

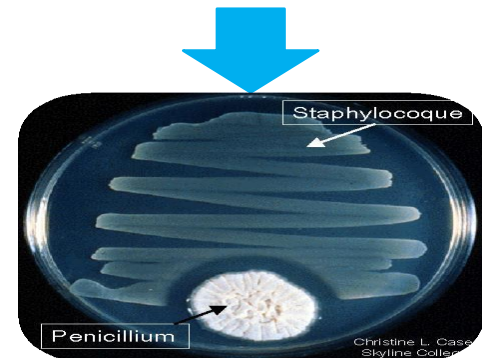
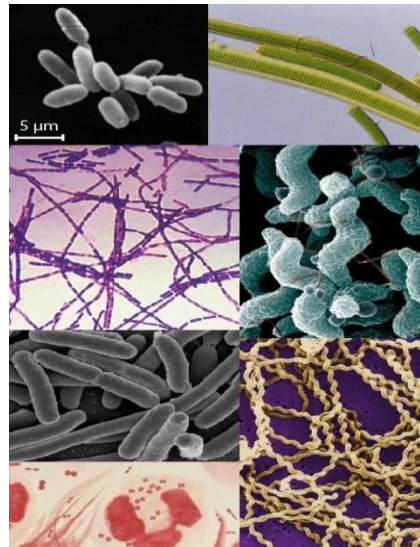
**Université Mohammed Seddik Ben Yahia- Jijel**

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**

**Département de Microbiologie Appliquée et Sciences Alimentaires**

**3<sup>ème</sup> License Microbiologie**

*Matière Agents antimicrobiens*



**Chargée de cours:**  
**Dr BOUSSOUF Lilia**

# Agents antimicrobiens

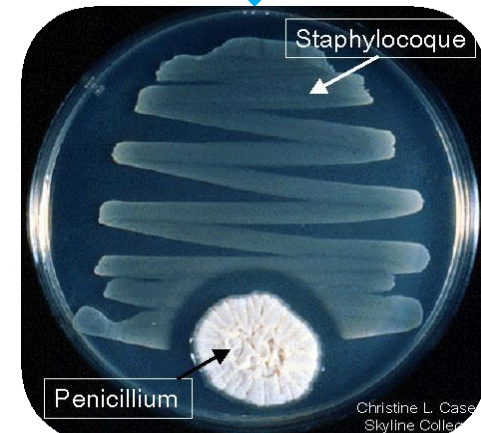
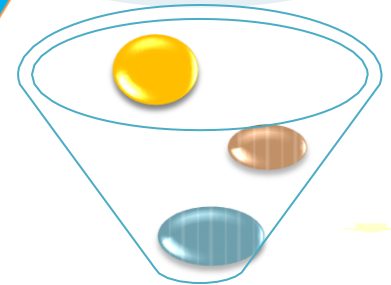
## ● Plan du cours

➤ -1 Définition & Notions

➤ -2 Agents physiques & Agents chimiques

➤ -3 Agents chimiothérapeutiques & Modes d'action

**Objectif:**  
Etudes des agents antimicrobiens



Christine L. Case  
Skyline Collen



# **CONTENU DE LA MATIÈRE**

**Chapitre 1 : Définitions et notions**

**Chapitre 2: Les agents antimicrobiens physiques**

**Chapitre 3: Les agents antimicrobiens chimiques**

**Chapitre 4: Les antibiotiques**

**Chapitre 5: Les antifongiques**

**Chapitre 6: Les antiviraux**



# **Chapitre I : définitions et notions**

# I. Définitions & Notions

## Agents antimicrobiens

Toutes substances ou procédés qui inhibent ou tuent les micro-organismes

- **-cide** : Agents qui **tuent** : Germicides, **bactéricides**, fongicides, algicides et virucides.
- **-statique** : Agents qui **inhibent** la croissance : **bactériostatiques**, fongistatiques.

# **Conditions affectant l'efficacité de l'activité des agents antimicrobiens**

## **Taille de la population**

**Il faut plus de temps pour détruire une population importante que petite.**

## **Composition de la population**

**L'efficacité d'un agent varie avec le type d'organisme traité car les micro-organismes varient fortement en sensibilité.**

## **Concentration ou intensité d'un agent antimicrobien**

**Habituellement, une concentration plus élevée tue plus rapidement (mais cette relation n'est pas linéaire).**

## **Durée de l'exposition**

**Exposition longue plus d'organismes tués**

## **Température**

**Un accroissement de la température augmente son activité.**

## **L'environnement local**

**Plusieurs facteurs (i.e., pH et concentration de la matière organique) peuvent également influencer l'efficacité.**

# I. Définitions & Notions

➤ La norme AFNOR NFT 72-101, donne les définitions suivantes:

## .1 Stérilisation

Opération au résultat **durable** visant à **détruire** tous micro-organismes (cellules vivantes, spores viables et entités acellulaires)

## .2 Désinfection

Opération au résultat **momentané** visant à détruire ou inhiber les micro organismes et/ou d'inhiber l'activité des virus présents sur une **surface inerte**.

## .3 Antisepsie

Opération au résultat **momentané** visant à détruire ou inhiber les micro organismes et/ou d'inhiber l'activité des virus présents sur des **tissus vivants**, selon leur seuil de tolérance.

## .4 Asepsie

Ensemble des **mesures** empêchant tout apport exogène de micro-organismes. La stérilisation et la désinfection sont des moyens pour réaliser l'asepsie.

