

CHAPITRE 06

LES AGENTS ANTIMICROBIENS



I. GÉNÉRALITÉS

Pour de multiples raisons, il est indispensable de contrôler le développement des microorganismes pour:

- Eviter les effets nuisibles de certaines bactéries sur l'homme et les animaux (Ex. bactéries pathogènes)
- Ou sur les produits de l'activité de l'homme :
Altération des aliments, dégradations diverses.
- Les moyens de lutte sont nombreux, leurs buts est d'inhiber le développement des microorganismes nuisibles (microbiostatiques) mais le plus souvent de les détruire totalement (microbicides).



Selon les différents types de microorganismes, on distingue

- **Algicides** : agents antimicrobiens actifs sur les algues
- **Fongicides** : agents antimicrobiens actifs sur les champignons.
- **Virucides** : Agents antimicrobiens actifs sur les virus
- **Antibiotiques** : Agents antimicrobiens actif sur les bactéries pathogènes.
- **Antiparasites** : Agents antimicrobiens actifs sur les protozoaires



DÉFINITIONS

○ a) Stérilisation :

C'est l'opération qui a pour objet de tuer toutes formes de vie microbienne y compris les endospores contenues dans une préparation. Le matériel traité est dit **stérile** lorsqu' aucun microorganisme n'est revivifiable ou capable de se développer.

○ Les agents utilisés pour assurer la stérilisation sont physiques ou chimiques.

○ Il s'agit d'une oxydation totale de (microorganisme)



b) Désinfection :

- Les désinfectés sont des agents chimiques capables de détruire les germes pathogènes dans les milieux inanimés (extérieurs à l'homme) : Eau, Air, sol, objets et matériaux.
- Ils sont utilisés à fortes doses (concentrations élevées) et pendant des temps de contact prolongés.
Ex : Hypochlorite de sodium (eau de javel) est un désinfectant utilisé pour rendre l'eau potable ou pour traiter les surfaces en vue de les débarrasser des microorganismes.




c) Antiseptie :

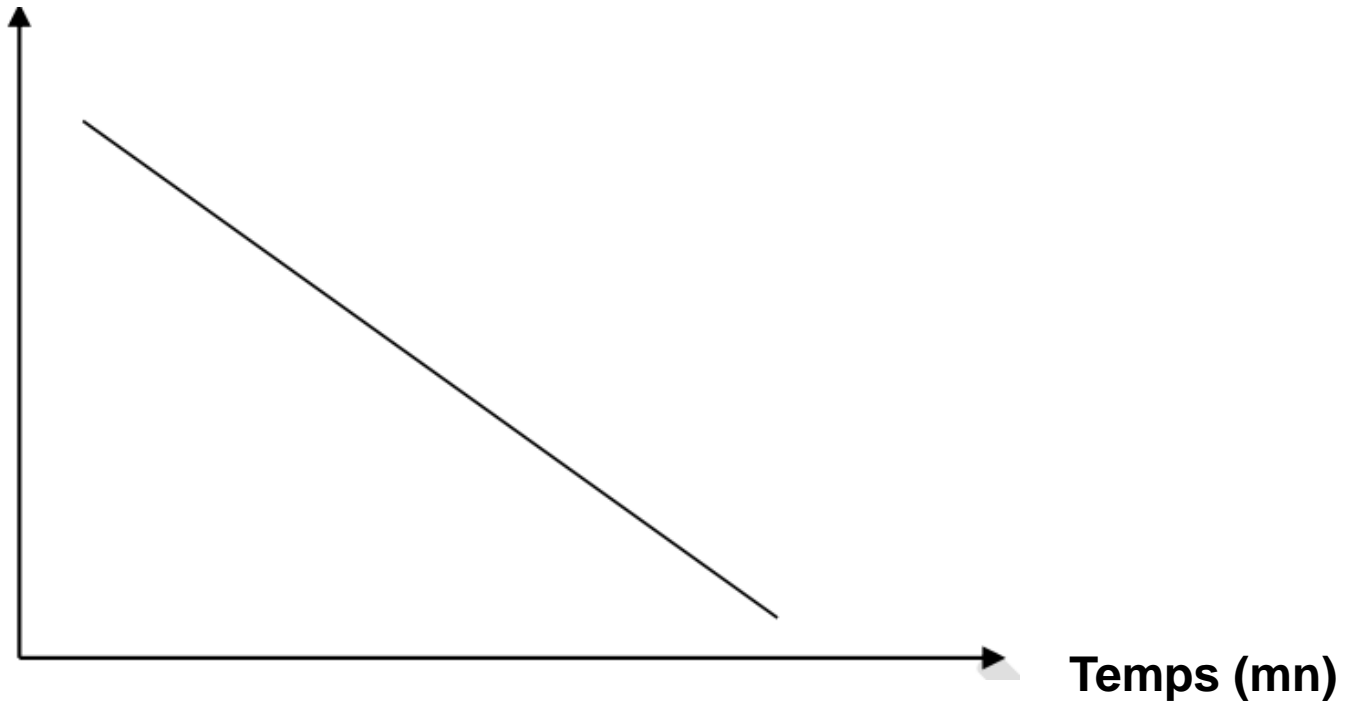
- Un milieu est dit septique, lorsqu'il contient des microorganismes, il est aseptique dans le cas contraire.
- L'asepsie rigoureuse est indispensable en milieu hospitalier, services à haut risque (chirurgie, réanimation).
- Les agents antiseptiques sont des substances chimiques capables de détruire les microorganismes ou d'arrêter leur développement ou leur action. Ils exercent une action locale chez les êtres vivants (au niveau d'une plaie, une muqueuse).

