

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie



AGENTS ANTIMICROBIENS ET RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

Support pédagogique destiné aux étudiants de Licence
Microbiologie.

Dr. OULMI Lamia

Année universitaire 2016 - 2017

Introduction

La matière, agents antimicrobien et résistances aux antibiotiques, est consacrée au contrôle et à la destruction des microorganismes, un sujet d'une immense importance pratique.

Si les microorganismes sont, pour la plupart, bénéfiques et nécessaire au bien-être humain, les activités microbiennes peuvent avoir des conséquences indésirables. Donc, il est essentiel de contrôler leur développement de manière à minimiser leurs effets destructeurs.

L'élimination et la destruction des microorganismes peuvent être recherchées pour la protection d'un individu (la prévention de la maladie et la sécurité du personnel dans les laboratoires et les hôpitaux) ou d'un produit en bioindustries (conservation des produits alimentaires, cosmétiques).

Au niveau du laboratoire, les agents antimicrobiens s'appliquent aux techniques aseptiques utilisées en recherche microbiologique et sont utiles pour la sélection et l'identification de nombreuses espèces microbiennes : milieux d'isolement sélectifs, tests de résistance aux inhibiteurs, etc.

La capacité à détruire les microorganismes demande la mise en œuvre d'agents antimicrobiens physiques et chimiques qui servent pour la stérilisation et la désinfection des matériels, des locaux, de l'eau et des aliments, etc.

Par ailleurs, il existe des cas où la destruction accidentelle de microorganismes utiles doit être évitée : fermentation industrielles, systèmes d'épuration, etc. Il est alors nécessaire d'éviter et de contrôler la présence d'agents antimicrobiens éventuellement présents.

1. Définitions

La stérilisation (du latin *sterilis*, stérile, infécond) est le procédé par lequel on détruit ou on élimine, d'une façon durable, toutes les formes vivantes, et d'inactiver les entités acellulaires (les virus et les prions) contenus dans une préparation ou sur un matériel.

Un objet **stérile** est totalement exempt de microorganismes, de spores, ou d'autres agents infectieux. Le matériel ou le produit traité est dit stérile lorsqu'aucun germe n'est revivifiable ou capable de se développer (perte irréversible du pouvoir de reproduction). Le produit doit être maintenu dans un emballage imperméable à toute recontamination. Utilisée sur les objets inanimés, les agents utilisés pour assurer la stérilisation sont physiques ou chimiques.

La désinfection : est la destruction, l'inhibition ou l'élimination des microorganismes potentiellement pathogène et également réduire de manière substantielle la population microbienne totale. Le désinfectant ne stérilise pas nécessairement un objet parce qu'il peut encore laisser des spores viables (endospores bactériennes). L'action de la désinfection est momentanée contrairement à la stérilisation.

Les désinfectants : sont des agents de nature chimique, utilisés uniquement sur des objets inanimés. On peut de ce fait, les utiliser en fortes doses et pendant des temps de contact prolongés. Ils peuvent être sous forme de :

- vapeurs (formol, gaz sulfureux, oxyde d'éthylène)
- liquides (phénols, sulfate de cuivre, de fer, eau de Javel, permanganate de potassium)
- solide (chaux vive).

L'antisepsie (du grec *anti*, contre et *sepsis*, putréfaction) est la prévention de l'infection sur le tissu dans le but de détruire ou d'inhiber le développement de l'agent pathogène.

Les antiseptiques : sont des produits chimiques, leur action est limitée aux espèces sur lesquelles le produit est actif. Ils agissent au niveau des tissus vivants dans la limite de leur tolérance : teinture d'iode, mercryl laurylé, permanganate de potassium, eau oxygénée etc. Parce qu'ils ne doivent pas détruire le tissu hôte, les antiseptiques sont généralement moins toxiques que les désinfectants. Leur action est quasi instantanée mais non durable dans le temps.

Aseptique : qualificatif d'un milieu ne contenant pas de microorganismes.

Septique : qualificatif d'un milieu contenant de microorganismes. Un produit est qualifié de non stérile ou de septique s'il contient des microorganismes.

Asepsie : ensembles de mesures permettant d'empêcher tout apport extérieur de microorganismes. Ce terme est plutôt utilisé pour les manipulations.

2. Action des agents antimicrobiens

Le rôle des agents antimicrobiens est d'éliminer les microorganismes, d'inhiber leur croissance ou de les détruire.

On emploie un suffixe particulier pour indiquer l'action de l'agent antimicrobien.

Les substances destructrices d'organismes (traitement de destruction) ont souvent le suffixe *-cide* (du latin *coedere*, tuer) : un germicide détruit les germes mais pas nécessairement les endospores. Donc avoir une action létale :

- **bactéricide** : tue les bactéries à l'exception éventuelle des spores (endospores)
- **sporicide** ou sporulicide : tue les spores bactériennes (endospores),
- **fongicide** : tue les champignons (y compris leurs spores mais ces spores ne présentent pas les mêmes propriétés de résistance que celles des endospores bactériennes)
- **viricide** ou **virulicide** : inactive les virus.

D'autres substances ne tuent pas mais elles empêchent le développement des microorganismes (traitement de stabilisation). Leurs noms se terminent par le suffixe *-statique* (du grec *statikos*, provoquent une station debout, s'arrêtant), par exemple : biostatique (bactériostatiques, fongostatiques ou virustatiques).

- **bactériostatique** : inhibe momentanément le développement bactérien
- **fongistatique** : inhibe momentanément le développement mycélien,

Certains agents présentent ces deux modes d'action en fonction des doses.

Le spectre d'action d'un agent antimicrobien est l'ensemble des germes sur lesquels l'agent antimicrobien ou le procédé exerce son action biostatique ou biocide. Il traduit l'activité de cet agent. On parle donc de spectre très large, large, moyen ou étroit.

3. Les agents physiques

3-1. Les traitements thermiques

3-1-1. Effet de la Température sur la croissance microbienne

La température influence profondément la multiplication microbienne aussi bien que le métabolisme (sensibilité thermique des réactions catalysées par les enzymes).

La croissance microbienne a une dépendance envers des températures dites cardinales (figure 1) : températures de croissance minimales (T_{min}), maximales (T_{max}) et optimales (T_{opt}). La T_{opt} , où la capacité de croissance est maximale, est toujours plus proche de la T_{max} que de la T_{min} .

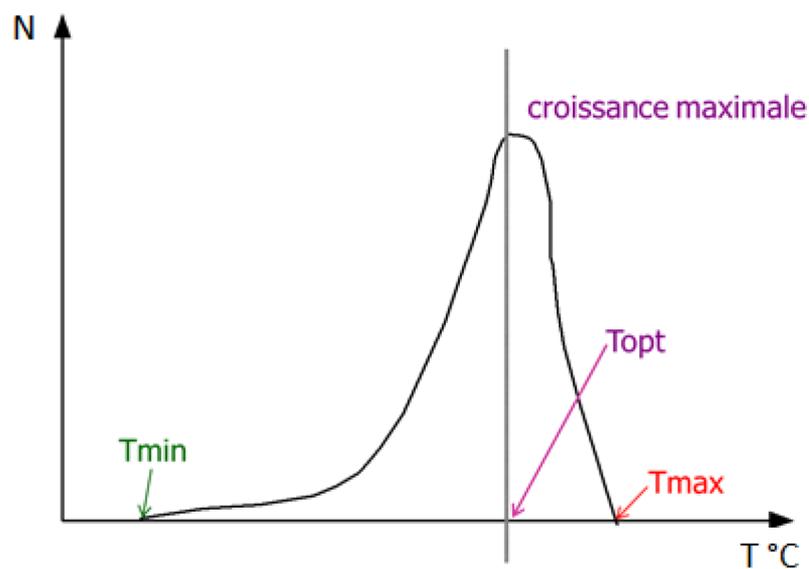


Figure 1 : L'effet de la température sur la croissance d'un microorganisme.

Avant la T_{opt} la capacité de croissance augmente régulièrement avec la température. La vitesse de catalyse augmente et double environ à chaque augmentation de 10 °C de la température. Le métabolisme global est activé, et le microorganisme se développe plus vite.

Après la T_{opt} , la capacité de croissance diminue due aux effets délétères de la température sur les enzymes, les systèmes de transport et d'autres protéines.

La température a aussi un effet significatif sur les membranes microbiennes. Aux très faibles températures, les membranes se solidifient. Aux températures élevées, la bicouche lipidique fond et se désintègre.

Aux températures supérieures à la T_{max} , il n'y a plus de croissance. Mais, les microorganismes ne sont pas toujours tués. Cela dépend de la valeur de la température

et du microorganisme. Exemple typique avec les bactéries du genre *Enterococcus* qui ne cultivent pas au-delà de 46 °C, mais qui supportent l'action de 60 °C durant 30 minutes.

3-1-2. Influence de la température sur la destruction microbienne

Les principaux groupes microbiens diffèrent par leur température de croissance maximale. La limite supérieure pour les protistes est de 50 °C environ. Les procaryotes peuvent vivre à des températures beaucoup plus élevées que les eucaryotes. L'appareil photosynthétique paraît aussi relativement instable car on ne trouve pas d'organismes photosynthétiques se développant à des températures très élevées.

L'étude expérimentale

Soit (N_0) le nombre initial de microorganismes d'une culture microbienne soumise à une température constante assez élevée pour exercer un effet nuisible sur ceux-ci.

On réalise une série de mesure du nombre N de germes revivifiables en fonction de la durée (t) d'exposition à cette température (figure 2 A).

On utilise parfois les logarithmes décimaux (\log) pour représenter le nombre de microorganismes et on appelle temps de réduction décimale (t_{10} ou valeur D) le temps nécessaire à la division de la flore par facteur 10 (figure 2 B).

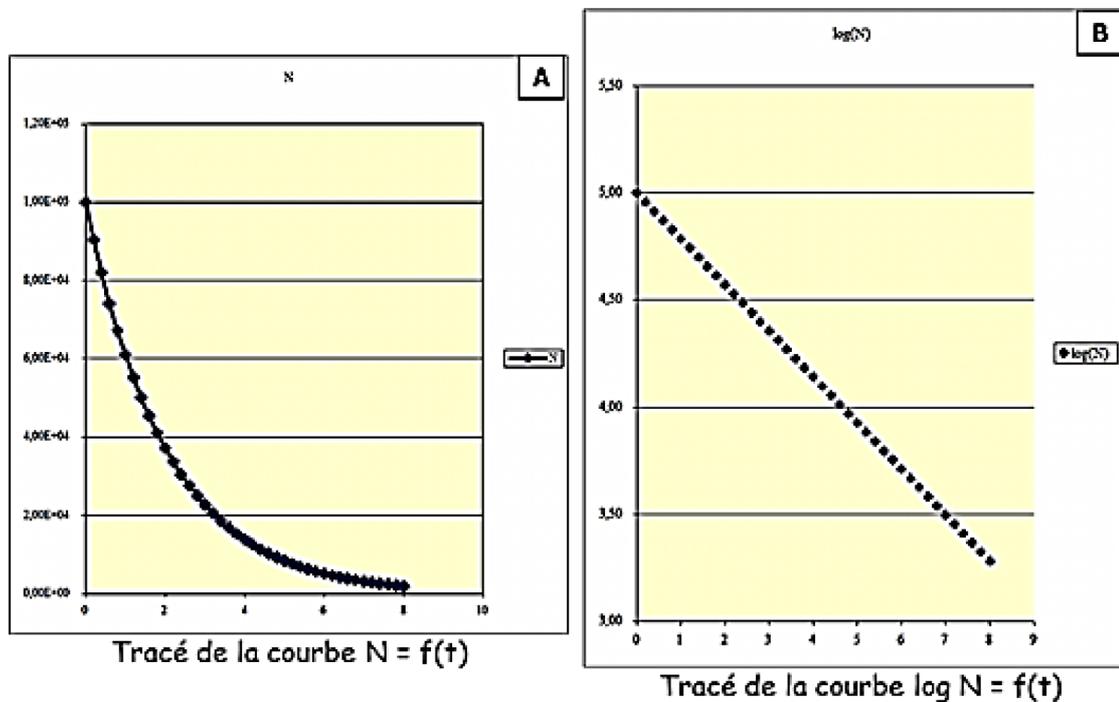


Figure 2: Influence de la température sur la destruction microbienne

Résultat et interprétation

La décroissance de la population microbienne est exponentielle en fonction du temps, ce

qui peut s'écrire : $\frac{dN}{dt} = -kdt$,

dN étant le nombre de microorganismes inactivés dans l'espace de temps dt.

