablement ensemencée par un inoculum de 10^6 UFC/ml. La lecture se fait après incubation à 30°C pendant 24 à 48 heures par mesure des diamètres des zones d'inhibition autour du disque.

L'action inhibitrice se manifeste par la formation d'une auréole autour des puits. La lecture des résultats s'effectue par mesure des diamètres des zones d'inhibitions. Un produit est considéré actif, si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 8 mm.

Selon la littérature, une souche est dite résistante pour un produit (composé), si les diamètres sont moins de 8 mm ; sensible (+) pour des diamètres de 8 à 14 mm ; très sensible (++) pour des diamètres de 15 à 19 mm et extrêmement sensible (+++) pour les diamètres plus de 20 mm (**Hsouna *et al*, 2017**).

Résultats
et
discussion

L'hygiène des mains est un geste préventif important pour éviter les infections croisées souvent d'origine manu portée (Teyssou et al, 1997). Les solutions hydroalcooliques ont pour but d'éliminer la flore transitoire cutanée. Elles ont un large spectre d'activité sur les micro-organismes, une grande rapidité d'action et une excellente tolérance. Elles sont utilisées pour l'antisepsie des mains et même pour la désinfection des surfaces (Pittet, 2009).

En termes d'efficacité, l'activité antimicrobienne est importante à évaluer. Dans ce contexte, nous avons entrepris cette étude qui a porté sur l'évaluation de l'activité antifongique des solutions hydroalcooliques formulées au sein du laboratoire de pédagogie d'Ain Temouchent, vis-à-vis de *Candida albicans* IP 444 et *Candida parapsilosis*.

1 Evaluation de l'activité antifongique des solutions hydroalcooliques *in vitro*

Nous avons préparés deux solutions hydroalcooliques afin d'évaluer leur activité antifongique.

Deux formulations de solutions hydroalcooliques (SHA) ont été testés sur *Candida albicans* IP444 et *C. parapsilosis*. La première, une formulation de solution hydroalcoolique seule selon les recommandations de l'OMS et la deuxième, une formulation de solution hydroalcoolique additionnée par l'huile essentielle (HE) de l'Origan.

En Algérie, communément appelé « zaâter », l'origan est une plante essentiellement médicinale qui jouit d'une grande ferveur populaire (Baba Aissa, 1990).

L'aspect macroscopique de *C. parapsilosis* présente des colonies blanches, lisses, crémeuses et brillantes (Figure 2).

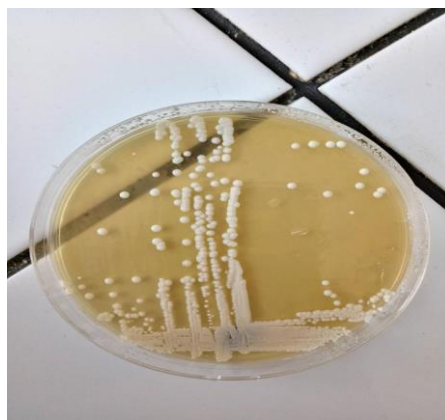


Figure 2 : *Candida parapsilosis* isolée cliniquement, ensemencé à partir d'une collection de souches.

Des boîtes de Petriensemencées par *Candida albicans* et *Candida parapsilosis*, contenant des disques imprégnés d'eau distillée stérile, ont été utilisées comme témoins. Après 48h d'incubation, aucune apparition de zones d'inhibition n'est observée (**figure 3 et 4**).

Les résultats relatifs aux tests antifongiques, nous montrent, qu'après 48 heures d'incubation, une croissance des cellules fongiques sur les boîtes de Petri, avec une formation des zones d'inhibition autour des disques imprégnés par SHA simple et SHA+ HE de l'origan.



Figure 4: effet des disques sec sur *Candida albicans*.



Figure 3: effet des disques sec sur *Candida parapsilosis*.