ACTION ANTIMICROBIENNE

a) Schéma d'inactivation

- Lorsque les bactéries sont mises au contact d'un agent antimicrobien, leur destruction suit des lois statistiques.
 - Si on a 10^6 bactéries en suspension dans un milieu donné, ces bactéries ont la même sensibilité vis-à-vis de la substance antimicrobienne. Après une minute, 90% de la population est détruite, il reste 10⁵, après deux minutes 90% de la population restante doit être aussi détruite, il reste 10⁴, après 3, 4 et 5 minutes, il reste 10³, 10², 10¹ bactéries.
 - Le nombre de survivants décroît progressivement en fonction du temps
- 

**Log nombre
des cellules**



Courbe : Action d'un agent antimicrobien en fonction du temps



b) Facteurs influençant l'action antimicrobienne

L'action antimicrobienne dépend de certains facteurs qui la favorisent ou l'inhibent:

- **Microorganisme** : Toutes les espèces bactériennes ne sont pas également sensibles vis-à-vis d'une substance antimicrobienne. Au cours d'une infection, il faut définir une liste de produits actifs sur l'espèce responsable : **Antibiogramme** dans le cas d'étude des antibiotiques.
- **L'état physiologique influe sur la vitalité et la sensibilité** :
Etat physiologique : En phase exponentielle les microorganismes sont plus résistants aux agents antimicrobiens que ceux âgés de 24H et plus.
Formes sporulées ont une résistance particulières aux agents physiques et chimiques.
- **Nombre de germes** : plus il est élevé plus le temps exigé pour leur destruction est élevé.



○ **Agent antimicrobien :**

Pour chaque agent, on définit un **spectre d'activité** (liste des espèces vis-à-vis desquelles il exerce son pouvoir bactéricide ou bactériostatique).

Les désinfectants (formol..) ou les antiseptiques (alcool..) ont un spectre très large.

Les antibiotiques ont un spectre plus étroit. Ex. La pénicilline G n'agit que sur les bactéries Gram (+) (Streptocoque, Staphylocoque....).

Les facteurs influençant son efficacité :

L'intensité pour les agents physiques : plus la T° ou la pression est élevée plus l'action est forte.

La concentration pour les agents chimiques : un antibiotique est bactériostatique à une concentration x et bactéricide à une concentration 2x.