K est une constante de vitesse qui permet de quantifier l'intensité du traitement.

Lorsque K diminue, t doit augmenter et vice versa.

Conclusions

La durée nécessaire pour obtenir (à une température donnée) une diminution importante du nombre de germes est d'autant plus longue que le produit au départ est plus contaminé.

L'efficacité d'une destruction thermique dépend de la charge initiale du produit en microorganismes.

Donc, d'une façon générale, il est nécessaire :

- de limiter au maximum la contamination d'un produit alimentaire ou pharmaceutique, même si celui-ci doit ensuite être stérilisé
- de nettoyer convenablement les objets à stériliser.

3-1-3. Relation entre la température d'exposition et la durée d'exposition

L'étude expérimentale

Soit un jus de maïs à pH 6,1 contaminé par $1,15 \cdot 10^5$ spores par cm^3 .

Nous cherchons à déterminer la durée nécessaire à la destruction de toutes les spores en fonction de la température.

Les résultats sont représentés dans la figure suivante :

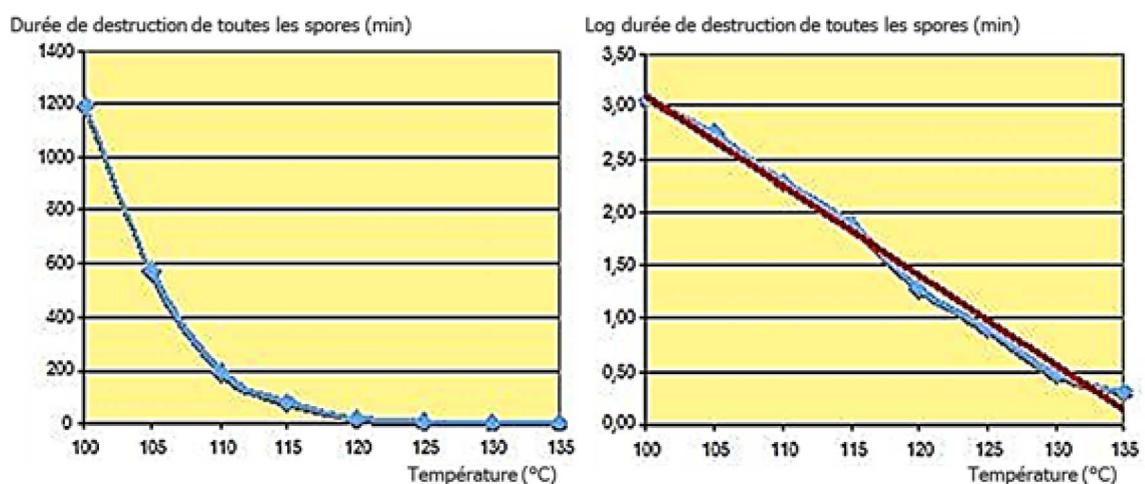


Figure 3 : Tracé de la courbe $t = f(T^\circ)$ et de $\log t = f(T^\circ)$

Conclusions

- Plus la température est élevée et plus la destruction est rapide (réduction du temps de traitement).
- Le phénomène de destruction suit une décroissance logarithmique.

3-1-4. Autres paramètres influençant l'effet de la température

Influence du milieu de stérilisation

La présence d'eau, de nitrites... accélèrent la stérilisation.

La nature des microorganismes présents dans le milieu

Les formes végétatives des levures et des moisissures, les spores de moisissures, les bactéries non sporulées (en particulier les bacilles Gram négatif) sont détruites par des traitements thermiques modérés.

La destruction des spores bactériennes nécessite un traitement thermique plus élevé.

3-1-5. Les procédés de stérilisation par la chaleur

Plusieurs méthodes sont utilisables en fonction des besoins.

a) Procédés utilisant la chaleur sèche

Le bec bunsen (le flamage) : Ce procédé consiste à maintenir l'objet à stériliser dans la flamme chauffante du bec bunsen (chaleur sèche). Cette méthode est utilisée pour la stérilisation extemporanée du matériel de manipulation (fils de platine, extérieurs et extrémités des pipettes Pasteur ou graduées, col des tubes à essais, des flacons et des fioles, ouverture de récipients, spatules, etc.). Il se produit à sa surface une destruction totale des matières organiques.

Le four Pasteur : est utilisé pour la stérilisation à sec (par l'air chaud) de la verrerie vide, objets en porcelaine, les seringues métalliques, les aiguilles, les pièces de métal.

Le matériel à stériliser, propre et parfaitement sec, bouché au coton et éventuellement emballé dans du papier solide (papier Kraft ou papier journal), est disposé à l'intérieur du four. Il subit un chauffage de 30 minutes à 170 – 180 °C. On stérilise parfois à 160 °C pendant deux heures afin d'éviter le brunissement du coton. Le matériel ainsi stérilisé sera laissé dans l'étuve jusqu'à son refroidissement complet, ensuite stocké à l'abri des poussières.

L'incinérateur : Il est utilisé pour la destruction du matériel contaminé non récupérable par carbonisation totale.

b) Procédés utilisant la chaleur humide

La stérilisation par autoclavage (destruction des spores) : Elle est réalisée en autoclave. Cette opération nécessite une température de 120 °C ou plus, obtenue par augmentation de la température d'ébullition de l'eau grâce à une pression d'au moins 2 kPa. La température utilisée est inférieure à celle utilisée en chaleur sèche car les microorganismes sont plus sensibles à la température en atmosphère humide.

La saturation de l'atmosphère en eau permet la stérilisation de milieux liquides sans évaporation. Il est déconseillé de stériliser par autoclavage les liquides albumineux, le lait, les solutions concentrées de glucides, la gélatine et toute autre solution facilement hydrolysable

La thyndalisation, procédé décrit par THYNDALL, nécessite une température relativement basse de 60 °C ou 70 °C. La durée de chauffage doit être de 30 minutes ou 1 heure, répétée trois fois constitutives en ménageant un intervalle de 12 à 24 heures à température ambiante entre chaque chauffage. Au cours du chauffage, seules les formes végétatives sont inactivées tandis que dans les intervalles, la plupart des spores thermorésistantes germent et sont sensibles au chauffage suivant. Donc destruction des spores sans l'emploi d'une température excessive.

Cette méthode est utilisée pour les milieux fragiles contenant le sérum, les œufs ou toute substance thermosensible de forte viscosité qui ne peut être stérilisée par autoclavage ou par filtration.

La pasteurisation, utilisée pour les milieux de culture comme pour les aliments, il est important de choisir des conditions qui assurent une bonne destruction microbienne, une destruction minimale des vitamines, et une production minimale de réactions défavorables comme les réactions de Maillard.

La pasteurisation entraîne la destruction des formes végétatives, en particulier de celles des microorganismes pathogènes ou responsables d'altérations organoleptiques, à l'exclusion de la plupart des formes sporulées bactériennes. Elle est obtenue par différents couples temps-température : 30 minutes à 60-65 °C, 10 minutes à 80 °C, quelques secondes à 90 °C, quelques fractions de seconde à une température supérieure à 100 °C.

La pasteurisation est toujours suivie d'un refroidissement rapide. Elle peut se faire en bouteilles ou en vrac.

Les diverses pasteurisations

Basse pasteurisation : le produit est maintenu au moins 30 minutes à 60-65 °C dans une enceinte à double paroi dans laquelle se trouve de l'eau chaude.

Exemples : Pasteurisation des jus de fruits.

Haute pasteurisation : le produit est chauffé pendant un temps très court (15 secondes à 2 minutes) à une température élevée (70 à 90 °C). Cette opération se fait dans des appareils à plaques ou à tubes.

Exemples : Pasteurisation du lait et des purées de légumes.

La stérilisation UHT (ultra haute température) : le procédé consiste à porter le produit sous couche mince pendant quelques secondes à 138 °C à 140 °C. Toutes les formes végétatives sont détruites, ainsi que les formes sporulées. Cette méthode est très sensible, il y a un grand risque de dénaturation du produit.

Autres méthodes : d'autres techniques de stérilisation par la chaleur sont utilisables comme le flambage à l'alcool qui est utilisé pour la stérilisation de matériel de manipulation en verre, tels les râtaux à étaler ou la désinfection des paillasses.

3-1-6. Les procédés de stabilisation par le froid

Le froid entraîne le ralentissement de la croissance et des transformations microbiennes.

La réfrigération qui utilise une température proche de 0 à 4 °C empêche la multiplication de nombreux germes mésophiles et donc celle de la plupart des microorganismes pathogènes, mais pas celle des germes psychrophiles. À -12 °C, un blocage de la croissance de la plupart des microorganismes est observé. La congélation à -18 °C et la surgélation (-40 °C et même -80 °C) permettent une stabilisation totale vis-à-vis des microorganismes (il n'y a plus de multiplication microbienne) et entraîne une mortalité plus ou moins importante selon la nature des germes et la vitesse de refroidissement.

3-2. Stérilisation par les radiations : Radiostérilisation

On appelle irradiation l'action de soumettre un produit ou un matériel à un rayonnement.

3-2-1. Stérilisation par radiations ionisantes β et γ

Les rayonnements ionisants (β , γ) pénètrent profondément la matière. Ils sont utilisés pour la stérilisation industrielle des boîtes de Pétri, pipettes et flacons en matière plastique.

Les rayons Bêta sont des électrons accélérés, produits par un accélérateur électrostatique. Ces rayons traversent plusieurs dizaines de centimètre de la matière solide. Les rayons gamma sont des ondes électromagnétiques produits par un isotope radioactif (Cobalt 60). Ce rayonnement traverse le double de celui du rayonnement Bêta

Action : une irradiation ionisante est liée à la formation d'ions par perte d'électrons. En effet, les rayons arrachent les électrons des atomes de la matière ; elles dénaturent ainsi les molécules. Dans l'eau, il se forme des radicaux libres qui peuvent se fixer sur l'ADN, et induire une cassure sur le brin. L'information génétique est atteinte, et ceci peut induire une modification du fonctionnement de la cellule.

Avantages : stérilisation à basse température (15 °C) adaptée aux matières plastiques, pénétration du rayonnement dans l'emballage étanche, conservation stérile pendant 5 ans.

Inconvénient : installations très coûteuses.

3-2-2. Stérilisation par les radiations UV

Le rayonnement ultraviolet est produit par un tube en quartz à vapeur de mercure. Exemple les lampes germicides ou stérilampes utilisées dans la stérilisation des surfaces et de l'air ambiant, dans des locaux ou des hottes, servant aux manipulations en atmosphère stérile (hottes à flux laminaire).