# **I. Mesure de l'activité antimicrobienne d'un agent antimicrobien**

```
graph TD; A[I. Mesure de l'activité antimicrobienne d'un agent antimicrobien] --> B[Les diamètres sur un milieu solide  
Antibiogramme]; A --> C[La turbidité dans un milieu liquide]; A --> D[D'autres techniques];
```

**Les diamètres  
sur un milieu  
solide  
Antibiogramme**

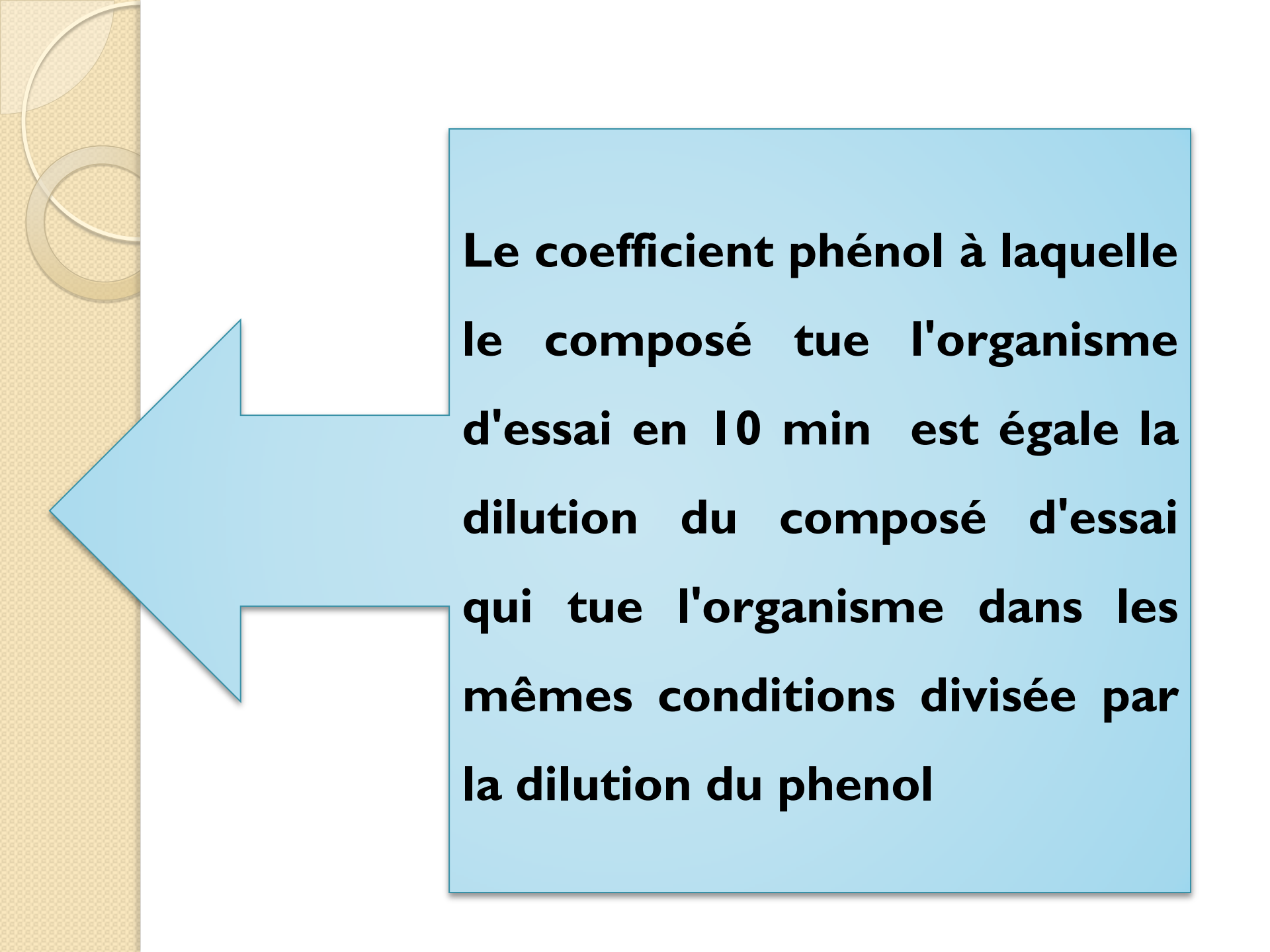
**La turbidité  
dans un milieu  
liquide**

**D' autres  
techniques**

## I I. Coefficient phénol

❑ Il s'agit de comparer l'activité d'un agent avec celle du phénol en présence d'un germe test.

❑ Le coefficient de phénol est égal au rapport entre la dilution de l'agent et celle du phénol, dans les mêmes conditions opératoires.



**Le coefficient phénol à laquelle  
le composé tue l'organisme  
d'essai en 10 min est égale la  
dilution du composé d'essai  
qui tue l'organisme dans les  
mêmes conditions divisée par  
la dilution du phenol**

# I. Antibiogramme

- ❑ Est adapté à l'étude de l'action de des agents antibactérien sur la croissance bactérienne
- ❑ Elle consiste à utiliser des boites de Pétri contenant un milieu gélosé
  - Méthode de diffusion en milieu solide
    - Ensemencement par inondation sur un milieu solide de la souche à tester
    - Dépôt de disques de papier buvard comprenant un antibiotique
  - Lecture
    - Après une nuit à 37 ° lecture des diamètres des zones d'inhibition

## TECHNIQUE

### 1. Couler le milieu de Mueller Hinton



Faire sécher la surface de la gélose 15 min à 37°C

### 2. Préparation de l'inoculum



3 à 5 colonies isolées



5 mL de bouillon  
Mueller Hinton (Etalon 0,5 Mc Farland)

OU bouillon de 18h

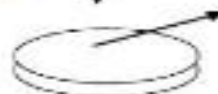
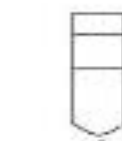
### 3. Ensemencement