L'activité de SHA seule vis-à-vis de *Candida albicans* présente un zone d'inhibition sur boîte d'environ de 10 mm (**figure 5**). Ce qui indique une sensibilité (>8mm) de la souche à SHA.

Des études ont été effectuées sur l'efficacité du lavage des mains et du traitement hygiénique par friction hydro-alcoolique au cours des soins, ont montré qu'une contamination était absente lorsque les mains avaient été traitées par une solution hydro-alcoolique (**Lucet et al, 2002**).

L'activité antifongique SHA + HE d'Origon vis-à-vis de cette souche, était deux fois plus importante que celle de SHA, avec une zone d'inhibition de 22 mm.

Selon la littérature, une souche est dite résistante pour un produit (composé), si les diamètres moins de 8 mm ; sensible (+) pour des diamètres de 8 à 14 mm ; très sensible (++) pour des diamètres de 15 à 19 mm et extrêmement sensible (+++) pour les diamètres plus de 20 mm (**Hsouna et al, 2017**).

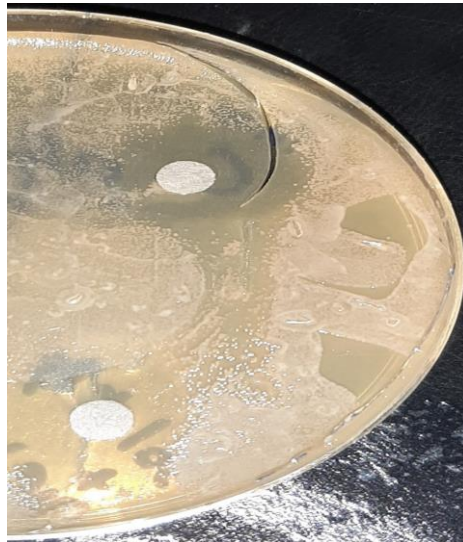


Figure 5: L'activité antifongique de SHA+ HE l'origan vis-à-vis de *Candida parapsilosis*.

La zone d'inhibition de la solution hydroalcoolique contenant HE de l'Origan pour la souche sauvage de *Candida parapsilosis*, est de 45 mm (**figure 6**). Nos résultats montrent que cette dernière présente sensibilité plus importante plus large que la *Candida albicans* vis-à-vis le mélange de la solution hydro alcoolique avec l'Origan (**figure 6**). Cependant, l'activité de SHA seule vis-à-vis de *C. parapsilosis* était beaucoup moins importante. Elle était de 12 mm (**figure 7**). Ce résultat se rapproche de celui obtenu pour *C. albicans* IPP444 (10 mm).

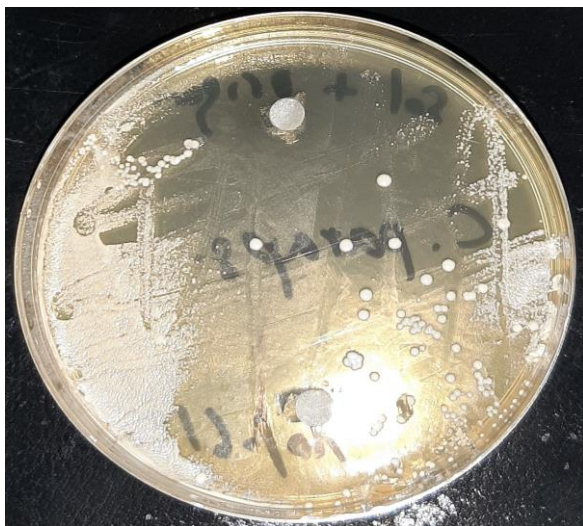


Figure 7: effet du mélange (SHA + Origan) sur *Candida parapsilosis*.



Figure 6: effet de la SHA sur *Candida parapsilosis*.

Des travaux réalisés par **Abdelouahid et Bekhechi (2004)**, montrent que L'HE de l'origan (*Origanum glandulosum*) présente une d'activité importante sur la souche *C. albicans* IPP 444, avec une zone d'inhibition de 55 mm.