II. CLASSIFICATION DES AGENTS ANTIMICROBIENS

II.1. LES AGENTS ANTIMICROBIENS PHYSIQUES

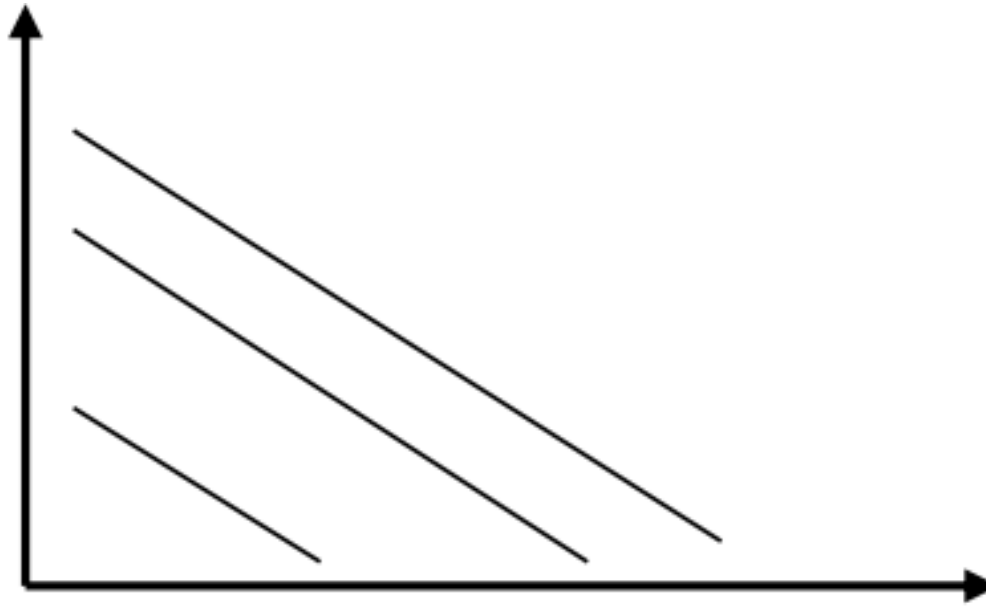
1- Température :

a) Action de la T° : Elle dépend de :

- **L'environnement** : En solution aqueuse, la plus part des microorganismes sous la forme végétative sont rapidement détruite à la température 100°C , par contre, dans un milieu déshydraté, ils sont plus résistants.
- **L'état physicochimiques des cellules** : Formes végétatives inactivées à 50°C à 60°C pendant 30 mn, les formes sporulées sont thermorésistantes, $T^{\circ} > 100^{\circ}\text{C}$ pendant plusieurs dizaines de mn.
- **Nombre de cellules présentes dans le milieu à stériliser** : nombre élevé, temps élevé



Log n



Temps (mn)

Relation entre le nombre des cellules et le temps de stérilisation



b. Procédés

1. La chaleur humide : tue les microorganismes en provoquant la coagulation des protéines.

- La stérilisation par la chaleur humide doit se faire à une température supérieure au point d'ébullition, la méthode la plus courante pour obtenir des températures de cet ordre est l'utilisation de vapeur sous pression dans un autoclave. Ce dernier est une enceinte métallique hermétiquement fermée, dans laquelle l'eau est chauffée et la vapeur d'eau s'élève et atteint 121°C pour tuer les microorganismes y compris les endospores entre 15 à 20mn et la pression $103,42\text{K pa}$ ou 1 bar.
- La stérilisation par chaleur humide dans l'autoclave est très utilisée pour stériliser la verrerie et les milieux de culture, elle est très employée en industrie alimentaire surtout lors de la préparation des conserves alimentaires.

Types de chaleur humide

- **La pasteurisation** : c'est une forme de stérilisation par la chaleur humide, elle a pour rôle d'éliminer les microorganismes pathogènes et de diminuer les microorganismes non pathogènes. Elle est utilisée pour certains produits naturels (lait, jus de fruits, certaines conserves). La pasteurisation élimine les microorganismes sans altérer la valeur nutritionnelle des produits alimentaires.
- **L'ébullition** : utilisée en cuisine pour faire cuire les aliments et donc tous les microorganismes sont détruits.
- **La tyndallisation** : relative à Tyndall, elle a pour objectif la destruction des microorganismes dans les matières sensibles à la température. Le principe de cette méthode repose sur le chauffage de la matière à traiter à 60-70°C pendant 30mn à 1 heure trois répétitions successives à 24H d'intervalle.