Ensemencement  
par **INONDATION**

Dilution au 1/100

- 1/100\* (Staphylococcus, Enterococcus)  
(0,1 mL dans 10 mL d'eau stérile)
- 1/1000\* (Enterobacter, Pseudomonas)  
(une ose dans 10 mL d'eau stérile)

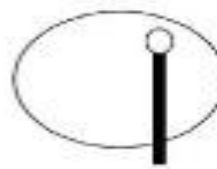
- Inonder avec 5 mL de la dilution
- Laisser absorber 30 secondes
- Réaspirez l'excès à la pipette
- Sécher 15 min à 37°C



Ensemencement par  
**ECOUVILLONNAGE**  
(Méthode de Kirby)

Essorer l'écouvillon  
contre la paroi du tube

Stries très serrées  
3 passages en faisant  
pivoter de 60°



### 4. Dépôt des disques

Déposer les disques d'antibiotique sur  
la gélose avec une pince métallique stérile

### 5. Incuber 24h à 37°C



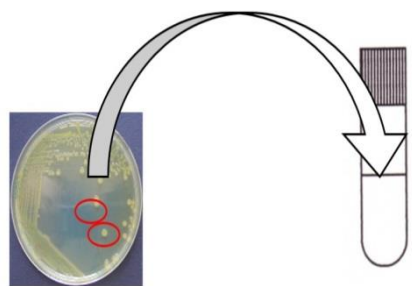
Un disque déposé  
ne doit pas être  
déplacé !!



## LECTURE

Mesurer les diamètres d'inhibition, reporter alors la mesure sur l'abaque ; on obtiendra une des 3 réponses possibles.

# diffusion sur disques



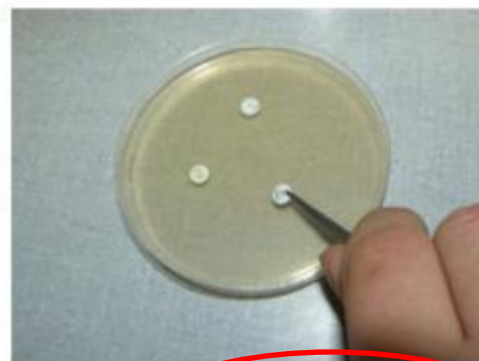
ED ou eau  $\phi$  stérile

**Préparation des suspensions 0.5 Mc Ferland.**

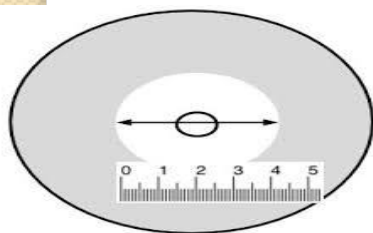
**Ensemencement sur gélose par écouvillon**



**Dépôt des disques**



**Mesure des zones d'inhibition**



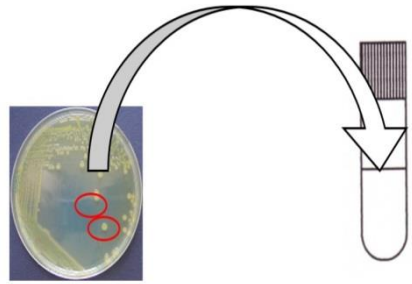
**Incubation**



VectorStock

VectorStock.com/5081005

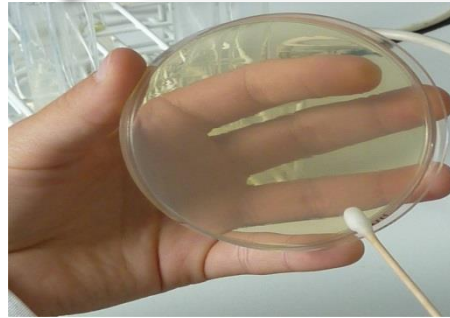
# Etude de l'activité antibactérienne: diffusion en puits



ED ou eau  $\phi$  stérile

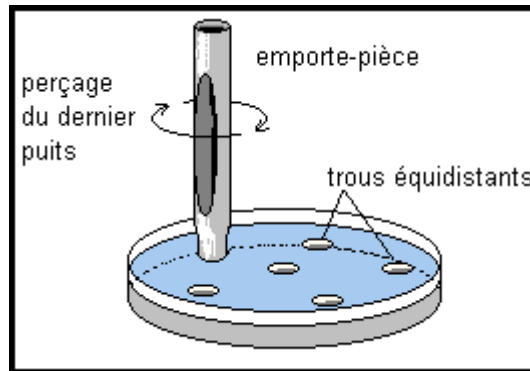
**Préparation des suspensions ( $10^8$  UFC/ml).**

