

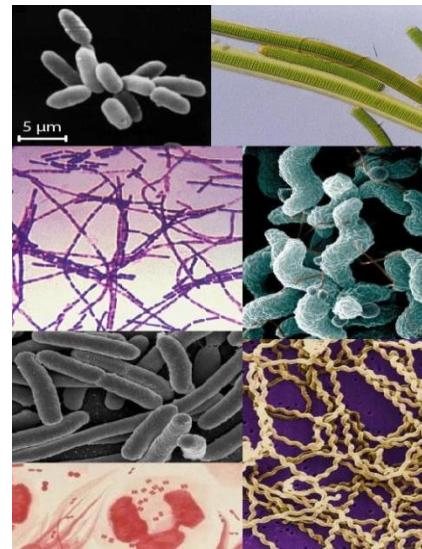
Université Mohammed Seddik Ben Yahia- Jijel

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Microbiologie Appliquée et Sciences Alimentaires

3ème License Microbiologie

Matière Agents antimicrobiens



Chargée de cours:
Dr BOUSSOUF Lilia

Agents antimicrobiens

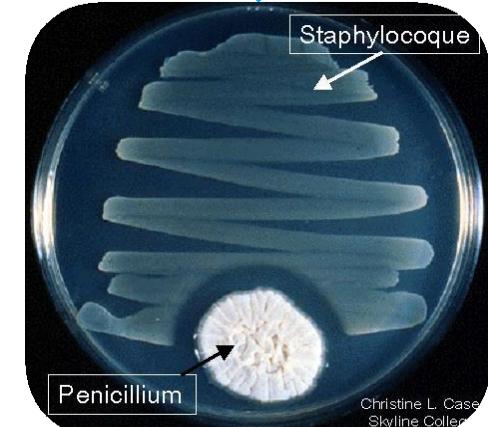
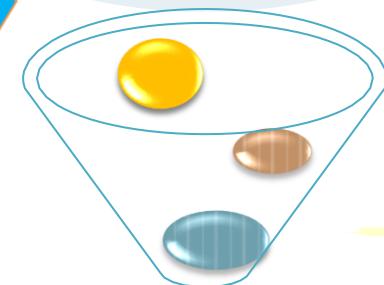
• Plan du cours

➤ -3Agents chimiothérapeutiques & Modes d'action

➤ -2Agents physiques & Agents chimiques

➤ -1Définition & Notions

Objectif:
Etudes des agents antimicrobiens



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:

.1Stérilisation

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

.2Désinfection

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**.