b2. La chaleur sèche :

- détruit les microorganismes par oxydation, mais dont l'utilisation est très limitée puisque elle nécessite une température et un temps de contact très élevés.
Ex : Flambage direct (anse de platine), stérilisation par air chaud (four Pasteur : 170°C pendant 2H.
- Généralement, les formes végétatives sont détruites à une température 100°C pendant 1h, alors que les formes sporulées 160 à 170°C pendant 1h, les spores des champignons 115°C à 1h.



2. Les radiations :

- Les rayons ultraviolets sont utilisés pour nettoyer les surfaces par exemple. Ils agissent au niveau des acides nucléiques et des protéines
- Ces rayons UV ont une action sur l'oxygène qui est transformé en ozone (O_3) ou une action sur l'eau qui est transformé en eau oxygénée (H_2O_2), ces deux produits sont toxiques pour les bactéries



3. Les agents mécaniques:

- **a. La filtration :** Généralement utilisée pour stériliser des solutions contenant des substances thermolabiles telles que les protéines, les vaccins, les milieux de culture.
- **b. La centrifugation :** elle permet de sédimenter les microorganismes (présents dans le lait par Ex), elle n'est pas suffisante et doit être complétée par une pasteurisation.



II.2. LES AGENTS ANTIMICROBIENS CHIMIQUES

Mode d'action :

- **Altération de la membrane cytoplasmique :**
L'altération de sa structure entraîne une fuite de substances, une désorganisation du métabolisme et donc la mort. Ex. savons et phénols.
- **Dénaturation des protéines :** Ex. Alcools, solvants organiques, l'eau oxygénée, les sels et les métaux lourds qui coagulent les protéines.
- **Action sur le métabolisme bactérien :**
Les cyanures, les fluorures sont des poisons respiratoires. Les colorants basiques comme le bleu de méthylène, le violet de gentiane agissent au contact des acides nucléiques. D'autres molécules telles que le mercure, le cuivre et les métaux lourds ont une action sur les groupements prosthétiques des enzymes en provoquant leur inactivation

II.3. LES AGENTS CHIMIOTHÉRAPEUTIQUES :

1- Définition : Ce sont des substances capables d'agir sur les microorganismes, tout en étant dépourvues de pouvoir toxiques. Ces agents chimiothérapeutiques sont :

- **Les antibiotiques :** dérivés chimiques élaborés par des microorganismes vivants.
- **Les sulfamides** sont des agents chimiques obtenus par synthèse.
Ils agissent à des concentrations très faibles de l'ordre du $\mu\text{g/ml}$ in vitro. Ils inhibent la croissance (**Bactériostatiques**) ou entraînent la destruction des bactéries (**Bactéricides**).



2- MÉCANISMES D'ACTION DES ANTIBIOTIQUES :

Un antibiotique agit dans la bactérie, à un niveau précis qui lui est propre et qu'on appelle site d'action ou cible moléculaire.

- **2.1. Action sur la paroi cellulaire :** plusieurs classes d'antibiotiques prennent pour cible des enzymes intervenant dans la synthèse de cette paroi
- **2.2. Action sur la membrane cytoplasmique :** Ces ATB peuvent agir de trois (03) manières différentes :
 - Désorganisation de la structure lipoprotéique de la membrane.
 - Perturbations dans le transfert des ions à travers la membrane, conduisant à l'entrée excessive d'ions K^+ . **Ex :** La Gramicidine.
 - Action sur l'ATP ase donc pas d'énergie libérée.



2- MÉCANISMES D'ACTION DES ANTIBIOTIQUES :

- **2.3. Action sur les acides nucléiques :**
 - a. Action sur la réplication de l'ADN : Ex : La Mitomycine empêche la séparation des deux chaînes de l'hélice d'ADN au cours de la division cellulaire.
 - b. Action sur la transcription de l'ADN en ARNm.
- **2.4. Action sur la synthèse protéique :**

Un certain nombre d'antibiotiques agissent sur la synthèse des protéines au niveau des ribosomes (soit la 30S ou la 50S) en empêchant la lecture du code ou en le faussant.