La stérilisation par les rayons UV est utilisée au laboratoire pour la décontamination de l'air et des paillasse situés sous les hottes de protection. Des instruments ou des récipients, tels les boîtes de Pétri, peuvent être stérilisés de la sorte, de même que des liquides en couches minces.

Action : Ces rayonnements provoquent des mutations au niveau du génome bloquant ainsi les processus biochimiques servant à la reproduction.

Avantages : Pratiques à utiliser, ils sont employés au laboratoire (en virologie, en cultures cellulaires) et dans certaines industries pour la désinfection des atmosphères, de surfaces de couches liquides minces et en préparation et conditionnement des produits pharmaceutiques.

Inconvénients : Les rayons UV sont peu pénétrants et ne peuvent donc traiter que des surfaces ou des volumes gazeux. Ils ont une action plus décontaminante que stérilisante.

3-3. Stérilisation par filtration sur membrane

La filtration stérilisante n'est utilisable que pour les fluides : gaz, des liquides altérables par la chaleur à viscosité faible comme les sérums, les solutions hydrolysables, les solutions glucidiques, les vitamines etc. L'avantage majeur de ce procédé est de conserver les qualités organoleptiques du produit traité.

Elle nécessite l'emploi de filtres organiques ou minéraux (filtres en céramique, verre fritté, membrane en acétate de cellulose) dont le diamètre des pores est inférieur aux dimensions des microorganismes.

En bactériologie, on utilise surtout les filtres de 47 mm de diamètre dont les pores 0,45 μm de diamètre retiennent à peu près tous les microorganismes en dehors des virus et des mycoplasmes.

Les appareils filtrants à membrane sont de plusieurs types (figure 4). Ceux destinés à la filtration de grands volumes sont de type entonnoir ; ils sont en verre, en matière plastique (polycarbonate) ou en métal (acier inox).

Les membranes filtrantes sous forme de cartouches filtrantes adaptables sur une seringue sont pratiques pour la filtration des petits volumes de milieu : certaines sont à usage unique (conditionnées en sachet stérile), d'autres sont autoclavables et réutilisables.



Figure 4 : Unités de filtration.

Remarque : Les appareils de filtration à membrane peuvent être utilisés pour la concentration de microorganismes et la numération.

4. Les agents chimiques

4-1 Définition

Les objets sont généralement stérilisés au moyen d'agents physiques, mais on emploie plus souvent des produits chimiques pour la désinfection et l'antiseptie. Il faut noter que des produits chimiques sont employés aussi pour empêcher la croissance de microorganismes dans la nourriture et certains le sont pour traiter des maladies infectieuses (en chimiothérapie).

Les agents chimiques décrits jusqu'à présent sont appropriés pour une utilisation soit sur des objets inanimés et on parle d'un désinfectant, soit sur des tissus vivants externes (peau ou plaie) et on parle d'un antiseptique. Ces derniers peuvent être utilisés à haute dose s'ils n'ont aucune toxicité (bétadine, éosine...), et pour ceux à risque de toxicité élevée (dakine, alcool 70°, chlorhexidine) on les utilise à faible dose.

Selon la concentration d'usage, une même molécule active peut être utilisée soit comme désinfectant, soit comme antiseptique. Exemple l'hypochlorite de sodium qui est un composé chimique de formule brute NaClO.

L'hypochlorite de sodium peut être utilisé comme désinfectant classique des surfaces (eau de Javel) s'il est utilisé à une concentration comprise entre 9,6° et 35° chlorométriques. La même molécule, l'hypochlorite de sodium, est utilisée comme antiseptique sous la forme de Dakine si elle est diluée à 1,5° chlorométriques.

Remarque :

L'eau de Javel est composée d'hypochlorite de sodium pur (NaClO), en solution aqueuse avec du sel (NaCl), résiduel du procédé de fabrication selon la réaction chimique suivante : $Cl_2 + 2 NaOH \rightarrow NaCl + NaClO + H_2O$

Le Dakine est composé d'hypochlorite de sodium et d'autres espèces chimiques dont 0,238 mol/L d'ions hydrogénécarbonate HCO_3^- . Ce mélange contient, pour le colorer et le stabiliser vis-à-vis de la lumière, 10 mg/L de permanganate de potassium qui lui donnent sa coloration rosée.

4-2. Caractéristiques des désinfectants et des antiseptiques

Désinfectants et antiseptiques sont des molécules inhibant la croissance ou tuant un microorganisme de façon non spécifique, rapide et momentanée. Ils ont une action antimicrobienne à concentration relativement élevée (de l'ordre du mg/cm³). Ils sont toxiques pour toutes les cellules procaryotes mais aussi eucaryotes, faisant qu'ils ne peuvent être utilisés qu'en usage externe.

4-3. L'utilisation des agents chimiques

Pour qu'ils soient efficaces, ils doivent :

- être actif contre une large gamme d'agents infectieux (bactéries, Bacilles acido-alcoolo-résistants (BAAR), champignons, virus) et ceci en dilution élevée et en présence de matière organique.
- avoir un bon pouvoir pénétrant (soluble dans l'eau et les lipides)
 - à l'intérieur des tissus cellulaires pour les antiseptiques
 - ou à l'intérieur des produits traités pour les désinfectants,
- avoir un bon contact avec le produit et le microorganisme à détruire,
- être non toxique pour les gens, ni corrosif pour les matériaux usuels.
- être stable durant la conservation, inodore,
- avoir une faible tension superficielle pour entrer dans les fissures des surfaces.

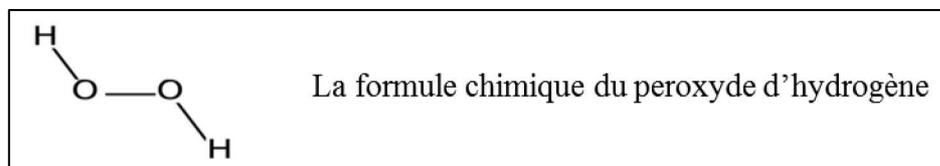
Les produits et les techniques utilisées dépendront des objectifs visés, de l'objet à désinfecter, et de la présence d'individus dans le local...

4-4. Action des agents chimiques

4-4-1. Les oxydants : ces produits altèrent les groupements thiol (S-H) libres de certains acides aminés (enzymes) et s'avèrent de ce fait létaux pour les microorganismes.

Les principaux oxydants utilisés sont :

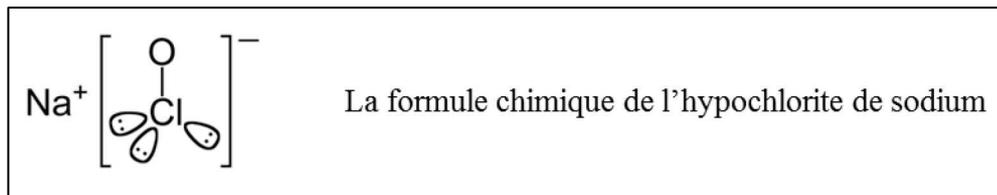
- Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 (eau oxygénée) est un antiseptique efficace à 3% en solution aqueuse. Son utilisation est limitée en raison de sa décomposition rapide et du fait que des micro-organismes catalase plus sont résistants.



- Les halogènes comme l'iode, le chlore, le fluor et le brome. L'iode et le chlore sont les agents antimicrobiens les plus importants.

L'iode sert comme antiseptique de la peau. Les solutions iodo-iodurées ou teinture d'iode sont utilisées pour désinfecter les plaies superficielles. Il tue en oxydant les constituants cellulaires en iodant les protéines cellulaires. En concentration élevée il peut même tuer certaines spores.

Le chlore et ses dérivés (eau de javel, dakin) constituent les antiseptiques les plus communs qui sont employés pour le traitement des eaux de boisson, de piscine, pour la désinfection des locaux, d'objets contaminés, etc. Il est également employé dans les industries laitières et alimentaires. Leur action est complexe : l'oxygène naissant et le Cl^+ tuent les microorganismes, y compris les virus. Les formes sporulées sont plus résistantes, elles exigent des concentrations plus élevées.



L'eau de Javel est toxique et corrosive. Elle provoque des brûlures sur la peau, les muqueuses (les yeux notamment), surtout sous forme concentrée (figure 5). Son inhalation peut provoquer une irritation bronchique se manifestant par un manque de souffle, sensation d'étouffement et une toux qui peut persister plusieurs années. Rejetées dans l'environnement, les chloramines sont toxiques pour les organismes aquatiques (figure 5).

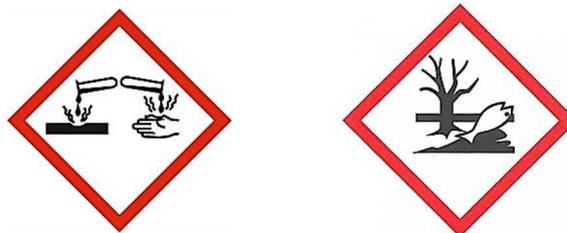
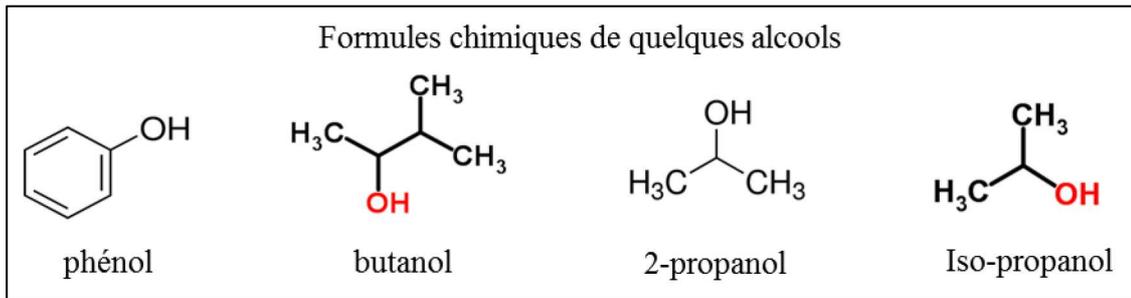


Figure 5 : Pictogramme de produits corrosif et dangereux pour l'environnement (SGH 2013).

4-4-2. Les alcools

Les alcools sont les désinfectants et les antiseptiques les plus largement utilisés. Ils sont bactéricides et fongicide mais non sporicides. Certains virus contenant des lipides sont également détruits. Les plus efficaces sont ceux de poids moléculaire élevé comme le butanol, le propanol, le pentanol. Ils ont un bon pouvoir seulement sont très peu solubles dans l'eau ce qui limite leur usage.

Les plus employés sont l'éthanol et l'iso-propanol. L'éthanol présente un bon pouvoir microbicide pour des dilutions de 50% à 70%, seulement il est inactif sur les formes sporulées. Il est utilisé comme désinfectants cutané, mais son action est superficielle. Ils agissent en dénaturant les protéines.



Les alcools coagulent les protéines. Ils se fixent, altèrent et détruit les membranes cellulaires puis provoque la lyse cellulaire. Un trempage de 10 à 15 minutes est suffisant pour désinfecter les thermomètres et les petits instruments.

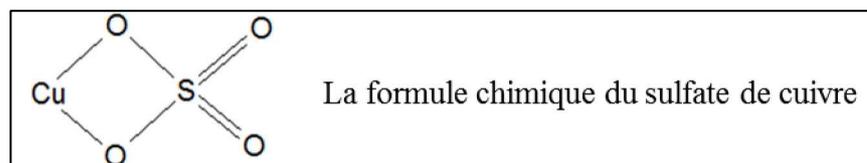
4-4-3. Les composés phénoliques

Le phénol fut le premier antiseptique et désinfectant utilisé. Les désinfectants commerciaux le lysol et le dettol, sont composés d'un mélange de dérivé phénoliques. Ces substances agissent par dénaturation des protéines et par l'altération des membranes cellulaires. Les dérivés phénoliques tuent les BAAR comme *Mycobacterium tuberculosis*. Ils sont efficaces en présence de matières organiques et restent actifs sur des surfaces longtemps après leur application.