Plusieurs auteurs ont décrit que l'HE d'origan a des propriétés anticandidosiques *in vitro* allant de l'inhibition de la croissance des blastoconidies jusqu'à l'inhibition de la forme hyphale ((**Manohar et al, (2001)** ; **Salgueiro et al, (2003)**)).

Une étude réalisée par **Baratta. et al. (1998)**, sur l'effet d'huiles essentielles de romarin, de sauge, de Laurier, de coriandre et d'origan contre le champignon *Asperillus niger*. Les résultats montrent que l'HE de l'origan a manifesté l'activité antifongique la plus élevée. Cette HE possède une forte inhibition sur la croissance du champignon même à une faible concentration.

Une autre étude récente réalisée par **Bencharif (2018)**, sur l'activité antifongique de l'HE de l'espèce *O. vulgare* vis –vis du champignon *Mucor sp*, et qui résultat montre que cette huile provoque un forte d'inhibition de la croissance (diamètre d'inhibition 9 cm).

Selon **Giordani et Kaloustian en 2006**, l'action antifongique des huiles essentielles est due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique suivie d'une rupture de celle-ci entraînant une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort de la levure.

Conclusion

Conclusion

De nos jours, les solutions hydroalcooliques sont très utilisées pour prévenir le risque de transmission des microorganismes (virus, bactérie ou champignons) par contamination des mains.

Notre étude a porté sur la préparation de deux types de solutions hydroalcooliques (SHA). Une SHA formulée selon OMS (2010) et une autre SHA additionnée avec de l'huile essentielle de l'origan (*Origanum vulgare L.*).

Nous avons évalué l'activité antifongique *in vitro* de ces deux dernières vis-à-vis de *Candida albicans* IP 444, souche de référence et *C. parapsilosis*, souche cliniquement isolée.

Les résultats ont montré que la SHA exerce un effet antifongique important à l'égard des deux levures testées (*Candida albicans* et *Candida parapsilosis*). Cependant, lorsque l'HE de l'origan est additionné à SHA, elle exerce un effet antifongique plus important comparé à celui de la SHA seule.

Ces résultats ouvrent de nouvelles perspectives à réaliser soi-même, à la maison, des solutions hydroalcooliques parfumés à l'huile essentielle de notre choix. Sachant que, l'eucalyptus, le thym, la verveine, le citron, la lavande, le romarin... ont des activités virucide, bactéricide et fongicide.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abbara A (2020), a flore cutanée transitoire—Résidente et ses caractéristiques, à l'adresse
https://www.aly_abbara.com/livre_gyn_obs/termes/hygiene/flore_transitoire_residente_peau_mains.html
- Abbara A, (2020). Lavage, désinfection et antiseptie des mains. 12-Mar-2020, à l'adresse
https://www.alyabbara.com/livre_gyn_obs/termes/hygiene/lavage_desinfection_antiseptie_mains.html
- Abdelouahid, D. E., & Bekhechi, C. (2004). Pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata*. Nûnkha), *Biol et Santé*, 4(2), 1-10.
- Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology, Inc. (2009). *American Journal of Infection Control*, 37, A16. [https://doi.org/10.1016/S0196-6553\(09\)00620-8](https://doi.org/10.1016/S0196-6553(09)00620-8)
- Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé, (2011). relatif à l'utilisation de désinfectants pour les mains à peau saine (produits hydro-alcooliques ; PHA) par le grand public, dans le cadre de l'épidémie de la grippe A (H1N1). <http://www.afssaps.fr/Afssaps-media/Fichiers/Infos-de-securite/Communique-de-presse/2011/Desinfectants-pour-les-mains-a-peau-saine-produits-hydro-alcooliques-PHA>.
- Baba Aissa, F. (1991). Les plantes médicinales d'Algérie: identification, description, principes actifs, propriétés et usage traditionnel des plantes communes en Algérie. Ed.Bouchène et Ad.
- Baratta, M. T., Dorman, H. J. D., Deans, S. G., Biondi, D. M., & Ruberto, G. (1998). Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidative Activity of Laurel, Sage, Rosemary, Oregano and Coriander Essential Oils. *Journal of Essential Oil Research*, 10(6), 618-627. <https://doi.org/10.1080/10412905.1998.9700989>
- Bekkal brikci benhabib O, Boucherit-otmani Z, Boucherit K, Djediat C (2020) Interaction in a dual-species biofilm of *Candida albicans* and *Candida glabrata* isolated from intravascular catheter. *Microbial Pathogenesis* 152:.. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104613>