2- MÉCANISMES D'ACTION DES ANTIBIOTIQUES :

○ 2.5. Action sur le métabolisme bactérien :

Les antibiotiques actifs à ce stade sont d'origine synthétique. **Ex** : les sulfamides ont une composition semblable à celle de l'acide para-aminobenzoïque qui est un précurseur de la synthèse de l'acide folique, ils entrent en compétition avec ce précurseur en inhibant la synthèse de l'acide folique



3. RÉSISTANCE DES BACTÉRIES AUX ANTIBIOTIQUES :

Pour qu'un antibiotique soit actif, il doit :

- Pouvoir pénétrer dans la cellule.
- Rencontrer la cible moléculaire pour la modifier ou la perturber.
- Au cours de son contact avec la cellule, il ne doit subir aucune transformation susceptible de l'inactiver.

Les antibiotiques peuvent être naturellement inefficaces contre certaines bactéries (résistance naturelle) ou devenir inefficace contre des bactéries sensibles à l'antibiotique (résistance acquise).



4. MESURE DE L'ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE :

Deux techniques sont utilisées pour déterminer l'activité antibactérienne, dont le but est de sélectionner l'antibiotique le plus efficace et/ou déterminer la concentration nécessaire et suffisante pour éliminer un agent infectieux (bactérie) d'un organisme malade.

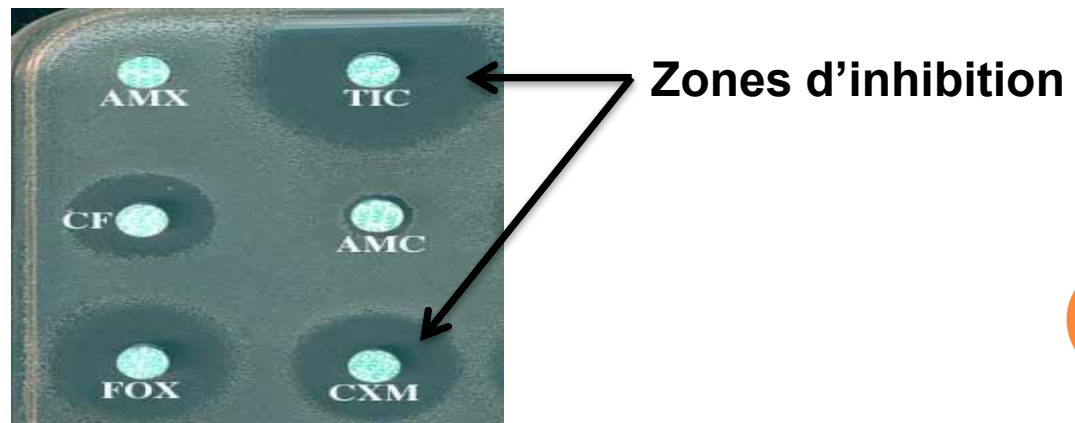
a- Diffusion sur gélose : Antibiogramme

b- La CMI : Concentration minimale inhibitrice



A. DIFFUSION SUR GÉLOSE : ANTIBIOGRAMME

- Cette technique consiste à étaler la suspension bactérienne de la bactérie à étudier sur la gélose Mueller-Hinton préalablement coulé en boîte de Pétri, application des disques d'antibiotique et incubation à 37°C pendant 18H. Un résultat positif se traduit par l'apparition d'une **zone d'inhibition** au tour du disque. Dans ce cas, on dit que la bactérie est **sensible** vis-à-vis de cet antibiotique.