4-4-4. Les métaux lourds et leurs sels

Certains métaux lourds, comme le mercure, l'argent, l'arsenic, le zinc et le cuivre, ont un effet microbicide même à faible concentration en raison des interactions qu'ils peuvent avoir avec les protéines cellulaires. Les métaux lourds se fixent aux protéines, souvent sur les groupements sulfhydriles, et les inactivent. Ils peuvent également précipiter les protéines cellulaires.

On instille souvent une solution de nitrate d'argent à 1% dans les yeux de nouveau-nés pour éviter l'ophtalmie purulente. Le sulfate de cuivre est un algicide efficace dans les lacs et les piscines.

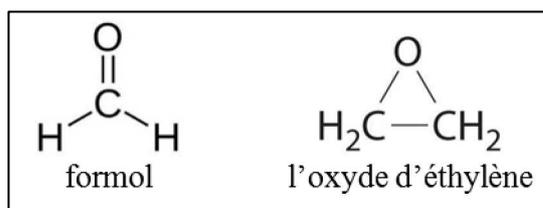


Les sels de mercure ou les composés organiques du mercure (mercurochrome) sont d'excellents antiseptiques, mais ils sont abandonnés à cause de leur pouvoir polluant des écosystèmes.

4-4-5. Les gaz

Utilisés dans les environnements difficiles d'accès. Les vapeurs d'une solution chauffée de formol, sont utilisées pour désinfecter les pièces et les étuves. De l'ammoniaque est parfois rajoutée pour diminuer la toxicité des vapeurs.

De nombreux objets thermosensibles comme les seringues et les boîtes de Petri à usage unique en plastique, les fils de sutures et les cathéters sont actuellement stérilisés à l'oxyde d'éthylène. C'est un agent stérilisant particulièrement efficace car il pénètre rapidement les matériaux d'emballage y compris le plastique.



Le peroxyde d'hydrogène sous forme de vapeur est utilisé pour décontaminer des hottes de sécurité biologique, des salles de chirurgie et d'autres grandes installations.

Ce sont essentiellement le dioxyde de chlore (ClO_2), formaldéhyde (HCOH) et l'oxyde d'éthylène (chambres d'hôpitaux) qui est un puissant bactéricide, virucide et sporicide.

Ces gaz sont capables de fixer un groupe alkyl (R-CH_2) sur des acides nucléiques (ADN) ou des protéines.

Le procédé est fiable mais dangereux : l'oxyde d'éthylène est un gaz explosif, le formaldéhyde est un gaz inflammable (figure 6). Les deux sont toxiques, irritants pour les muqueuses oculaires et pulmonaires.

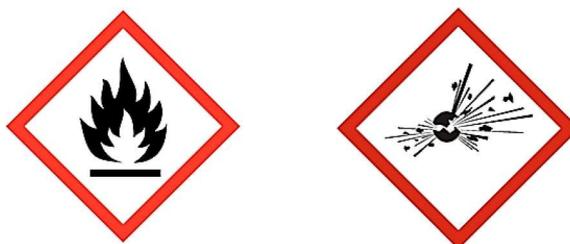


Figure 6 : Pictogramme de produits explosif et inflammable (SGH 2013)

4-4-6. Les huiles essentielles

Les essences naturelles ont souvent une action assimilée à un effet bactériostatique. Cependant, certains de leurs constituants chimiques (la présence de composés phénolique, d'alcools, etc.) semblent avoir des propriétés bactéricides. Les composés avec la plus grande efficacité antibactérienne et le plus large spectre sont des phénols :

L'eugénol (composé actif de l'essence de girofle) très utilisé comme désinfectant en chirurgie dentaire,

Le thymol (principe actif de l'huile de thym) : anti-infectieuse majeure à large spectre d'action : Anti-bactérien, anti-fongique, anti-virale. Fluidifiante, expectorante. Tonique générale et respiratoire.

Le carvacrol (principe actif des graines de fenouil) inhibe la croissance de plusieurs souches bactériennes (*Escherichia coli* et *Bacillus cereus*). Sa faible toxicité ainsi que son goût et son arôme agréables ont conduit à son utilisation comme additif alimentaire pour prévenir la contamination bactérienne. Chez *Pseudomonas aeruginosa*, il provoque des lésions de la membrane cellulaire et, contrairement à d'autres terpènes, il inhibe la prolifération de ces germes. On attribue l'origine de ces propriétés antimicrobiennes à une désorganisation de la membrane bactérienne.

5. Les agents chimiothérapeutiques

5-1. Notion de la chimiothérapie

La chimiothérapie est l'utilisation des substances chimiques pour le traitement des maladies.

D'abord limitée au traitement des maladies infectieuses, la chimiothérapie s'est étendue à toutes les branches de la médecine, en particulier à la cancérologie et à la psychiatrie (neuroleptiques, antidépresseurs etc.)

La plupart des agents chimiothérapeutiques sont des antibiotiques. Ces derniers inhibent le développement ou tuent les microorganismes pathogènes en nuisant le moins possible à l'hôte. Leur usage interne est possible parce qu'ils ont une toxicité sélective c'est-à-dire qu'ils ciblent le microorganisme en ne nuisant pas ou peu l'hôte.

5-2. Les antibiotiques

5-2-1. La découverte des antibiotiques

La pénicilline, premier antibiotique à usage clinique, est produite par *Penicillium notatum*. Sa découverte fortuite résulte de l'observation par Fleming du pouvoir inhibiteur d'une colonie de ce champignon vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* lors d'une contamination accidentelle de la culture de ce dernier sur boîte de Petri (figure 7). Malheureusement, il a fallu longtemps à Fleming pour imposer la validité de ses observations et expériences, d'autant que la molécule active n'était pas très stable. La 2^{ème} guerre mondiale de 1939-1945 lui donna les moyens avec Florey et Chain, de la produire industriellement permettant une expérimentation humaine puis l'utilisation thérapeutique.



Figure 7 : Photo historique de la boîte de Pétri de Fleming montrant l'antagonisme entre *Staphylococcus aureus* et *Penicillium notatum*. Visible au musée du St Mary's Hospital à Londres.

La fin de la Seconde Guerre mondiale vit l'apparition d'un autre antibiotique célèbre, la streptomycine. Produite par *Streptomyces griseus*, cette substance fut découverte par Waksman en 1943. Elle se révéla efficace contre les bactéries de certaines infections courantes, de la méningite et, surtout, de la tuberculose.

5-2-2. Définition

Les antibiotiques se définissent comme des molécules toxiques (statique ou cide) pour un groupe cible de microorganismes (bactéries, champignons, virus, protozoaire etc.). Ils sont actifs à des concentrations faibles de l'ordre du $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$, et ont un mode d'action spécifique sur les germes visés sans perturber le fonctionnement des cellules eucaryotes (utilisables par voie générale).

5-2-3. Rôle des antibiotiques

Le rôle des antibiotiques est de diminuer les quantités de bactéries présentes sur le site infectieux afin de permettre aux défenses immunitaires d'assurer leur rôle.

Un antibiotique bactériostatique arrête la croissance des bactéries. Un antibiotique bactéricide tue les bactéries. Un antibiotique bactériostatique ne peut à lui seul éradiquer une infection ; en empêchant la prolifération bactérienne, il facilite simplement la destruction des germes par les défenses de l'hôte. En cas d'infection grave et/ou à inoculum important, et chez tous les patients dont les défenses immunitaires sont déficientes, on préférera un antibiotique bactéricide.

La distinction entre les deux types d'activité peut se faire en comparant *in vitro* la CMI (concentration minimale inhibitrice) et la CMB (concentration minimale bactéricide). Un antibiotique peut être considéré comme bactéricide lorsque sa CMB est sensiblement égale à sa CMI. Un antibiotique dont la CMB est très supérieure à la CMI, de telle sorte que sa concentration au site d'infection *in vivo* ne permet pas d'atteindre la valeur de la CMB, sera considéré comme bactériostatique.

5-3. Classification des antibiotiques

Il existe de différentes classifications des antibiotiques selon les critères utilisés :

- Origine
- Nature chimique
- Mécanisme d'action
- Spectre d'action

Toute classe est constamment élargie grâce à la découverte de nouvelles molécules.

5-3-1. Classification des antibiotiques d'après leur origine

Les antibiotiques naturels : un grand nombre d'antibiotiques sont des molécules naturelles, fabriquées par les microorganismes : amphotéricine B, chloramphénicol, kanamycine, nystatine, streptomycine et autres sont synthétisées par les espèces du genre *Streptomyces*. Gentamycine synthétisé par *Micromonospora sp.* Bacitracine et polymixines par *Bacillus sp.* Griséofulvine et pénicilline par *Penicilium sp.* et céphalosporines par *Cephalosporium*.

Les antibiotiques synthétiques : fabriqués par des méthodes chimiques indépendantes d'une activité microbienne.

Ce procédé convenable pour les antibiotiques dont la formule chimique est connue ou modelée). Exemples : les sulfamides, la triméthoprime, le chloramphénicol, la ciprofloxacine etc.

Les antibiotiques semi-synthétiques : ce sont des antibiotiques naturels ayant subi une modification par l'addition de groupes chimiques supplémentaires dans le but d'améliorer l'activité et/ou modifier des paramètres pharmacocinétiques essentiels.

5-3-2. Classification des antibiotiques d'après leur structure chimique

La classification selon la nature chimique nous permet de classer les antibiotiques en familles (10 familles : β lactamines, aminosides, tétracyclines, phénicolés, polymixines, sulfamides, quinolone, etc.) et quelques produits orphelins comme acide fusidique, fosfomycine, rifamycine etc.

Très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (ex : cycle β lactame) sur laquelle il y a hémi-synthèse.

La même parenté chimique ou structurale confère des propriétés communes : voie de pénétration dans la bactérie, interférence avec la cible, mécanisme d'action, bactéricidie, spectre d'action, mécanismes de résistance.

Exemple les β -lactames

Depuis la découverte de la pénicilline par Fleming en 1929, de nombreuses β -lactames (pénicillines et céphalosporines) ont été obtenues, d'abord par fermentation, puis par hémi-synthèse. Tous ces antibiotiques présentent un mode d'action commun, mais se distinguent par le spectre, la sensibilité aux mécanismes de résistance, la pharmacocinétique ou la tolérance.

Construites autour d'un cycle β -lactame, on distingue plusieurs familles de produits en fonction de la nature du cycle qui lui est accolé (figure 8) :

- pénème (cycle à 5 pièces sulfurées): toutes les pénicillines
- clavème (cycle à 5 pièces oxygénées): inhibiteurs de β -lactamases
- carbapénème (cycle à 5 pièces insaturées): imipénem et produits apparentés
- céphème (cycle à 6 pièces insaturées sulfurées): céphalosporines
- oxacéphème (cycle à 6 pièces insaturées oxygénées).

La structure tridimensionnelle de ces molécules mime la séquence D-Ala-D-Ala, dans la mesure où elles possèdent toutes un acide carboxylique libre à une distance adéquate de l'amide cyclique (lactame) du cycle β -lactame.