**Ensemencement sur gélose par écouvillon**

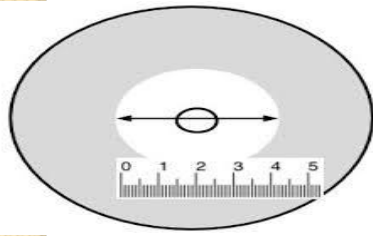


**Remplissage 20  $\mu$ l /puits**

**Confection des puits**



**Mesure des zones d'inhibition**

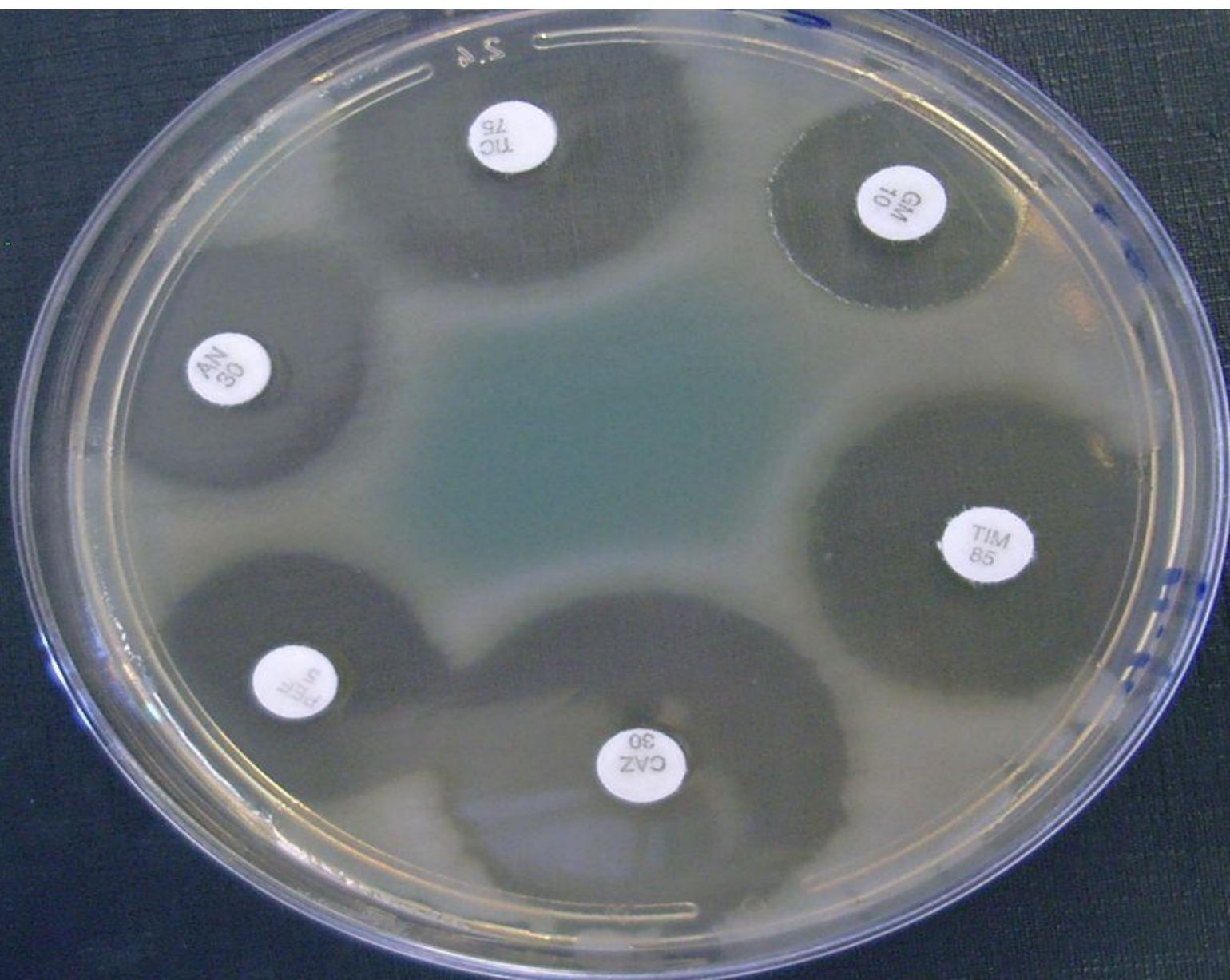
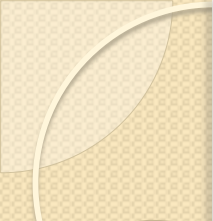


**Incubation 24 h à 37°C**



VectorStock

VectorStock.com/5081005



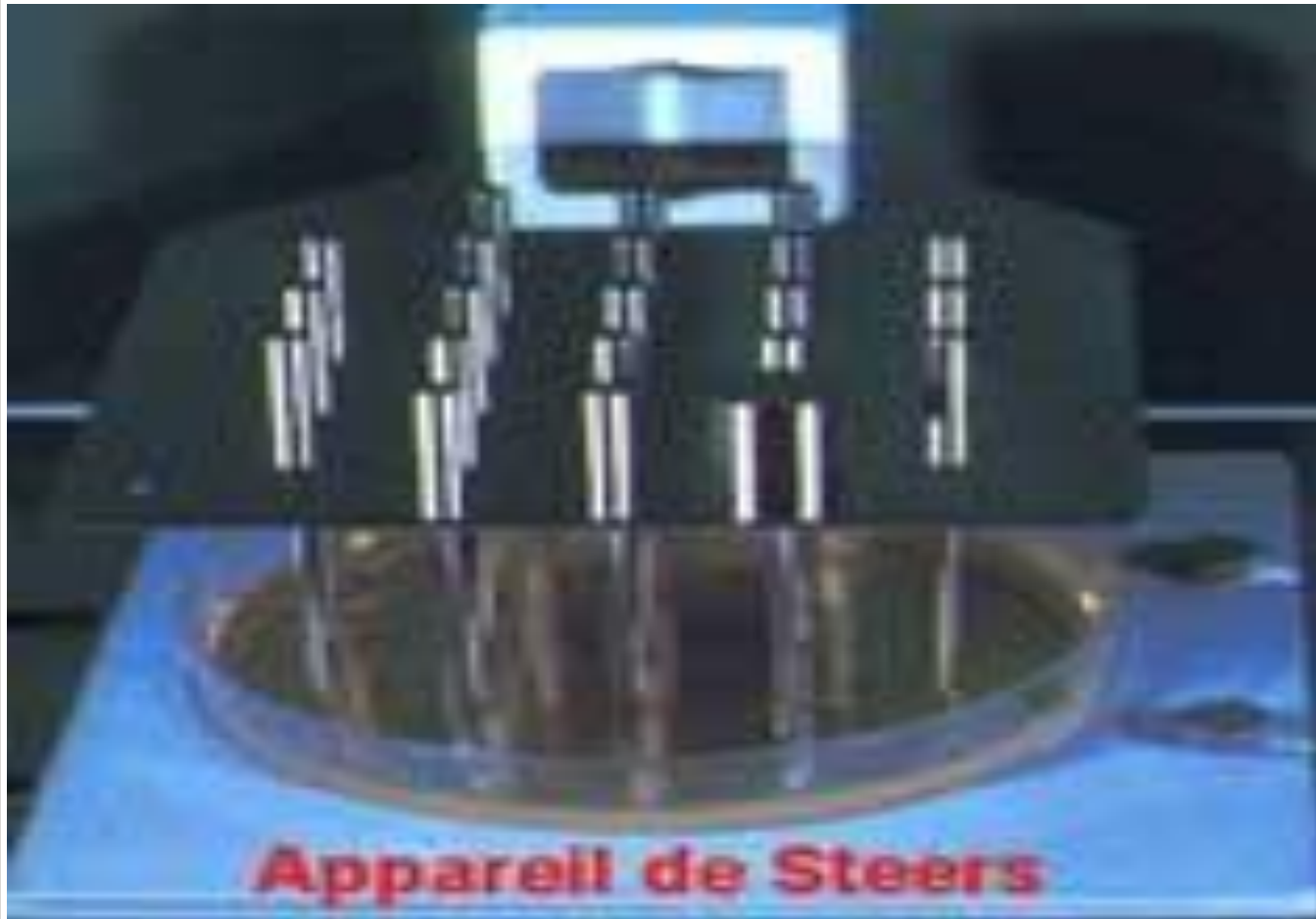
## 2/ La turbidité dans un milieu liquide