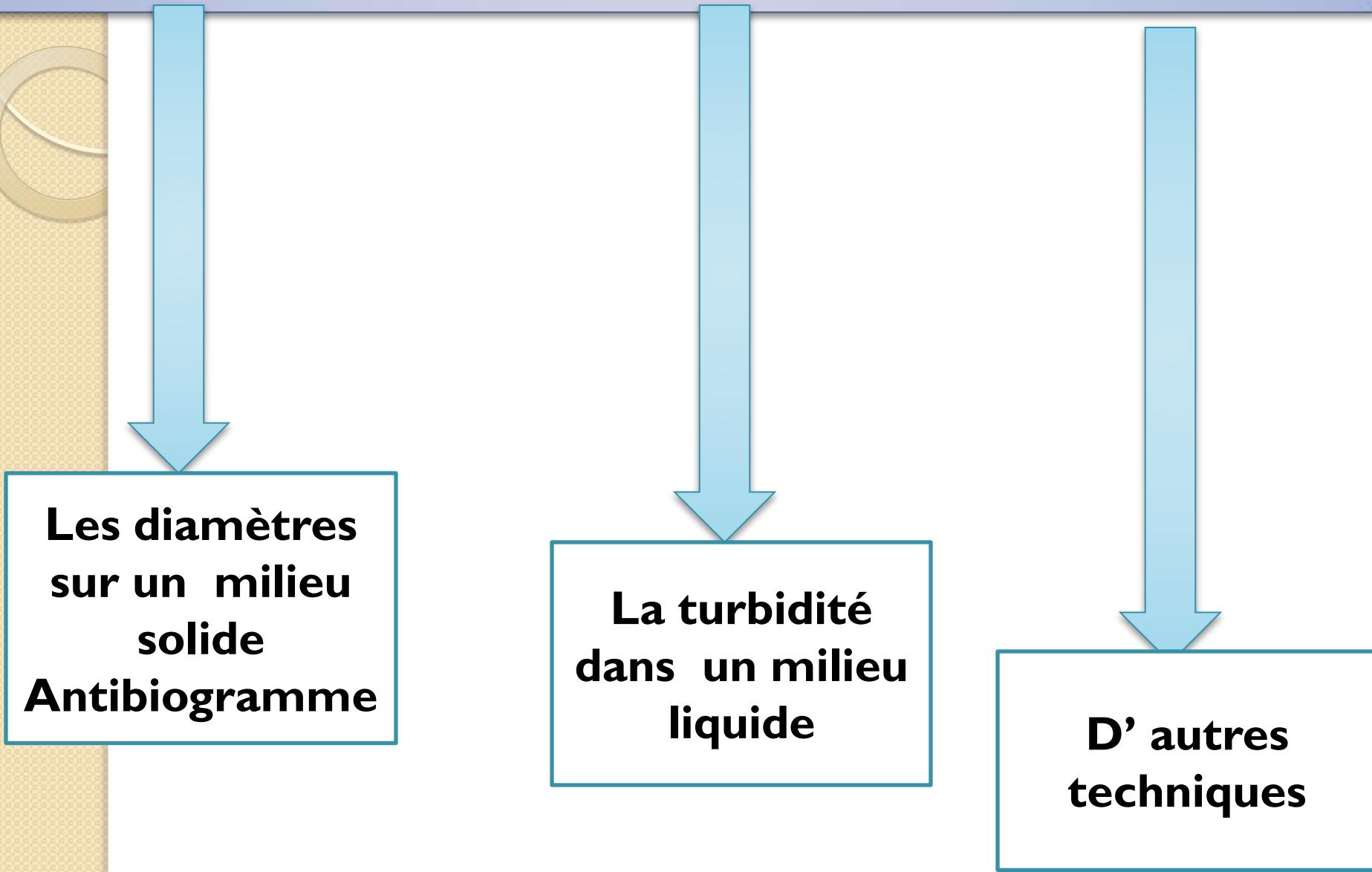
.3Antisepsie

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.

.4Asepsie

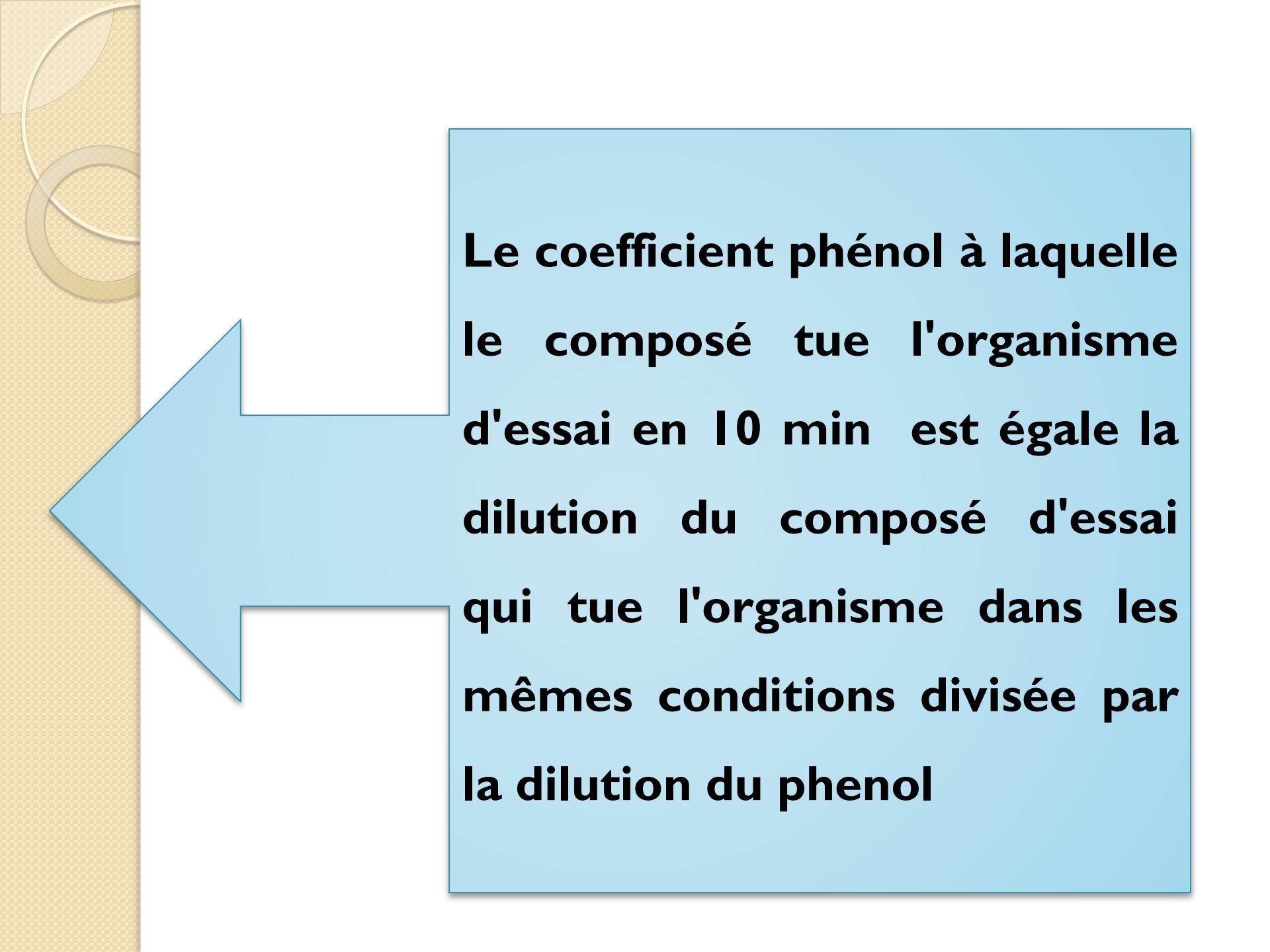
Ensemble des **mesures** empêchant tout apport exogène de micro-organismes. La stérilisation et la désinfection sont des moyens pour réaliser l'asepsie.