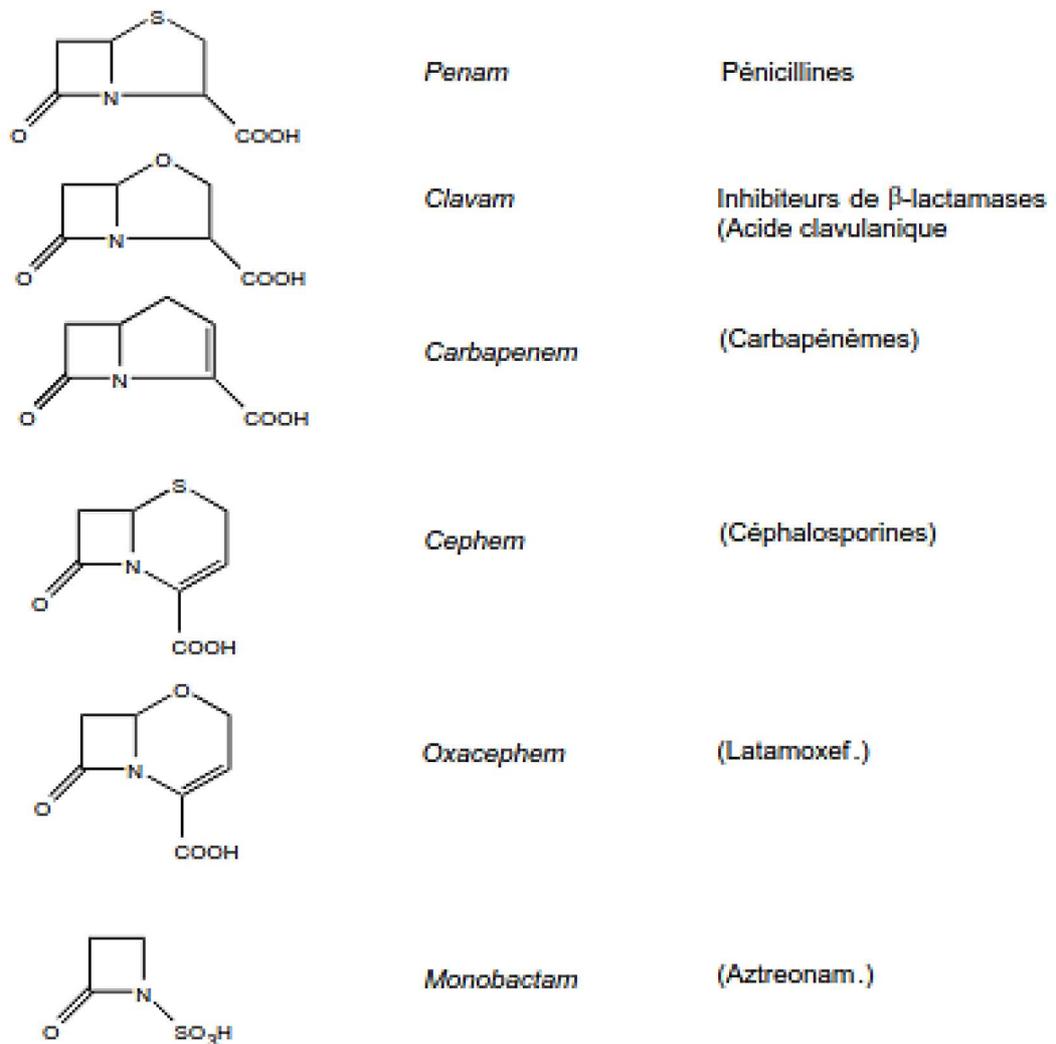


Figure 8 : Diversité des antibiotiques du type β -lactame : principaux cycles et antibiotiques représentatifs.

5-3-3. Classification des antibiotiques d'après leur mécanisme d'action

D'une manière générale, les substances antimicrobiennes perturbent les processus ou les structures qui diffèrent chez le microorganisme et chez l'hôte.

Les antibiotiques agissent de manière spécifique sur les bactéries, en bloquant une étape essentielle de leur développement : synthèse de la paroi, des protéines, des acides nucléiques bactériens ou en bloquant les voies métaboliques par l'inhibition d'enzymes clés, etc.

En fonction de leur cible pharmacologique, les antibiotiques peuvent être classés en cinq groupes :

a/ antibiotiques inhibant la synthèse du peptidoglycane

Les cellules eucaryotes animales ne possèdent pas de paroi. Les bactéries par contre sont entourées d'un peptidoglycane. Plusieurs classes d'antibiotiques prennent pour cible des enzymes intervenant dans la synthèse de cette paroi, le cas des β -lactamine (pénicillines et céphalosporines), des glycopeptides et des fosfomycine bacitracine etc.

Les β -lactamines sont des inhibiteurs des enzymes transpeptidase nécessaire à la synthèse du peptidoglycane de la paroi bactérienne. En présence d'antibiotique, cet enzyme exerce son action hydrolytique sur la molécule d'antibiotique, conduisant à la formation d'un complexe enzyme-produit (en raison de l'analogie structurale de la pénicilline avec le dipeptide d'alanine) de façon irréversible rendant l'enzyme inactive. Ce mécanisme est appelé inhibition-suicide puisque l'enzyme elle-même catalyse la transformation de l'antibiotique en un composé hautement actif.

Les antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi sont bactéricides et agissent seulement sur les germes en phase active de multiplication. Ainsi, lorsque des bactéries Gram positif, comme *Staphylococcus aureus*, en voie de croissance sont traitées par la pénicilline, la synthèse de leur paroi est arrêtée. Les cellules continuent de croître tandis que la paroi s'amenuise progressivement. Elles s'allongent puis finissent par éclater en l'absence de barrière osmotique. On constate, au cours de cette lyse ou de cette croissance sans division, une accumulation de composés précurseurs de la paroi et des nucléotides uridiniques.

b/ Antibiotiques inhibant la synthèse des protéines

Les ribosomes procaryotes ne sont pas constitués des mêmes protéines que les ribosomes eucaryotes, et ont d'ailleurs des coefficients de sédimentation différents : 70S

pour les ribosomes procaryotes (50S pour la grande sous-unité et 30S pour la petite sous-unité) et 80S pour les ribosomes eucaryotes (60S pour la grande sous-unité et 40S pour la petite sous-unité).

Il existe des antibiotiques inhibiteurs :

- de la sous-unité 50S, qui empêchent la fixation d'un nouvel acide aminé sur la chaîne polypeptidique (phénicolés) ou le transfert de la chaîne polypeptidique du site A vers le site P (macrolides, lincosamides, streptogramines).
- de la sous-unité 30S, qui empêchent ou perturbent la liaison des aminoacyl-ARNt aux ribosomes (tétracyclines, aminoglycosides) et empêche la lecture du message génétique. D'autres antibiotiques tels que la streptomycine occasionnent des erreurs de lecture du code génétique et provoquent l'incorporation d'acides aminés ne correspondant pas à l'information des codons de l'ARNm. Les protéines formées dites non-sens sont génétiquement létales.

c/ Antibiotiques inhibant la synthèse des acides nucléiques

Nous avons, d'une part, les antibiotiques actifs sur la synthèse des ARN et d'autre part, sur la synthèse des ADN ou de leurs précurseurs.

- Les inhibiteurs de l'ARN polymérase sont représentés par la classe des ansamycines, tandis que les inhibiteurs de l'ADN-gyrase regroupent les quinolones.

Ces deux familles d'antibiotiques doivent leur spécificité d'action aux différences qui existent entre les enzymes procaryotes et eucaryotes et qui permettent la reconnaissance spécifique et exclusive d'un type de cible.

d/ antibiotiques inhibant la synthèse des folates

- Les sulfamides et association sulfamides agissent sur la synthèse de l'acide folique, un cofacteur de la synthèse des bases puriques et pyrimidiques à incorporer dans les acides nucléiques. Leur spécificité d'action provient du fait que les bactéries doivent synthétiser leur acide folique par cette voie métabolique, alors que les eucaryotes assimilent directement l'acide folique apporté par l'alimentation.

Ainsi, les sulfanilamides jouent le rôle d'inhibiteurs compétitifs des enzymes (analogues structuraux de l'acide para-aminobenzoïque) et bloquent la division bactérienne *in vivo* et *in vitro*.

- Les diaminopyridines inhibent la réduction de l'acide folique en tirant parti de la différence de sensibilité de la dihydrofolate réductase bactérienne par comparaison avec l'enzyme des cellules eucaryotes.

Exemple : Mode d'action des sulfamides et du triméthoprime

Bactrime (Biceptol ou co-trimoxazole) est un produit combiné qui contient un sulfanilamide typique sulfaméthoxazole et son deuxième composant est le triméthoprime. Ils agissent au niveau d'étapes successives de la synthèse de l'acide folique (figure 9).

Le sulfaméthoxazole inhibe la synthèse d'acide dihydrofolique en agissant à deux niveaux sur l'activité de la dihydrofolate synthétase :

- il empêche l'activation de la dihydroptéridine par phosphorylation, qui est nécessaire à la fixation de l'acide para-aminobenzoïque.
- il inhibe la fixation à la dihydroptéridine phosphorylée de l'acide para-aminobenzoïque en se liant à la dihydroptéridine par leur groupe sulfanilamide, analogue de l'acide para-aminobenzoïque.

Le triméthoprime, pour sa part, est un inhibiteur spécifique de la dihydrofolate réductase bactérienne.

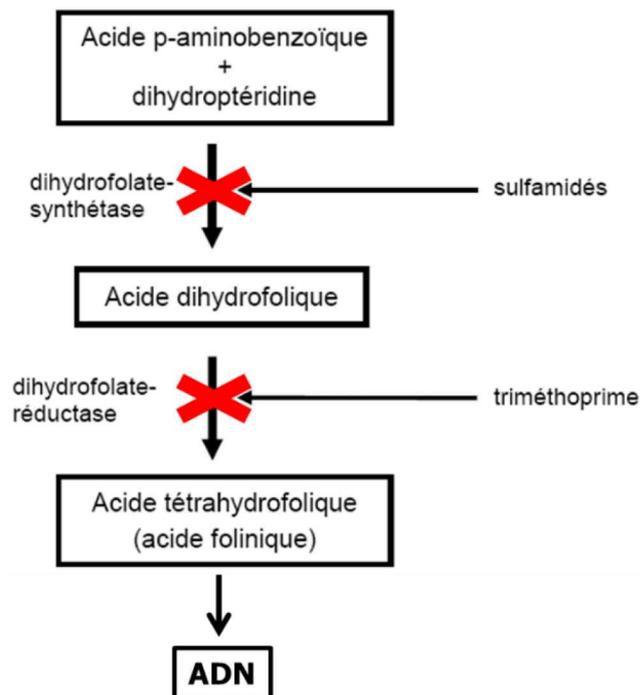


Figure 9 : Sites d'action du sulfaméthoxazole et du triméthoprime sur la synthèse de l'acide folique chez les bactéries.

De tels produits chimiques, supprimeurs de différentes enzymes de la même voie métabolique, sont très efficaces. Ceci aboutit à la forte suppression de multiplication bactérienne d'où le biceptol s'utilise dans le traitement des infections graves et dangereuses et dans le cas de la septicémie.

On note de très rares cas de résistance bactérienne à ces médicaments.

e/ antibiotiques inhibant la synthèse des acides mycoliques : isoniazide, prothionamide, éthionamide, pyrazynamide, etc (bactéricides à mécanismes inconnus).