### Détermination de la CMI

**CMI:** concentration minimale inhibitrice : la plus faible concentration d'agent qui inhibe toute culture visible d'une souche bactérienne après 18 heures de culture à 37°C.

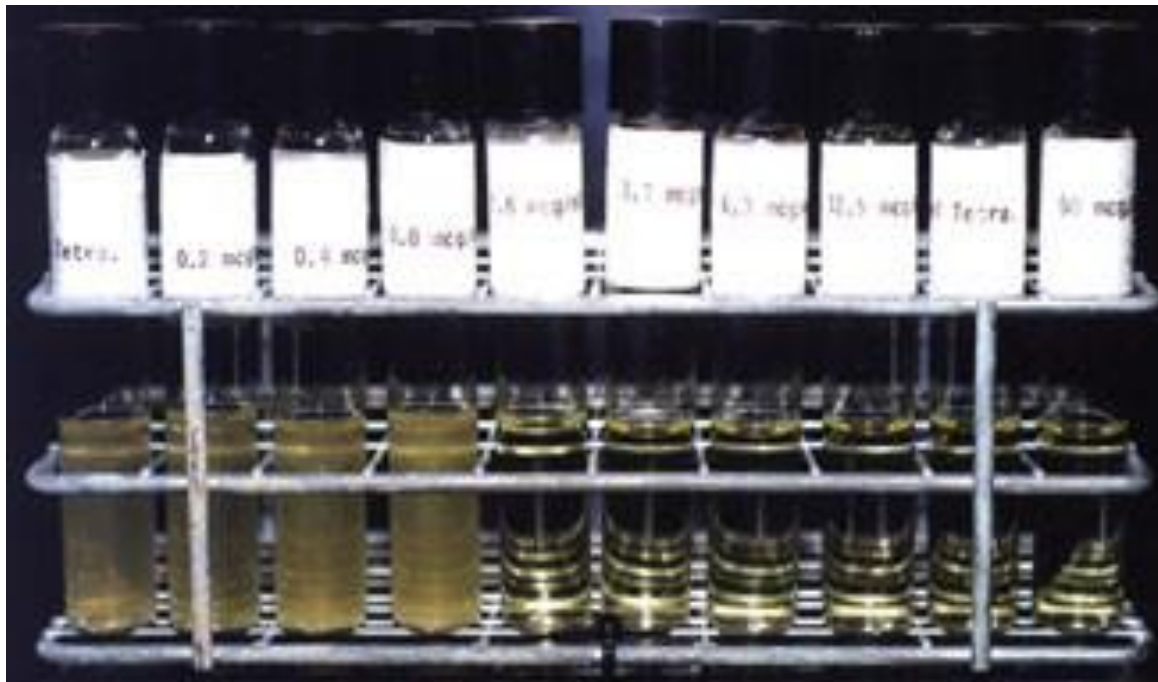
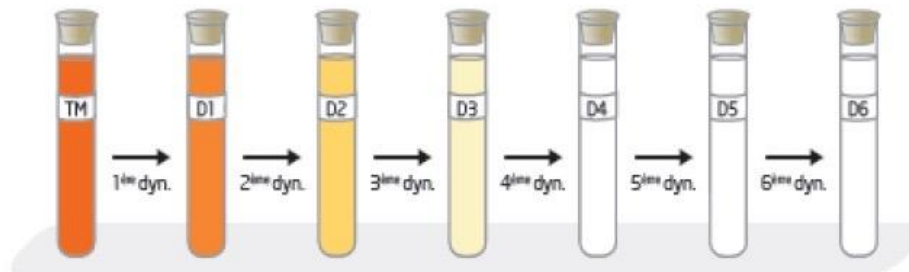
**3 méthodes principales :**