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



II.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



4mm

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

2. Préparation de l'inoculum



3 à 5 colonies isolées



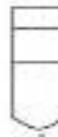
5 mL de bouillon Mueller Hinton (Etalon 0,5 Mc Farland)

OU bouillon de 18h

3. Ensemencement

Ensemencement par INONDATION

Dilution au 1/100



- 1/100^e (Staphylococcus, Enterococcus) (0,1 mL dans 10 mL d'eau stérile)
- 1/1000^e (Enterobactéries, Pseudomonas) (une dose dans 10 mL d'eau stérile)



Inonder avec 5 mL de la dilution



Laisser absorber 30 secondes



Réaspirer l'excès à la pipette



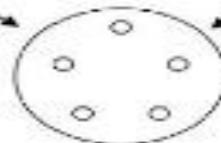
Sécher 15 min à 37°C



4. Dépôt des disques

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

5. Incuber 24h à 37°C



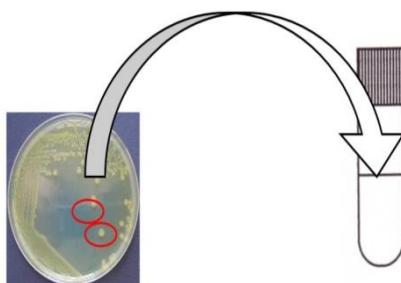
Un disque déposé ne doit pas être déplacé !!!



LECTURE

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

diffusion sur disques

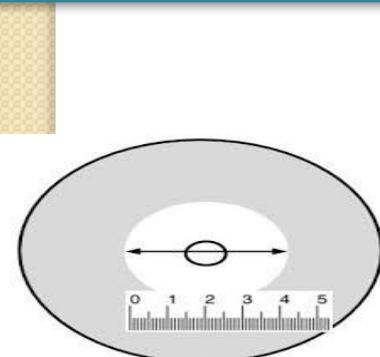


ED ou eau φ stérile

Préparation des suspensions 0.5 Mc Ferland.

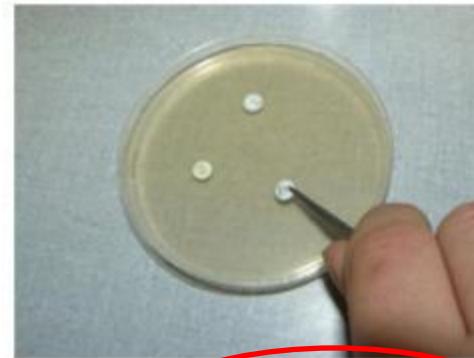


Ensemencement sur gélose par écouvillon



Mesure des zones d'inhibition

Dépôt des disques



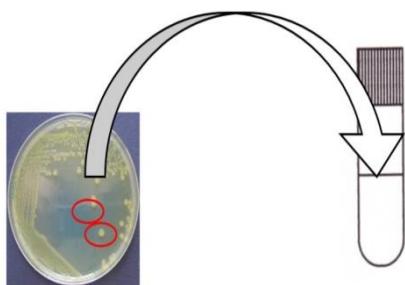
Incubation

VectorStock®

VectorStock.com/5081005



Etude de l'activité antibactérienne: diffusion en puits

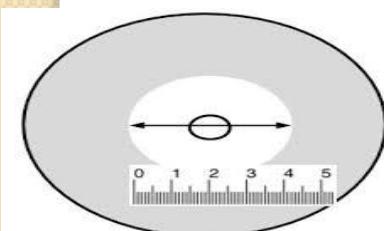


ED ou eau φ stérile

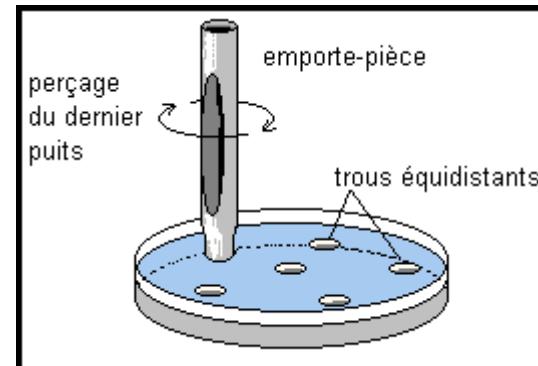
Préparation des suspensions (10^8 UFC/ml).