5-3-4. Classification des antibiotiques d'après leur spectre d'action

Les antibiotiques varient considérablement dans leurs champs d'efficacité. Le spectre d'activité d'un antibiotique liste les groupes, les genres ou les espèces sur lesquelles s'exerce l'action inhibitrice ou destructrice de l'antibiotique. Il dépend de la perméabilité de la bactérie à l'antibiotique, de la présence ou de l'absence de la cible ou d'enzymes aptes à dégrader l'antibiotique.

Beaucoup sont des antibiotiques à spectre étroit, c'est-à-dire qu'ils ont une efficacité limitée à une variété restreinte de genres ou groupes bactériens (tableau 1). D'autres sont peu spécifiques et ont un large spectre, ils agissent sur des bactéries de différents genres (nombreux types d'agents pathogènes différents). Exemple les antibiotiques de la famille des cyclines sont des inhibiteurs des cocci à Gram positif, bacilles à Gram positif, bacilles à Gram négatif, les *Borrelia*, les rickettsies, divers anaérobies, *Mycoplasma pneumoniae* et *Chlamydia*.

Tableau 1 : Spectres d'action de quelques antibiotiques.

Famille	Antibiotiques	Gram positif	Gram négatif
β-lactamines	Benzylpénicilline	+	-
	Oxacilline	+	-
	Ampicilline	+	+
	imipénème	+	+
Aminosides	Gentamicine	+	+
	Tobramycine	+	+
Tétracyclines	Doxycycline	+	-
Quinolones	Acide nalidixique	-	+

6. Les antifongiques

6-1. Les infections fongiques

Les infections fongiques ou mycoses sont des affections dues à une centaine d'espèces différentes de champignons microscopiques. Elles sont souvent subdivisées en mycoses superficielles et mycoses systémiques. Le traitement de ces deux types de maladies est très différent.

6-1-1. Les mycoses superficielles, localisées à la peau, aux phanères et aux muqueuses digestive ou génitale (figure 10).



Figure 10 : Exemples de mycoses superficielles :
(A) Onychomycose ; (B) Pied d'athlète ; (C) Candidose buccale.

6-1-2. Les mycoses profondes forment les plus graves, très difficiles à contrôler et peuvent être fatales. Elles sont de plus en plus importantes dans la pathologie infectieuse dans tous les pays du monde et on distingue :

- **les mycoses profondes cosmopolites**, infections opportunistes : cryptococcose (*Cryptococcus neoformans*), aspergillose, pneumocystose ;
- **les mycoses profondes tropicales** avec formes de dissémination (blastomycose, pénicilliose) ou sous-cutanées (mycétomes fongiques, zygomycoses).



Figure 11 : Exemples de mycoses profondes :
(A) mycétomes fongiques ; (B) zygomycoses.

6-2. Types des antifongiques :

Le traitement des mycoses est généralement moins efficace que celui des infections bactériennes, principalement parce que les cellules eucaryotes des champignons sont beaucoup plus semblable aux cellules humaines, que ne le sont les bactéries.

Les antifongiques peuvent être classés en 5 catégories:

- Echinocandines
- Les antibiotiques polyènes : Amphotéricine B
- Les dérivés azolés : Kétoconazole
- Les analogues des acides nucléiques : 5-Fluoro-cytosine
- Les allylamines : Terbinafine

6-3. Cibles des antifongiques

Devenues très préoccupantes, les infections fongiques, exigent des médications antifongiques efficaces, douées d'effet fongistatique et fongicide, diffusant parfaitement dans les tissus, faciles à administrer et bien tolérer. Pour être active, la substance doit d'abord traverser la paroi cellulaire fongique constituée de chitine, de polyosides, de phospholipides et de stérols.

Les agents antifongiques efficaces agissent fréquemment par extraction des stérols membranaires ou par inhibition de la synthèse de celui-ci. Vu l'absence de paroi chez les cellules animales, la chitine synthase est la cible d'antifongiques efficaces comme la polyoxine D et la nikkomycine.

6-3-1. L'échinocandine

Un seul dérivé semi-synthétique dans cette famille est actuellement enregistré pour l'usage en clinique humaine : il s'agit de la caspofungine.

Action :

La caspofungine est un inhibiteur de la synthèse du β -(1,3)-D-glycan, un composant essentiel de la paroi des champignons, qui assure son intégrité et sa rigidité. Elle agit comme inhibiteur non compétitif de la β -(1,3)-D-glycan-synthase, l'enzyme qui catalyse la polymérisation de l'UDP-glucose en β -(1,3)-D-glycan. La fragilisation subséquente de la paroi peut entraîner la lyse de la cellule. Elle est fongistatique ou fongicide, selon les souches.

Spectre d'action :

La caspofungine est proposée pour le traitement des candidoses et des aspergilloses invasives chez les patients qui ne répondent pas ou sont intolérants aux autres traitements.

6-3-2. L'amphotéricine B ou fungizone

Cette molécule est produite par l'actinomycète : *Streptomyces nodosus* :

Action :

La fungizone se lie à l'ergostérol dans la membrane fongique. L'agrégation des molécules entre elles, forme des pores perturbant ainsi la perméabilité membranaire et induisant la perte de constituants cellulaires (canaux perméables aux cations comme le potassium), tuant la cellule. La présence de l'ergostérol dans les membranes de cellules fongiques couplée à son absence dans les membranes des cellules animales en fait une cible pour des fongicides.

Spectre d'action :

Les principales indications de l'amphotéricine B sont la cryptococcose ou les mycoses exotiques sévères.

L'amphotéricine B liposomale est indiquée en cas de candidose systémique, d'aspergillose invasive, de mucormycose ou d'histoplasmosse chez les patients infectés avec le VIH.

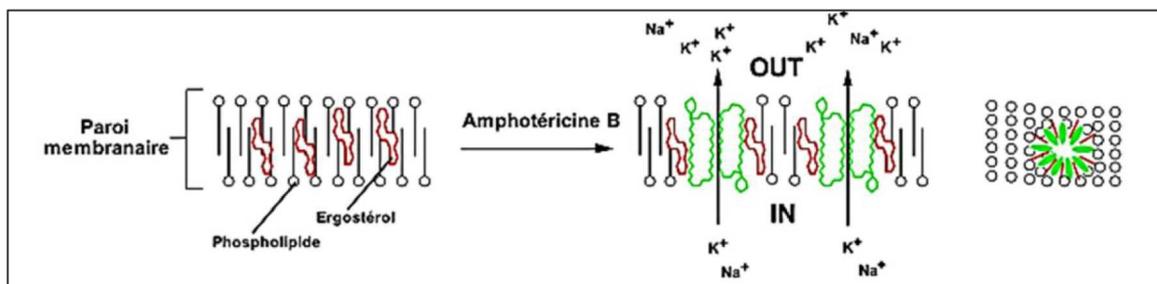


Figure 12 : Schéma de l'action de l'amphotéricine B sur la membrane fongique.

6-3-3. Le 5-Fluoro-cytosine :**Action :**

L'antibiotique est converti en 5-fluoro-uracile par les champignons, incorporé dans l'ARN au lieu de l'uracile. Il perturbe la synthèse protéique et altère celle de l'ADN fongique par inhibition de la thymidylate synthétase.

Spectre d'action :

Un antifongique synthétique oral, le 5FC est efficace contre la plupart des champignons systémiques. Il est essentiellement efficace sur les levures (*Candida*,

Cryptococcus). Jamais utilisée en monothérapie (risque élevé de développement de résistance), donc toujours en association avec l'amphotéricine B.

6-3-4. La griséofulvine

Produite par *Penicillium griseofulvum*, la griséofulvine est un antibiotique administré uniquement par voie orale pour traiter les dermatophytoses chronique étendues sur la peau et les phanères.

Action :

Elle agit en se liant à la kératine pour former un complexe qui remplace progressivement la kératine seule. Les dermatophytes, qui se nourrissent de kératine, absorbent ce complexe, permettant à la griséofulvine de se lier à la tubuline de leur cellules, ce qui altère la formation des microtubulines et bloque la mitose (Inhibition de la division cellulaire au niveau de la métaphase de la mitose des cellules). Elle peut également inhiber la synthèse des protéines et des acides nucléiques.

À forte dose, la griséofulvine peut être cancérigène et affecte la fertilité du patient.

Spectre d'action :

La griséofulvine est active sur les dermatophytes, mais pas contre les agents des mycoses profondes.

7. Les antiviraux

7-1. Les infections virales

Les infections virales sont le plus souvent bénignes et ne requièrent aucun traitement. La réaction inflammatoire immune provoquée par la lyse cellulaire suffit à entraîner la mort des virus. D'autres peuvent aussi être évités grâce à des vaccins. Mais, elles sont graves et chroniques comme l'herpès et le zona. Certaines de ces infections, sont même mortelles du fait qu'elles ne provoquent pas de réactions immunitaires comme c'est le cas de l'infection par le VIH.

7-2. Types des antiviraux :

Les antiviraux peuvent être classés en 3 catégories :

- les agents viricides, capables d'inactiver les particules virales. Il s'agit quasi exclusivement de solvants organiques ou d'autres molécules dont le potentiel toxique est trop élevé pour qu'ils puissent être des médicaments. Leur usage sera donc uniquement à titre de prévention de la contamination (nettoyage de surfaces, etc.) ou, dans de rares cas, à titre topique).

- les agents antiviraux, qui inhibent la réplication du virus dans la cellule. Nous retrouvons ici la plupart des médicaments antiviraux susceptibles d'être utilisés en médecine humaine.

- les immunomodulateurs, qui modulent la réponse immunitaire de l'hôte (les interférons, par exemple).

Les antiviraux utilisés en thérapeutique sont des substances virostatiques et non des virucides. Ils ne sont pleinement actifs que lorsqu'il reste une activité immunitaire suffisante de la part de l'hôte infecté.

7-3. Cibles des antiviraux

Aucun antivirale, utilisé en thérapie, n'est susceptible d'obtenir la guérison. Leurs seuls effets sont d'entraver et de ralentir la réplication virale (figure 13). Les substances antivirales interfèrent avec des étapes essentielles du cycle du virus (amantadine) ou inhibent la synthèse des acides nucléiques spécifiques du virus (acyclovir).

Le traitement médicamenteux doit s'accompagner de conseils concernant les modes de transmission.

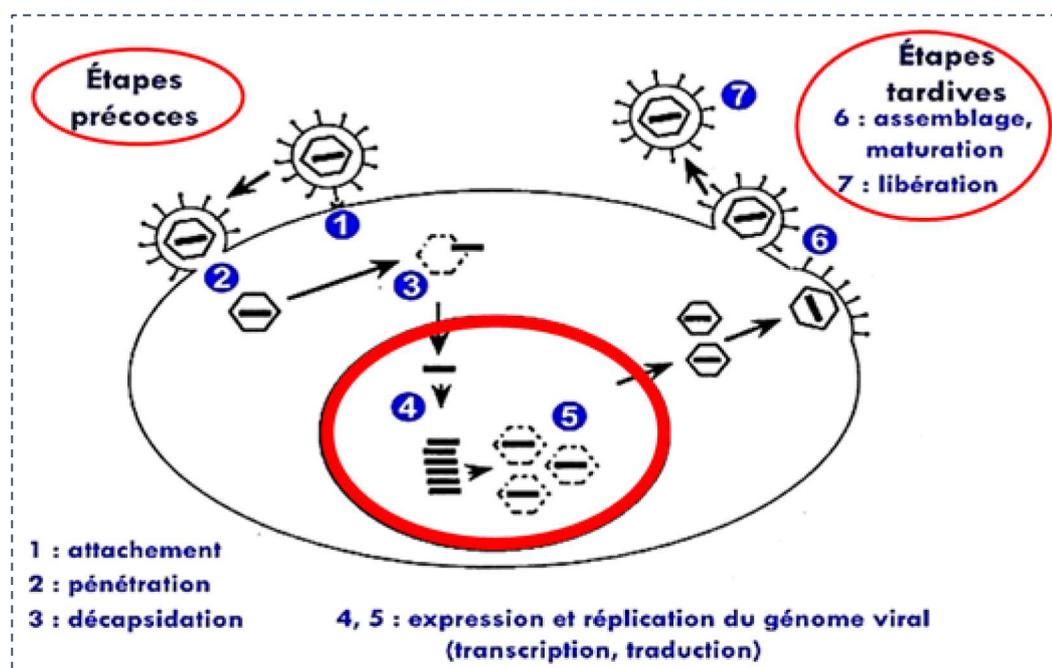


Figure 13 : Cibles des antiviraux

7-3-1. Action de l'amantadine

Donnée dans les premières 48 heures d'infection par le virus influenza, l'amantadine peut être utilisée pour empêcher l'infection (usage essentiellement prophylactique). Cette molécule agit à un stade précoce de la réplication virale, elle inhibe la pénétration et la décapsidation des particules virales.