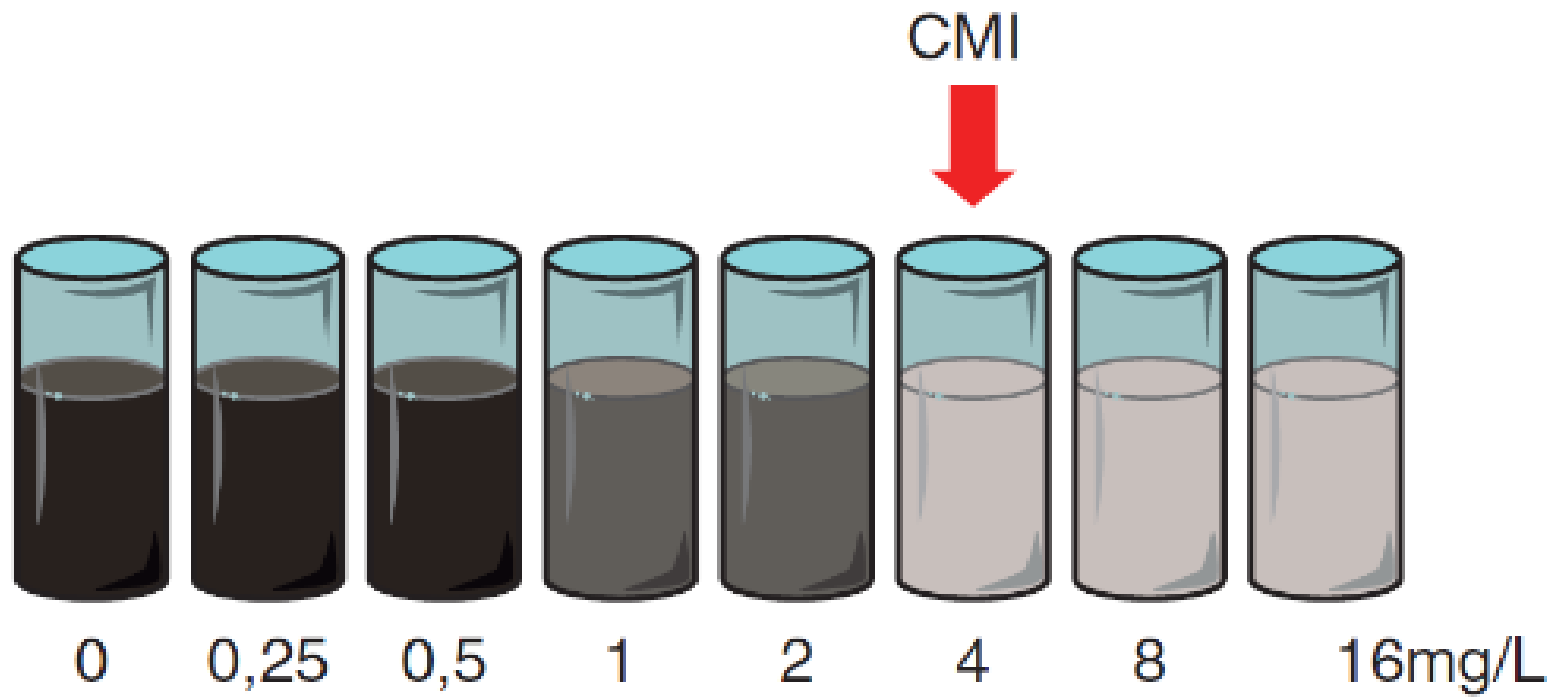
B. LA CMI : CONCENTRATION MINIMALE INHIBITRICE