ensemencement sur gélose par écouvillon



mesure des zones d'inhibition



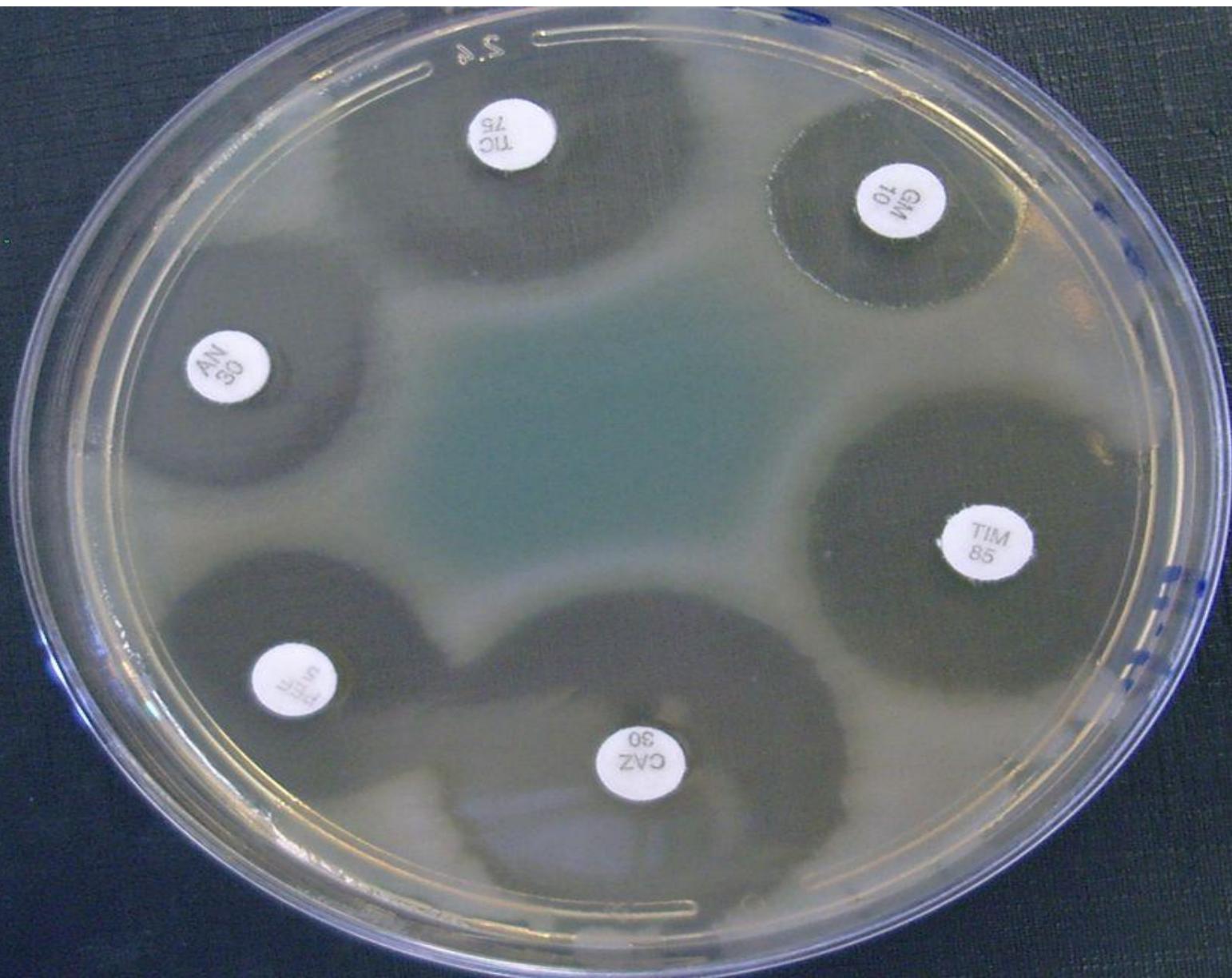
Incubation 24 h à 37°C

Remplissage 20 µl /puits



VectorStock®

VectorStock.com/SOB1005