Son activité résulte de l'inhibition de l'activité des canaux ioniques M2 dont la fonction est d'acidifier le virion. De cette façon, elles empêchent la séparation de la nucléocapside et de l'enveloppe virale au moment de l'infection de la cellule-hôte donc pas de libération du matériel génétique du virus.

7-3-2. Action de l'acyclovir

Tous les herpes virus se caractérisent par une primo-infection manifestée ou inapparente puis par des périodes de récurrences, susceptibles de persister toute la vie malgré la réponse immunitaire déclenchée lors de la primo-infection.

Parmi les principaux médicaments utilisés contre ces virus nous avons l'acyclovir. L'acyclovir n'interfère pas avec le métabolisme des cellules saines. Il n'éradique pas les virus latents.

Les analogues nucléosidiques de la guanosine tel que l'acyclovir (figure 14) n'ont pas d'activité antivirale par eux même. Ils doivent d'abord subir une triphosphorylation pour pouvoir interagir au niveau de l'ADN polymérase virale.

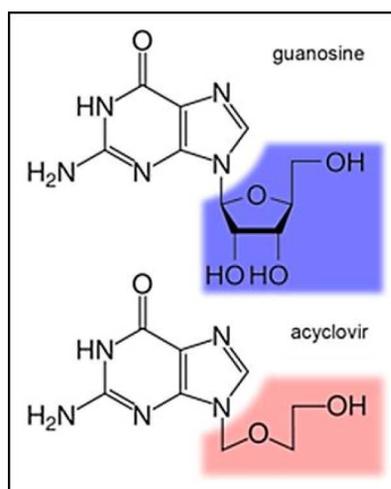


Figure 14 : Structure de l'aciclovir (analogues nucléosidiques de la guanosine).

Tout d'abord, l'aciclovir est converti en forme monophosphate, aciclo-GMP, par la thymidine kinase virale, qui est bien plus efficace (3 000 fois) dans la phosphorylation que la thymidine kinase cellulaire.

Ensuite, le mono-phosphate est di- puis tri-phosphorylé en forme active, aciclo-GTP, par les thymidines kinases cellulaires.

Le dernier composé formé ; ressemble au désoxy-GTP et inhibe avec une haute affinité l'ADN polymérase virale par compétition avec les nucléosides naturels par analogie de structure. L'aciclo-GTP a approximativement 100 fois plus d'affinité avec la polymérase virale que la polymérase cellulaire. Nous avons donc arrêt de l'élongation de l'ADN viral.

Remarque : Les biotransformations subies par l'aciclovir dépendent de la présence de la thymidine kinase virale à l'intérieur de la cellule : en l'absence d'infection, l'aciclovir n'est pas transformé en aciclovir monophosphate et les étapes ultérieures, assurées par les enzymes de la cellule hôte ne sont donc pas possibles.

7-3-3. Action du foscarnet :

Le foscarnet est un antiviral d'un autre type, qui inhibe de façon différente l'ADN polymérase virale. Le foscarnet est un analogue organique du pyrophosphate qui se fixe au site actif de la polymérase et bloque le clivage du pyrophosphate à partir des nucléosides triphosphates. Les infections à herpès et à cytomégalovirus sont traitées par le foscarnet.

7-3-4. Action des anti-HIV

La recherche de médicaments anti-HIV a été particulièrement active. Les premières substances développées furent pour beaucoup, des inhibiteurs de la

transcriptase inverse tels l'azidothymidine. Elles interfèrent avec l'activité de la transcriptase inverse et bloquent ainsi la multiplication du VIH.

Les inhibiteurs de la protéase du VIH, comme le saquinvir, sont très utilisés. Les inhibiteurs de protéase sont efficaces parce que le VIH, comme de nombreux virus, traduit de nombreuses protéines comme un seul polypeptide, qui doit être ensuite clivé en protéines individuelles nécessaires à la réplication du virus. Ces substances imitent la liaison peptidique normalement attaquée par la protéase.

Le meilleur traitement est le cocktail d'agents, chacun à dose élevée, de façon à prévenir l'apparition de la résistance.

7-4. Les limites des antiviraux

La chimiothérapie antivirale a une spécificité en générale étroite d'où la nécessité d'un diagnostic étiologique précis car pas de thérapie à large spectre.

Il y a aussi les limites de l'activité antivirale qui sont la difficulté à contrôler la réplication à haut niveau et l'impossibilité d'éradiquer des infections latentes.

Enfin, les chimiothérapies antivirales entraînent une toxicité cellulaire, coûtent cher, et on voit apparaître l'émergence d'une résistance.

8. La résistance aux agents antimicrobiens

Les souches microbiennes deviennent de plus en plus insensibles aux antibiotiques. La résistance des germes vis-à-vis des agents destinés à les combattre pose de graves problèmes, surtout dans le domaine médical. Il s'agit d'une situation thérapeutique de plus en plus fréquente dans le milieu hospitalier (émergence de bactéries multi résistance BMR), c'est un problème de santé publique extrêmement sérieux.

Une espèce est définie comme résistante si elle l'est naturellement (*E. coli* à la pénicilline G) ou si au sein d'une espèce naturellement sensible, la majorité des souches a acquis une résistance (*S. aureus* à la pénicilline G).

8-1. Evaluation de l'activité *in vitro* d'un antibiotique

Des dilutions croissantes d'antibiotiques dans un milieu de culture liquide sont ensemencées avec le germe à étudier. On détermine la concentration en antibiotiques inhibant la croissance (CMI : concentration minimale inhibitrice et CMB : concentration minimale bactéricide). On peut aussi utiliser un milieu solide. Des disques imprégnés de l'antibiotique à tester sont déposés sur la surface d'une gélose préalablement ensemencée par étalement. Après culture, on mesure le diamètre de la zone d'inhibition de la croissance autour des disques ce qui permet de déterminer la CMI.

8-2. L'antibiogramme

Le Réseau Algérien de la Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques applique les techniques de standardisation de l'antibiogramme préconisées par le CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) recommandées par l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) et agréées par de nombreux pays.

Le but de la réalisation d'un antibiogramme est de déterminer *in vitro* la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques dans une optique essentiellement thérapeutique (guider le clinicien dans le choix d'un antibiotique pour traiter une infection bactérienne), de surveiller l'épidémiologie de la résistance bactérienne et d'identifier les bactéries par la mise en évidence de résistances naturelles.

Le but de la standardisation est de dépister rapidement et correctement les souches bactériennes résistantes aux antibiotiques, surveiller l'évolution de la résistance dans un pays et d'échanger les données avec les autres pays, ainsi que de réduire le coût de l'antibiogramme.

La méthode appliquée est celle de diffusion en milieu gélosé de Mueller Hinton (4 millimètre d'épaisseur). L'inoculum standard doit être calibré à une opacité définie et les disques imprégnés d'une quantité déterminée d'antibiotique. Après incubation, une mesure précise des diamètres d'inhibition autour du disque à l'aide d'un pied à coulisse métallique (figure 15), suivie d'une comparaison des résultats aux valeurs critiques figurant dans des tableaux de lecture (tableau 2).

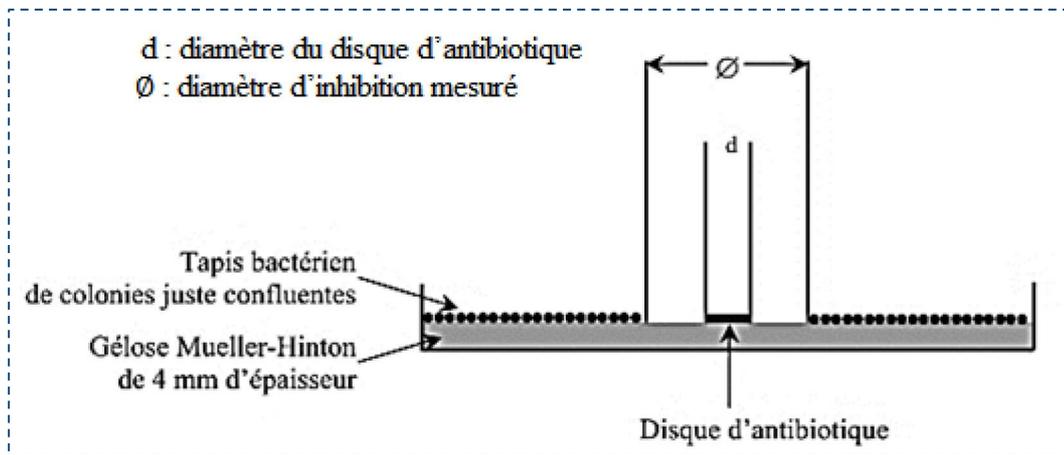


Figure 15 : Schéma en coupe d'une gélose Mueller-Hinton utilisée pour un antibiogramme standard

Tableau 2 : Exemple de tableau de lecture.

Antibiotique	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)	
		CCI	CCS	CCI	CCS
Gentamicine	15µg	<2	>4	>18	<16
Pristinamycine	15µg	<1	>2	>22	<19
Acide Nalixidique	30µg	<8	>16	>20	<15
Acide Pipemidique	20µg	<8	>16	>19	<14

8-3. Interprétation des résultats

Il existe trois interprétations différentes :

- ▶ La bactérie est **sensible** à l'antibiotique : il suffit d'une faible concentration (**c**) de l'antibiotique pour tuer les bactéries et la dose nécessaire est administrable chez l'homme.
- ▶ La bactérie est **résistante** à l'antibiotique : la dose nécessaire pour tuer les bactéries est beaucoup trop élevée (**C**) pour être supportée chez l'homme sans effets secondaires majeurs. Un tel antibiotique ne peut donc être utilisé pour traiter l'infection.

► La bactérie est **intermédiaire** à l'antibiotique : la dose nécessaire pour tuer les bactéries est tantôt administrable chez l'homme, tantôt dangereuse. Il faut donc considérer que la bactérie est résistante *in vivo*, c'est-à-dire dans l'organisme.

Tableau 3 : Interprétation de la sensibilité et de la résistance d'une souche à un antibiotique

Résultats	CMI (mg/L)	Diamètre (\emptyset) (mm)
Souche sensible (S)	$CMI \leq c$	$\emptyset \geq D$
Souche résistante (R)	$CMI > C$	$\emptyset < d$
Souche intermédiaire (I)	$c < CMI \leq C$	$d \leq \emptyset < D$

Remarque : la concentration critique haute (C) définit la résistance et la concentration critique basse (c) définit la sensibilité.