Références bibliographique

- Bencharif, A., & Benabdelkader, M. E. (2018). Analyse chimique et activité antifongique de l'huile essentielle de l'espèce *Origanum vulgare* [PhDThesis]. Université de Jijel.
- Benhabib Bekkal Brikci O, Boucherit-Otmani Z., Boucherit K., Seghir A (2015). Risques infectieux par les pathogènes nosocomiaux *Candida* producteurs de biofilms chez les nouveau-nés ; Hygiènes, 23(1) : 63-67
- Bochures conseil_superieur_d_hygiene_soin_au_cabinet_css_8279_fr.2008
- Brikci-Benhabib, O. B., Boucherit-Otmani, Z., & Boucherit, K. (2016). Fungal biofilms: Confusion between tolerance and resistance drugs. *Journal de mycologie medicale*, 26(3), 286-287
- Comité Technique des Infections Nosocomiales, (2001) Bulletin Officiel n°2001-52. Consulté 12 juin 2021, à l'adresse <https://solidarites-sante.gouv.fr/fichiers/bo/2001/01-52/a0523484.htm>
- Develoux, M., & Bretagne, S. (2005). Candidoses et levures diverses. EMC-Maladies infectieuses, 2(3), 119-139..
- DI DOMIZIO, J. E. R. E. M. Y., PAGNONI, A., HUBER, M., HOHL, P. D., & GILLIET, M. (2016). Le microbiote cutané: le poids lourd sort de l'ombre. *Rev Med Suisse*, 12, 660
- Eggimann, P., & Pittet, D. (2014). *Candida* colonization index and subsequent infection in critically ill surgical patients: 20 years later. *Intensive care medicine*, 40(10), 1429-1448.
- Gilles, A., Raoul, B., Marie-Francoise, B., Béatrice, P., Strauss, C. P., Anne-Marie, R., & Francoise, T.-G. GROUPE DE LA SOCIETE FRANÇAISE D'HYGIENE HOSPITALIERE (SFHH). 140.
- Giordani, R., & Kaloustian, J. (2006). Action anticandidosique des huiles essentielles : Leur utilisation concomitante avec des médicaments antifongiques. *Phytothérapie*, 4(3), 121-124.
- Girard, R. (2008). Traitement hygiénique des mains par friction. In *Fiches conseils pour la prévention du risque infectieux* (pp. 1-4).
- Goetz, M. L. (2004). Hand hygiene by rubbing : Indications, advantages and drawbacks. *Medecine et maladies infectieuses*, 34, S124-S126.
- Gow N., Brown A. and Odds F., (2002) Fungal morphogenesis and host invasion. *Curr Opin Microbiol* ; 5:366-371