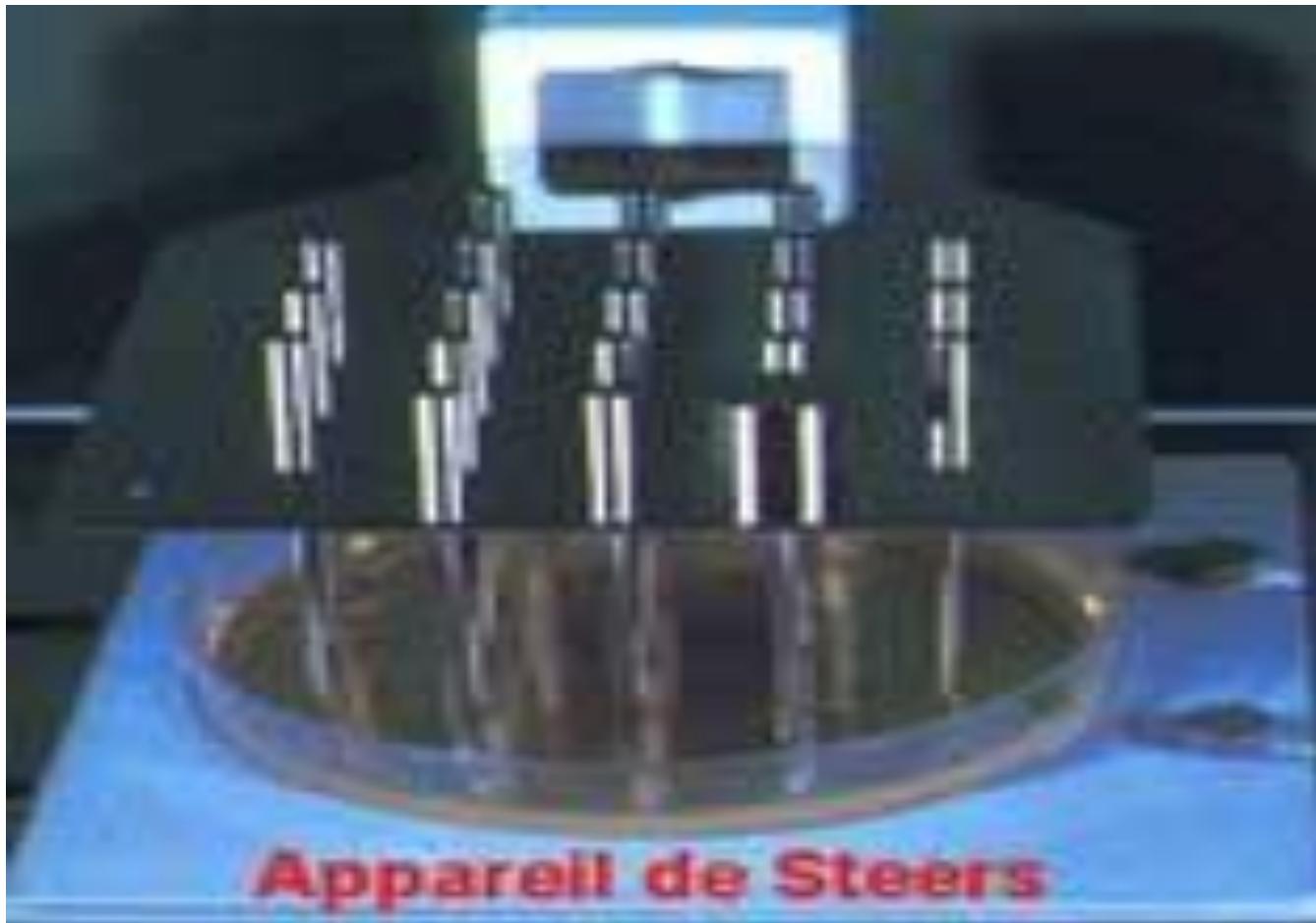
2/ La turbidité dans un milieu liquide

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.

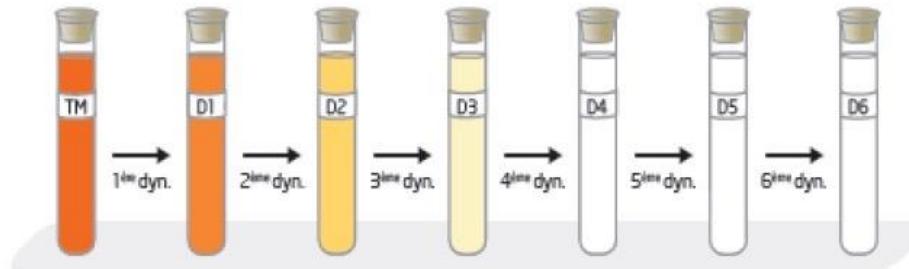
3 méthodes principales :