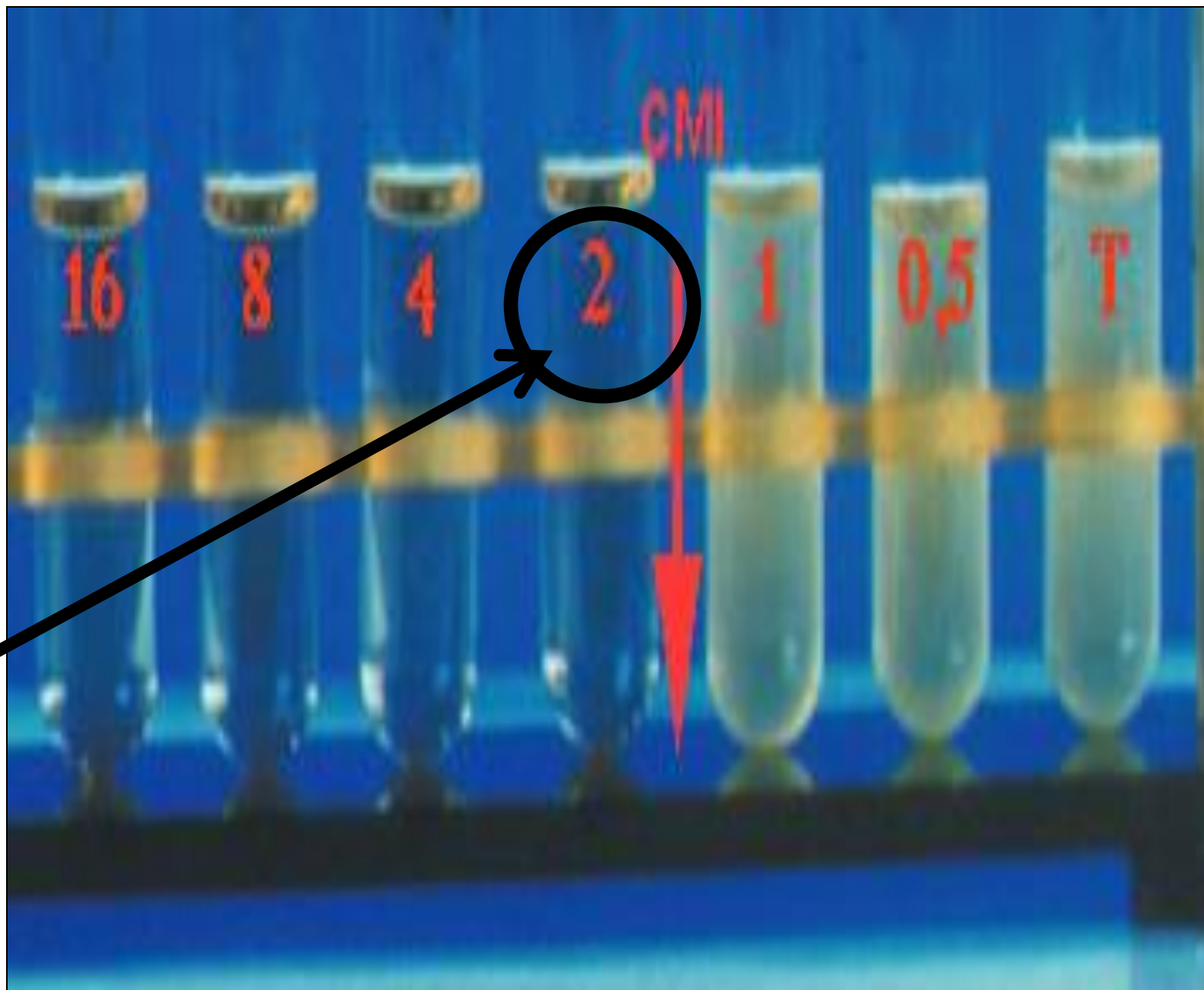
## Dilution en milieu gélosé : Appareil de Steers



# Dilution en milieu liquide :

## Préparation des dilutions

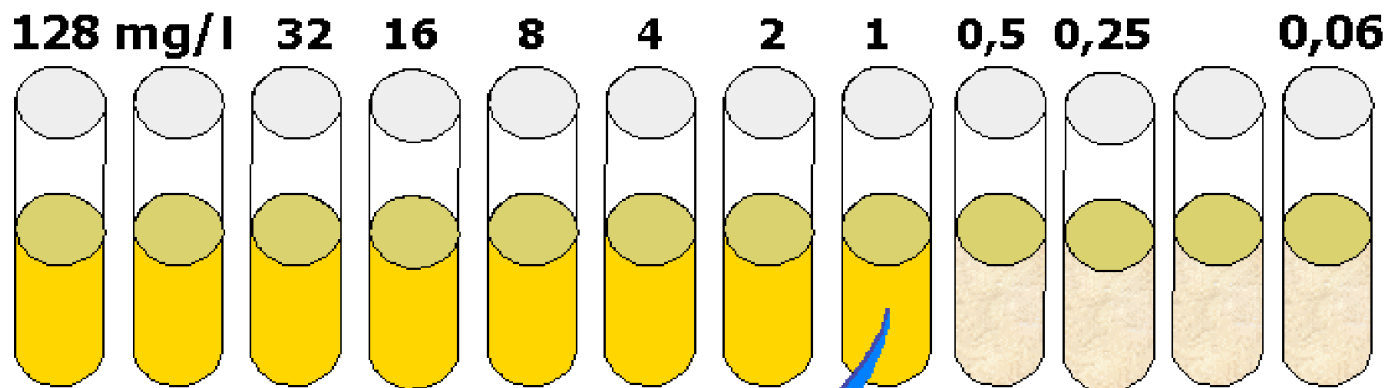
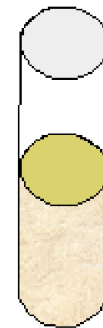




# Notion de CMI

Après incubation 18 h à 37°C

Tube témoin



CMI de l'ATB X = 1mg/l



1566 mg  
1000 mg d'amoxicilline

**AUGMENTIN**  
Amoxicilline/Acide clavulanique  
1g/125mg

Amoxicilline..... 1000 mg  
(sous forme d'amoxicilline trihydratée)  
Acide clavulanique..... 125 mg  
(sous forme de clavulanate de potassium)  
pour un sachet-dose.