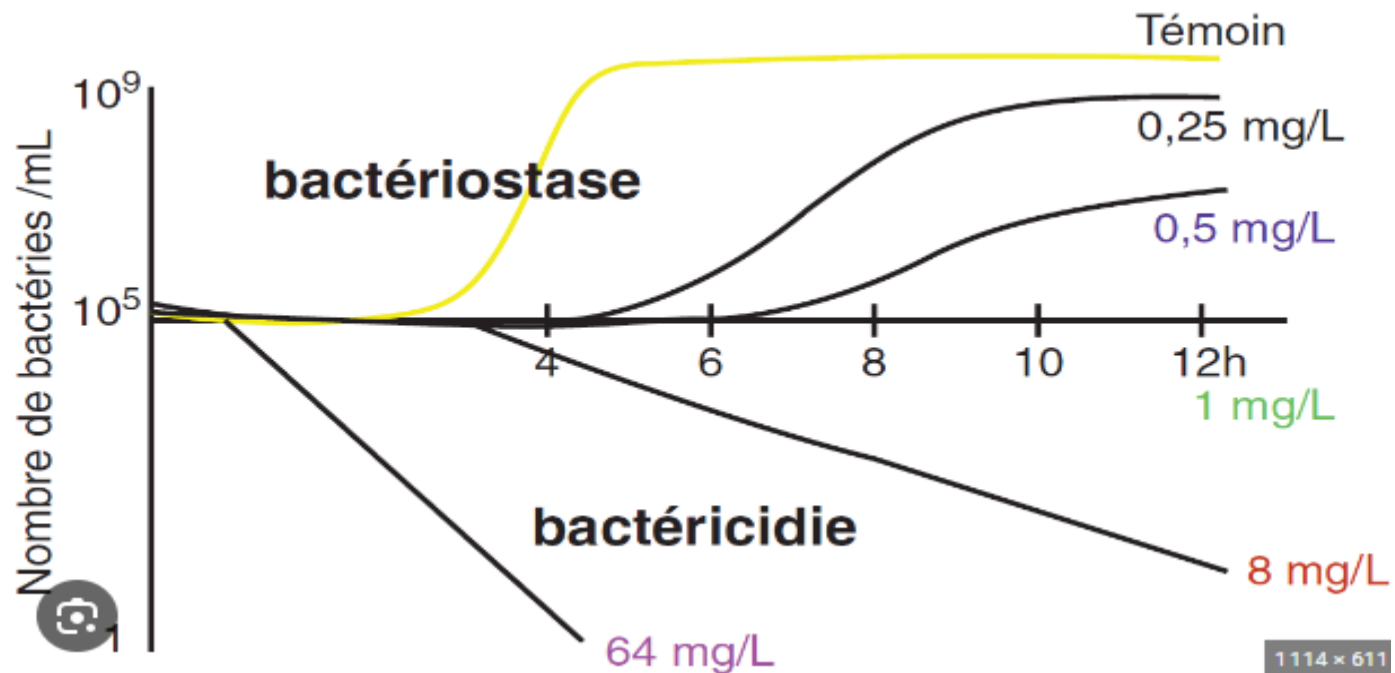
- On prépare une série de tube contenant un milieu de culture liquide, on l'ensemence d'un même nombre de bactérie (10^5 cellule/ml soit 0,5 mc Farland) avec des concentrations croissantes de l'antibiotique, le premier tube est un tube témoin (standard) contient seulement la suspension bactérienne. Les tubes sont ensuite incubés à 37°C pendant 18h.
- Puis on trace la courbe de croissance de chacune des cultures : Dans le tube témoins, la croissance évolue selon la courbe classique (contient toutes les phases de croissance), dans les tubes contenant les antibiotiques, la courbe varie avec la concentration de l'antibiotique



- Les faibles concentrations ($0,25\mu\text{g/ml}$) n'entraînent aucun effet, et au fur et à mesure que la concentration de l'antibiotique augmente on observe un **aplatissement** de la courbe lié à un allongement du temps de génération des bactéries.
- Le nombre de bactéries se rapproche à celui de l'inoculum (10^5). La concentration de l'antibiotique qui permet le maintien du nombre des bactéries identique à celui de l'inoculum, correspond à la **Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)**.
- Si l'on augmente la concentration de l'antibiotique au-delà de la CMI, il y a chute du nombre de bactéries au-dessous de celui de l'inoculum, c'est un effet **bactéricide**.







Aplatissement de la courbe de croissance en fonction de la concentration d'ATB

Bactériostase : Le nombre de bactéries viables après un temps d'incubation et de contact donné avec un antibiotique est inférieur à celui observé. Donc ralentissement ou arrêt de la croissance quantifiable en termes de **CMI**.

Bactéricidie: Le nombre de bactéries **tuées** après un temps d'incubation et de contact donné avec un antibiotique est inférieur à celui déterminé au temps 0. Donc arrêt de la croissance et mortalité quantifiable en termes de **CMB** (concentration minima inhibitrice en mg/l)