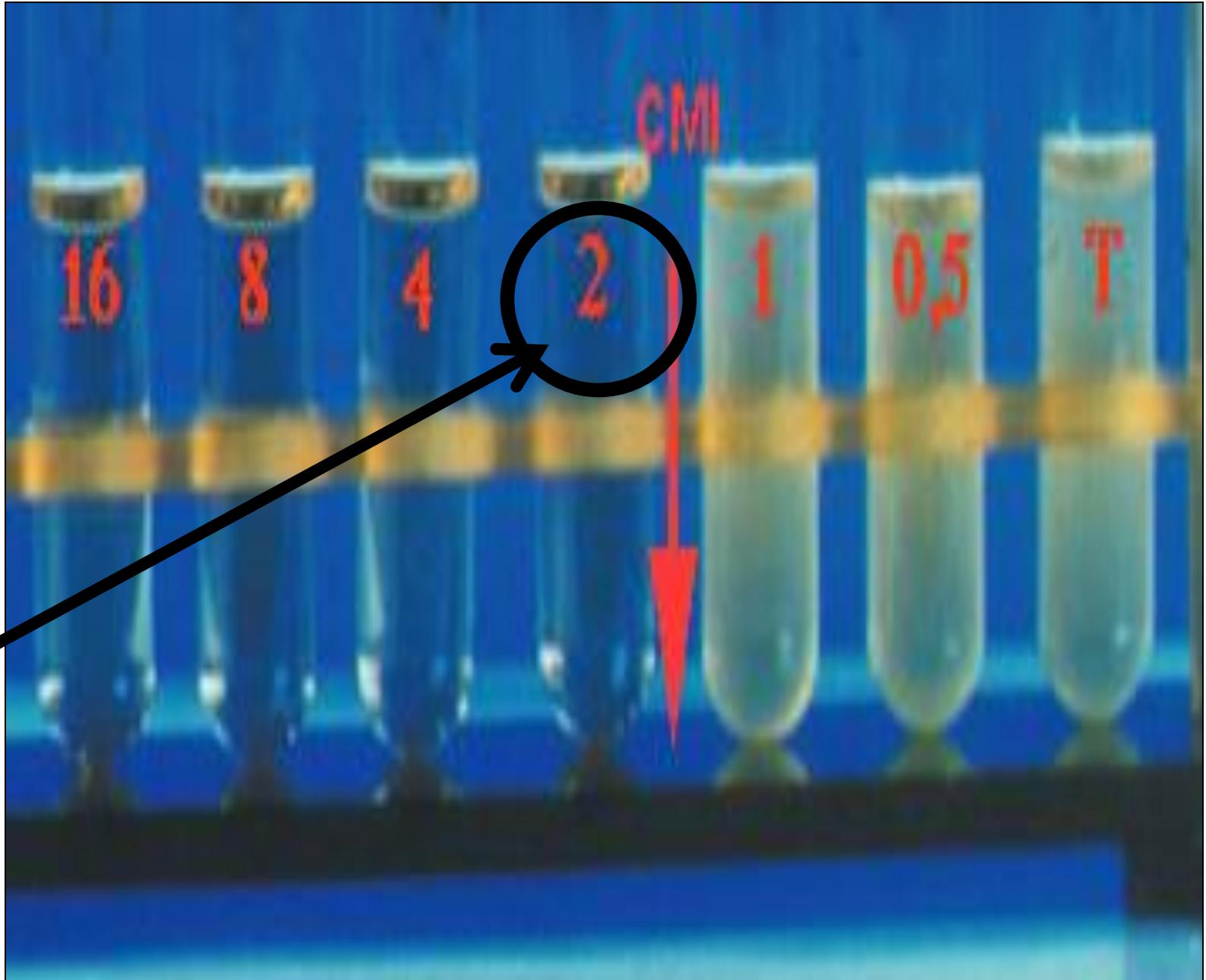
Dilution en milieu gélosé :Appareil de Steers



Dilution en milieu liquide :