Excipients à effet notoire :  
aspartam (E951) : source de  
phénylalanine, maltodextrine  
(glucose).

Voir la notice pour plus  
d'informations.

Médicament autorisé n° 3400934451164

**AUGMENTIN**  
RAPPORT AMOXYCILLINE-ACIDE CLAVULANIQUE : 8/1  
Amoxicilline/Acide clavulanique  
**1g / 125mg**

**Poudre pour  
suspension  
buvable  
en sachet-dose**

**12** Sachets  
Dose

Voie Orale

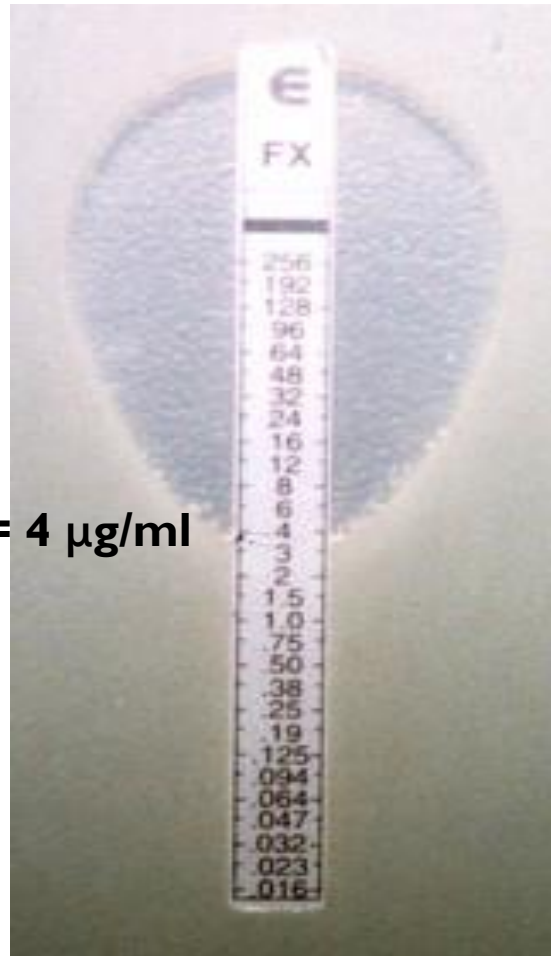


The image shows the packaging for Augmentin 1g/125mg sachets. It features a blue and white design with the GSK logo in the top right corner. The text is in French, detailing the active ingredients (Amoxicilline and Acide clavulanique) and their concentrations. It also includes information about excipients and the authorized medication number. A large illustration shows a sachet being poured into a glass of water, with the number '12' indicating the quantity of sachets per dose.

# Méthode E-Test

(bandelettes imprégnées d'un gradient de conc. d'ATB)

**CMI = 4  $\mu$ g/ml**



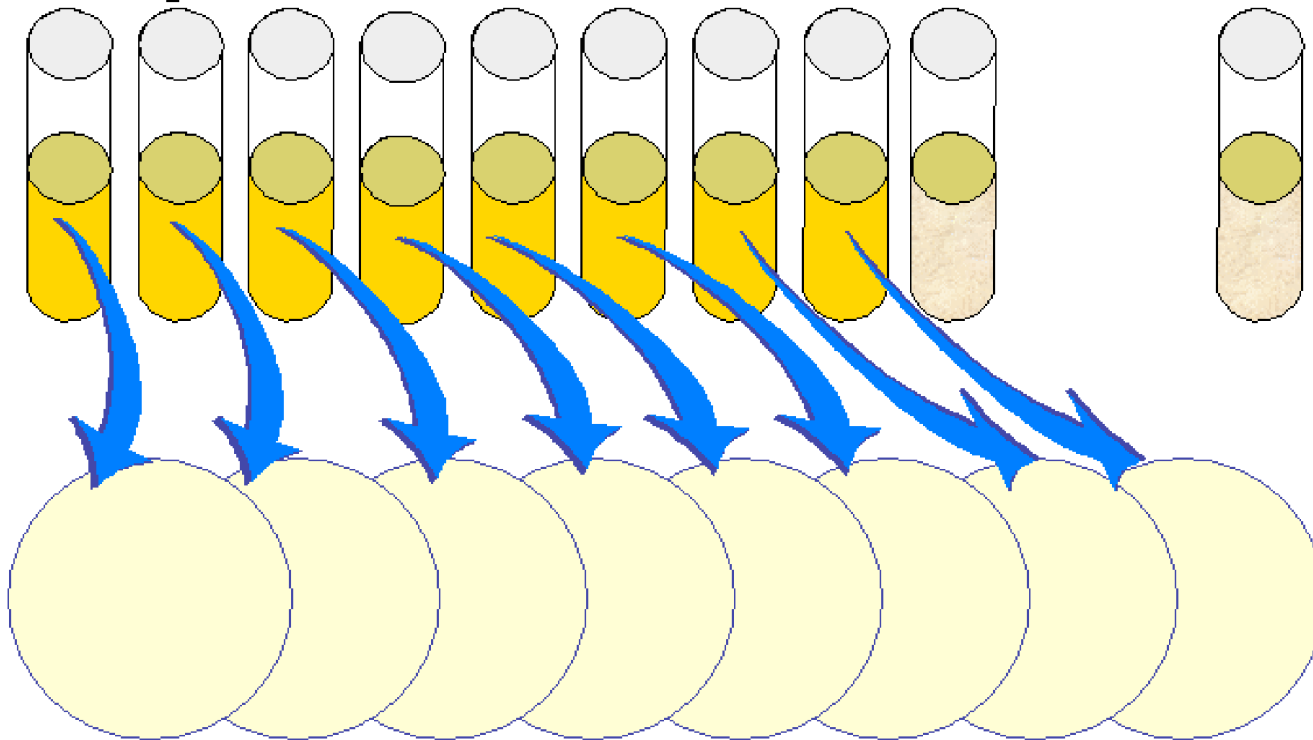
## Détermination de la CMB

**plus petite concentration d'antibiotique ne laissant subsister 0,01% ou moins de survivants de l'inoculum initial après 18 heures de culture à 37°C. Cette valeur caractérise l'effet bactéricide d'un agent antimicrobien**