- H. A. de Santé (2012). La sécurité des patients. Mettre en œuvre la gestion des risques associés aux soins en établissement de santé. Des concepts à la pratique, 2012-04.
- Hsouna, A. B., Halima, N. B., Smaoui, S., & Hamdi, N. (2017). Citrus lemon essential oil: chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities with its preservative effect against *Listeria monocytogenes* inoculated in minced beef meat. *Lipids in health and disease*, 16(1), 1-11..
- Khosravi, A. R., Shokri, H., Kermani, S., Dakhili, M., Madani, M., & Parsa, S. (2011). Antifungal properties of *Artemisia sieberi* and *Origanum vulgare* essential oils against *Candida glabrata* isolates obtained from patients with vulvovaginal candidiasis. *Journal de Mycologie Médicale*, 21(2), 93-99
- Kong, H. H., & Segre, J. A. (2012). Skin microbiome: looking back to move forward. *The Journal of Investigative Dermatology*, 132(3 Pt 2).
- Lucet JC, Rigaud MP, Mentre F et al. Hand contamination before and after different hand hygiene techniques: a randomized clinical trial. *J Hosp Infect* 2002;50:276-280.
- Manohar, V., Ingram, C., Gray, J., Talpur, N. A., Echard, B. W., Bagchi, D., & Preuss, H. G. (2001). Antifungal activities of origanum oil against *Candida albicans*. *Molecular and cellular biochemistry*, 228(1), 111-117.
- Maslo C, (2002) ,La désinfection des mains par friction hydro-alcoolique - _APHP.
- Mokni, M., & Abdelhak, S. (2014). Flore cutanée, microbiote et microbiome. *Dermatologie infectieuse*, 1-4.
- Nutrium, H. (2011). Microbiote cutané et santé de la peau, 107(14), 8–11..
- OMS | Hygiène des Mains : Manuel Technique de Référence .[cité 2010] ; Disponible depuis: https://www.who.int/gpsc/5may/tools/training_education/gpsc_hhtool_TRM_2010_40_fr.pdf
- Organisation mondiale de la Santé (2010). Guide de production locale: formulations des produits hydro-alcooliques recommandés par l'OMS (No. WHO/IER/PSP/2010.5).
- Paugam A., Baixench M.T., Taieb F., Champagnac C. and Dupouy-Camet J., (2010) Emergence de candidemias à *Candida parapsilosis* à l'hôpital Cochin. Caractérisation des isolats et recherche de facteurs de risque. *Pathol Biol* 59 (1): 44 - 47.

- Pittet, D. (2009). Hygiène des mains : révolutions, normalisation, globalisation. *Rev Med Suisse*, 5, 716-21.
- Raoult D., (1998) Dictionnaire de maladies infectieuses, Diagnostic, Epidémiologie, Répartition géographique, Taxonomie, Symptomatologie. ELSEVIER
- Rotter, M. L. (1984) ,Hygienic Hand Disinfection. *INFECTION CONTROL*.
- Salgueiro, L. R., Cavaleiro, C., Pinto, E., Pina-Vaz, C., Rodrigues, A. G., Palmeira, A., ... & Martinez-de-Oliveira, J. (2003). Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Origanum virens* on *Candida* species. *Planta medica*, 69(09), 871-874.
- Stephan, JM. (2004). Désinfection cutanée et acupuncture : Un rituel inutile. *ACUPUNCTURE ET MOXIBUSTION*, 3, 47-51.
- Sundararaj T., Anthoniraj S., Kannan N., Muthukaruppan S.M. and Sundararaj A., (2005) Microbiology . Tamil Nadu Text Book Coporation.
- Teyssou, R., Koeck, J. L., & Buisson, Y. (1997). La flore cutanée. *Revue française des laboratoires*, 1997(291), 49-55.
- Travkine, M. (2012). *L'intérêt des produits hydro-alcooliques en milieu hospitalier, collectivité et milieu individuel et familial* [PhDThesis]. Université de Lorraine.
- Uçkay, I., Hoffmeyer, P., Lew, D., & Pittet, D. (2013). Prevention of surgical site infections in orthopaedic surgery and bone trauma: state-of-the-art update. *Journal of hospital infection*, 84(1), 5-12.
- Widmer, A. F. (2000). Replace hand washing with use of a waterless alcohol hand rub?. *Clinical infectious diseases*, 31(1), 136-143.
- World Health Organization (Éd.). (2009). WHO guidelines on hand hygiene in health care : First global patient safety challenge: clean care issafer care. World Health Organization, Patient Safety.