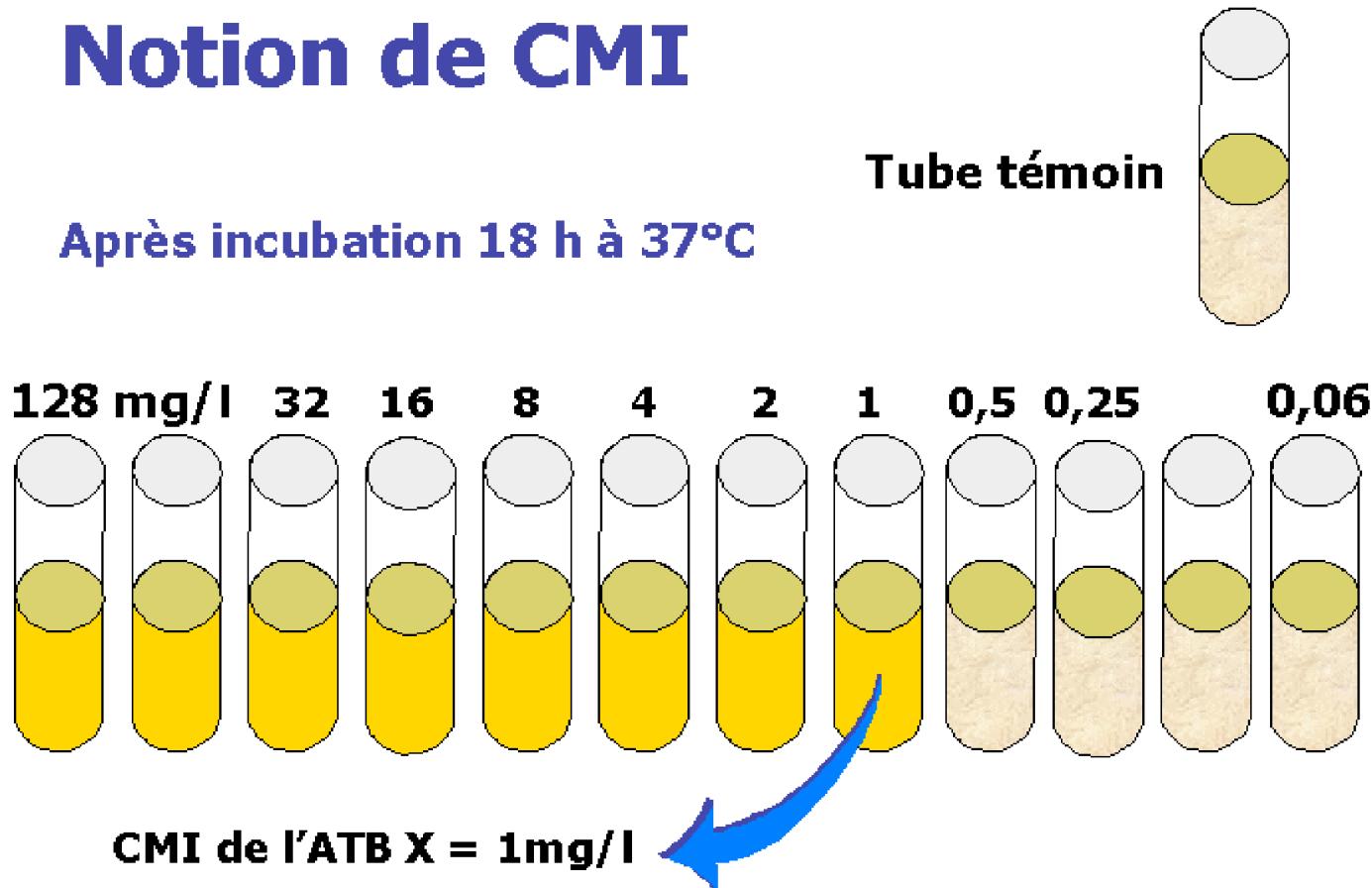
Préparation des dilutions





Notion de CMI

Après incubation 18 h à 37°C

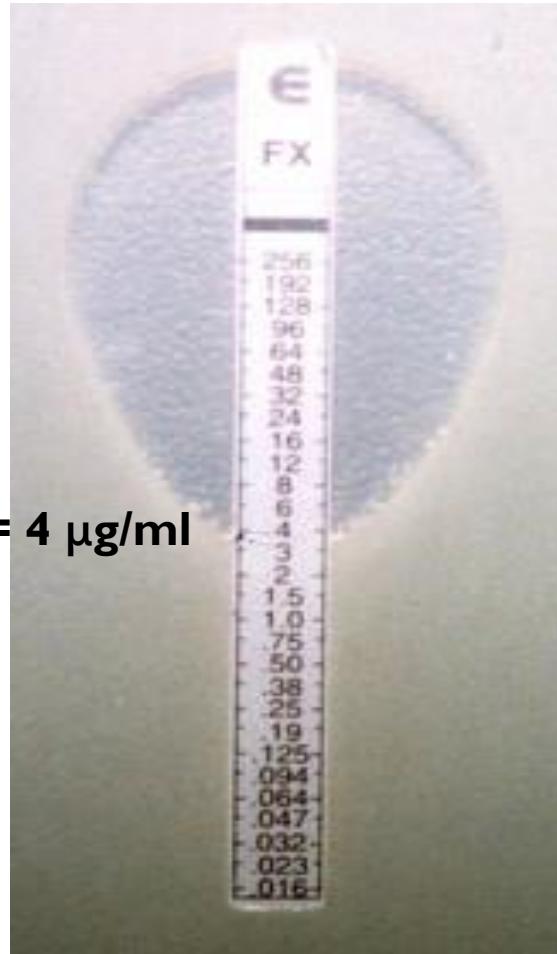


1566 mg
1000 mg d'amoxicilline



Méthode E-Test

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



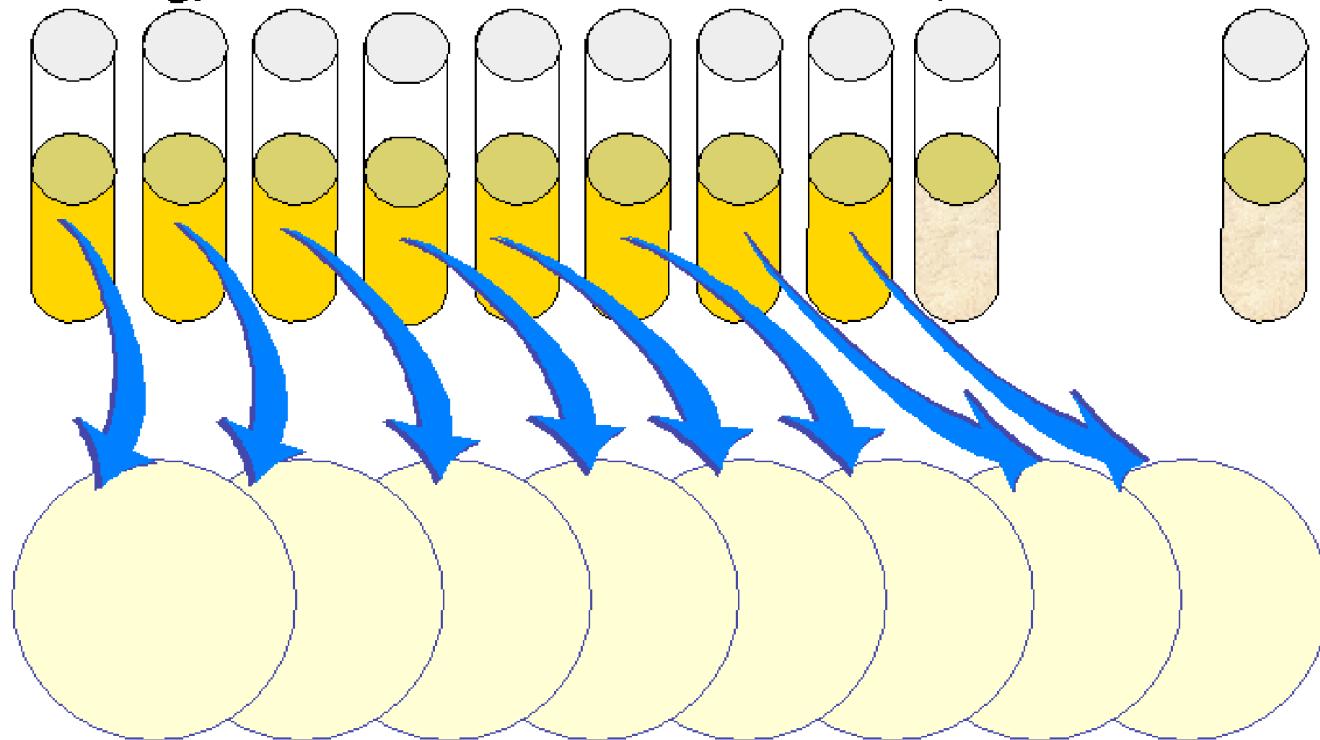
Détermination de la CMB