## NOTION de CIMD

Après 18 h à 37°C

128 mg/l 32 16 8 4 2 1 0,5 Tube témoin



# PREPARATION OF 0.5 MCFARLAND

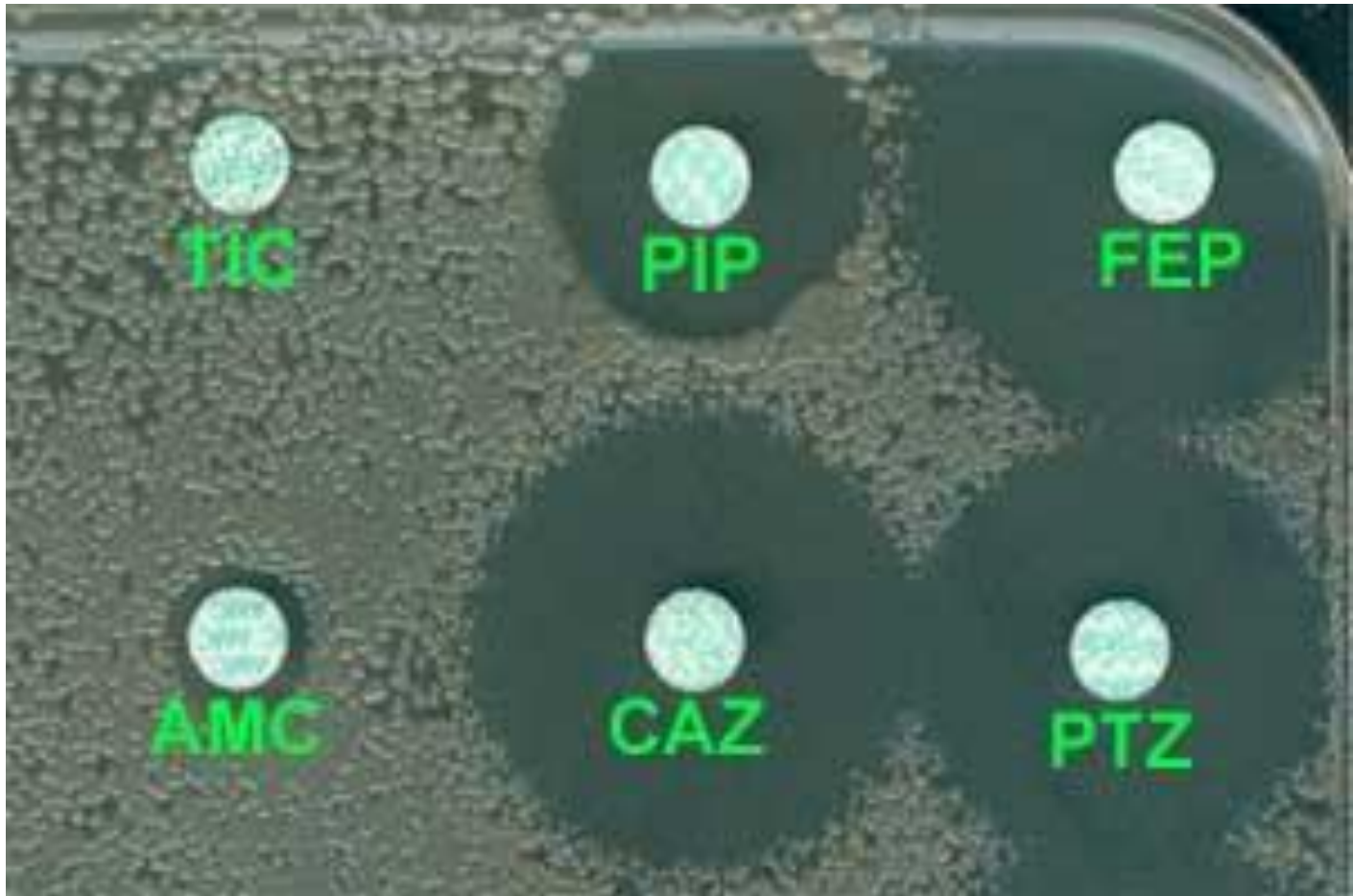
**0.5 ml of 0.048 mol/L barium chloride ( $\text{BaCl}_2$ )  
+  
99.5 ml of 0.18 mol/L ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ )**



**Verify density of the turbidity std. by using spectrophotometer.**



**$\text{OD}_{625 \text{ nm}}$  should be 0.08 to 0.10 for the 0.5 McFarland Std.**



Antibiotique	S Epidermidis	E Coli	Diamètres critiques (mm)	
			cci	ccs
Gentamicine	18mm Intermédiaire	23 mm Sensible	>18	<16
Pristinamycine	6 mm Résistant	6 mm Résistant	>22	<19
Acide Nalixidique	16mm Intermédiaire	26 mm Sensible	>20	<15
Acide Pipemidique	17 mm Intermédiaire	16 mm Intermédiaire	>19	<14