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

INUCTION DE L'CMD

Après 18 h à 37°C

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



PREPARATION OF 0.5 MCFARLAND

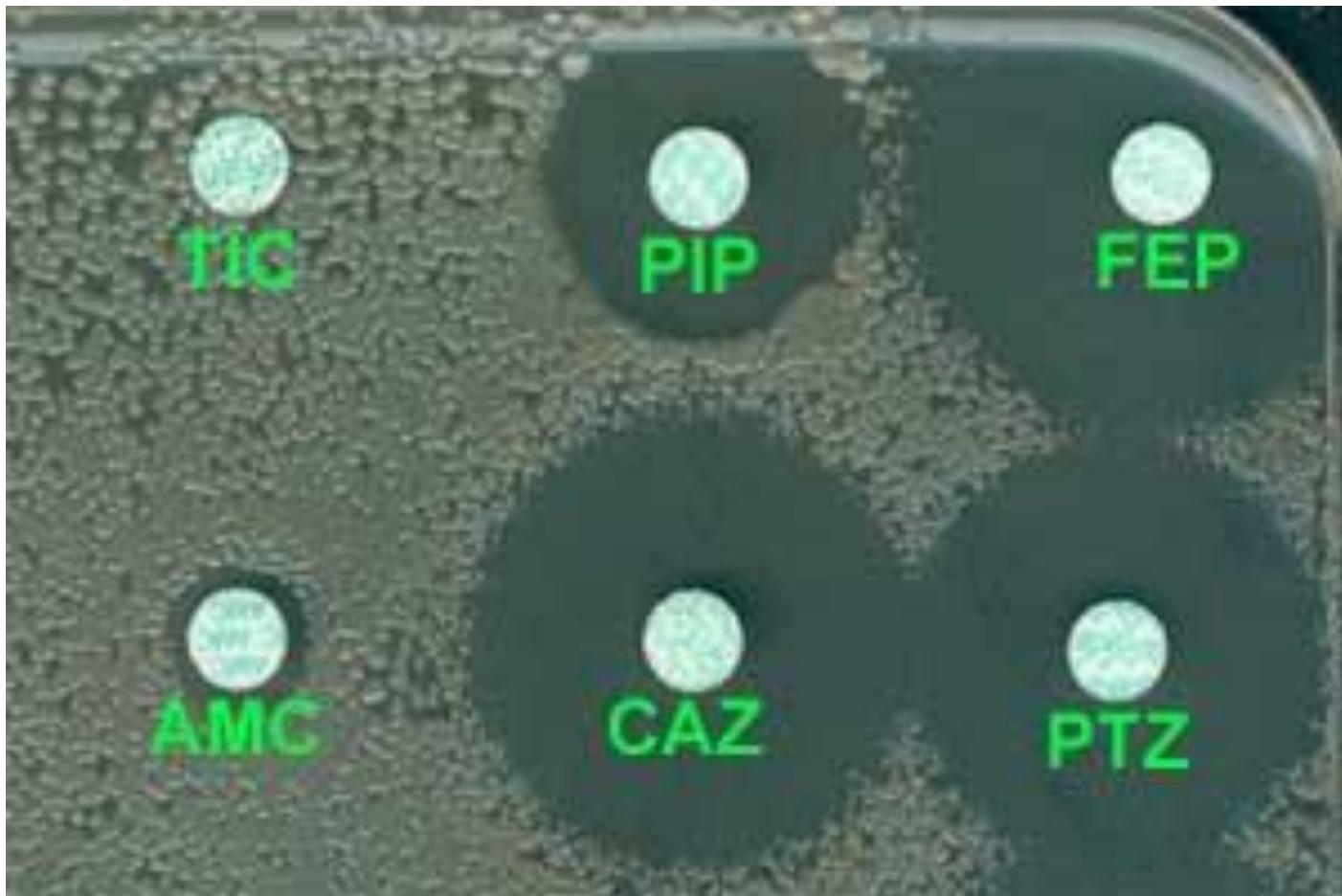
0.5 ml of 0.048 mol/L barium chloride (BaCl_2)
+
99.5 ml of 0.18 mol/L (H_2SO_4)



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