8-4. Mécanismes de la résistance aux antibiotiques

Pour qu'un antibiotique soit actif sur une bactérie, un certain nombre de conditions doivent être remplies ; il doit, en premier lieu, pénétrer dans la cellule ; il doit ensuite rencontrer le récepteur ou la cible moléculaire de son action pour la modifier ou la perturber ; enfin, au cours de son contact avec la cellule, il ne doit subir aucune transformation susceptible de l'inactiver.

Pour échapper à l'action létale des antibiotiques, les bactéries ont développé de très nombreux mécanismes biochimiques de résistance, associés à une grande ingéniosité génétique pour les acquérir et les diffuser.

8-4-1. Absence de pénétration

Certains antibiotiques (la streptomycine) ne pénètrent dans la cellule que grâce à une perméase spécifique, l'absence ou le non fonctionnement de celle-ci mettra la cellule à l'abri des effets de l'antibiotique. Ce phénomène peut être naturel ou acquis.

L'imperméabilisation concerne la membrane externe (pour les bactéries à Gram négatif) ou la membrane cytoplasmique (pour toutes les bactéries). C'est le mécanisme le plus souvent responsable de la résistance naturelle.

8-4-2. Excrétion de l'antibiotique

Une seconde stratégie de résistance est de rejeter hors de la cellule la substance qui vient d'y entrer. Certains agents pathogènes ont dans la membrane cytoplasmique des translocase, appelées pompes effluentes. Ces protéines de transport sont relativement non spécifiques et agissent sur de nombreuses substances (résistance à plusieurs

familles d'antibiotiques et d'antiseptiques), on les trouve chez *E. coli*, *P. aeruginosa* et *S. aureus* et autres.

8-4-3. Modification de la cible

C'est un mécanisme dont l'origine génétique est souvent mutationnelle. La cible est légèrement modifiée par la substitution d'un acide aminé dans la protéine (s'il s'agit d'une enzyme ou d'une protéine ribosomale) ou la substitution d'un nucléotide (s'il s'agit de l'ARN ribosomal). Il peut concerner les β -lactamines, les aminosides, les macrolides, les quinolones...

On peut rencontrer ce mécanisme dans la résistance plasmidique : dans le cas des macrolides, une méthylase modifie deux nucléotides du ribosome qui perd son affinité pour l'antibiotique. Dans le cas des sulfamides ou du triméthoprim, le plasmide code pour des isoenzymes qui ne fixent pas ces molécules.

8-4-4. L'inactivation ou la modification de l'antibiotique

Les antibiotiques sont susceptibles d'être dégradés ou chimiquement inactivés par voie enzymatique. C'est un mécanisme dont l'origine génétique est souvent plasmidique. La première découverte était au cours de l'utilisation de la pénicilline : la pénicillinase, qui agit par ouverture du cycle β -lactame (b β -lactamases : pénicillinases, céphalosporinases) figure 16. Depuis un grand nombre d'enzymes dénaturant les antibiotiques ont été découverts :

- transférases qui phosphorylent ou acétylent certains sites des aminosides,
- transférases qui acétylent les molécules phénicolés.

Ces enzymes sont secrétés au dehors dans le cas des Gram positif, mais maintenus dans l'espace périplasmique dans le cas des Gram négatif.

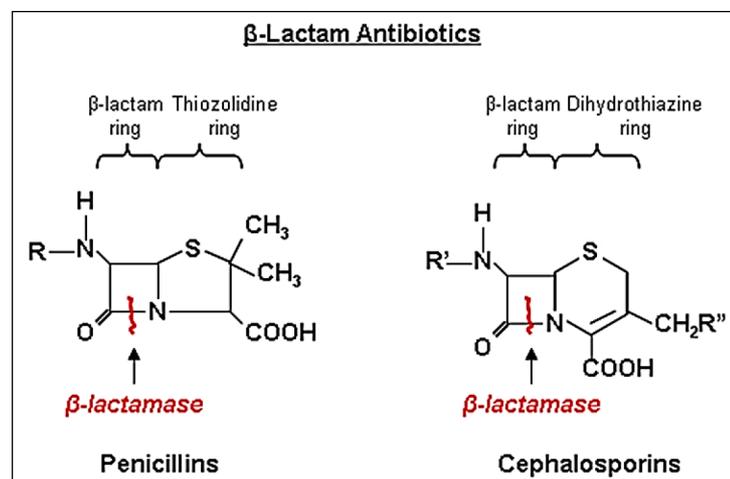


Figure 16 : Action des β -lactamase sur le cycle β -lactame.

8-4-5. Changement de voie métabolique

Certains antibiotiques agissent en bloquant des voies métaboliques ; ainsi, la gramicidine inhibe les phosphorylations oxydatives. La cellule peut éventuellement mettre en œuvre une autre voie métabolique qui permet de contourner la voie bloquée et la rend alors résistante à l'antibiotique.

8-5. Les caractères de la résistance aux antibiotiques

La résistance peut être naturelle ou acquise.

Un microorganisme peut présenter une résistance naturelle vis-à-vis de certains antibiotiques. Il s'agit d'un caractère chromosomique qui correspond à une propriété de l'espèce et qui peut être retenu comme critère d'identification.

L'apparition de germes mutants témoigne une résistance acquise qui a pour support génétique les plasmides ou des éléments génétique transférables (transposons, intégrons, etc.).

8-6. Pourquoi la résistance aux antimicrobiens est-elle une préoccupation mondiale ?

De nouveaux mécanismes de résistance apparaissent et se propagent à l'échelle mondiale. La résistance aux antimicrobiens tue. Elle compromet l'efficacité du traitement; les patients restent contagieux plus longtemps. Elle accroît le coût des soins de santé.

Faute d'antimicrobiens efficaces pour le traitement et la prévention des infections, les taux de succès des traitements tels que les greffes d'organes, la chimiothérapie anticancéreuse et les interventions chirurgicales majeures pourraient être en danger.

8-7. La lutte contre l'acquisition des résistances

Il faut éviter l'émergence de mutants par contrôle de la prescription des antibiotiques. Il faut également éviter les transferts de gènes de résistance par respect des règles d'hygiène et d'isolement des cas multi résistant.

Références bibliographique

- Bonnet R., Bru J-P., Caron F., Cattoir V. et Chardon H. (2015). EUCAST. European society of clinical microbiology and infectious diseases. Comité de l'Antibiogramme. Société Française de Microbiologie.
- Bryskier A. (1999). Antibiotiques, agents antibactériens et antifongiques. Ellipses.
- EUCAST. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (2014). Détermination de la sensibilité aux antibiotiques. Méthode EUCAST de diffusion en gélose. <http://www.eucast.org>.
- EUCAST. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (2013). Méthode EUCAST de diffusion en gélose pour déterminer la sensibilité des bactéries aux antibiotiques.
- Freney J., Renaud F., Leclercq R. et Riegel P. (2007). Précis de Bactériologie Clinique. Edition ESKA Paris.
- Guiraud J.P. (2012). Microbiologie alimentaire. Chapitre V : Destruction et élimination des microorganismes : agents antimicrobiens. P : 67 – 76 Dunod, Paris.
- Nations Unies (2013) Système Général Harmonisé de classification et d'étiquetage des produits chimiques. ST/SG/AC.10/30/Rev.5. New York et Genève.
- Orth G. et Sansonetti P. (2011). La maîtrise des maladies infectieuses. Un défi de santé publique, une ambition médico-scientifique. Rapport sur la science et la technologie. N°24. Académie des sciences. France.
- Oulmi L. (2016). Cours de microbiologie clinique, polycopier support de cours.
- Prescott, Harley, Klein, Wiley, Sherwood et Woolverton (2010). Microbiologie 3^{ème} édition. De Boeck Université. Bruxelles.
- Réseau Algérien de surveillance de la Résistance des bactéries aux Antibiotiques (2011). Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire). « Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS ». 6^{ème} Edition. <http://www.sante.dz/aarn>
- Van Bambeke F. et Tulkens P. (2010). Pharmacologie et Pharmacothérapie Anti-infectieuse. Syllabus national belge de pharmacologie. Bruxelles.
- Ziane H. (2010). Antibiotiques classification, CHU mustapha, www.samic-inf.com.

Table des matières

Introduction.....	1
1. Définitions.....	2
2. Action des agents antimicrobiens.....	4
3. Les agents physiques.....	5
3-1. Les traitements thermiques.....	5
3-1-1. Effet de la Température sur la croissance microbienne.....	5
3-1-2. Influence de la température sur la destruction microbienne.....	6
3-1-3. Relation entre la température d'exposition et la durée d'exposition.....	7
3-1-4. Autres paramètres influençant l'effet de la température.....	8
3-1-5. Les procédés de stérilisation par la chaleur.....	8
3-1-6. Les procédés de stabilisation par le froid.....	10
3-2. Stérilisation par les radiations : Radiostérilisation.....	10
3-2-1. Stérilisation par radiations ionisantes β et γ	11
3-2-2. Stérilisation par les radiations UV.....	11
3-3. Stérilisation par filtration sur membrane.....	12
4. Les agents chimiques.....	13
4-1 Définition.....	13
4-2. Caractéristiques des désinfectants et des antiseptiques.....	13
4-3. L'utilisation des agents chimiques.....	14
4-4. Action des agents chimiques.....	14
4-4-1. Les oxydants :.....	14
4-4-2. Les alcools.....	15
4-4-3. Les composés phénoliques.....	16
4-4-4. Les métaux lourds et leurs sels.....	16
4-4-5. Les gaz.....	17
4-4-6. Les huiles essentielles.....	17
5. Les agents chimiothérapeutiques.....	19
5-1. Notion de la chimiothérapie.....	19
5-2. Les antibiotiques.....	19
5-2-1. La découverte des antibiotiques.....	19
5-2-2. Définition.....	20
5-2-3. Rôle des antibiotiques.....	20
5-3. Classification des antibiotiques.....	20
5-3-1. Classification des antibiotiques d'après leur origine.....	21

5-3-2. Classification des antibiotiques d'après leur structure chimique	21
5-3-3. Classification des antibiotiques d'après leur mécanisme d'action.....	23
5-3-4. Classification des antibiotiques d'après leur spectre d'action	26
6. Les antifongiques	27
6-1. Les infections fongiques.....	27
6-1-1. Les mycoses superficielles	27
6-1-2. Les mycoses profondes.....	27
6-2. Types des antifongiques :	28
6-3. Cibles des antifongiques	28
6-3-1. L'échinocandine	28
6-3-2. L'amphotéricine B ou fungizone	29
6-3-3. Le 5-Fluoro-cytosine :	29
6-3-4. La griséofulvine	30
7. Les antiviraux.....	31
7-1. Les infections virales	31
7-2. Types des antiviraux :	31
7-3. Cibles des antiviraux	31
7-3-1. Action de l'amantadine.....	32
7-3-2. Action de l'acyclovir	32
7-3-3. Action du foscarnet :	33
7-3-4. Action des anti-HIV	33
7-4. Les limites des antiviraux	34
8. La résistance aux agents antimicrobiens.....	35
8-1. Evaluation de l'activité <i>in vitro</i> d'un antibiotique.....	35
8-2. L'antibiogramme	35
8-3. Interprétation des résultats.....	36
8-4. Mécanismes de la résistance aux antibiotiques	37
8-4-1. Absence de pénétration	37
8-4-2. Excrétion de l'antibiotique	37
8-4-3. Modification de la cible	38
8-4-4. L'inactivation ou la modification de l'antibiotique	38
8-4-5. Changement de voie métabolique	39
8-5. Les caractères de la résistance aux antibiotiques.....	39
8-6. Pourquoi la résistance aux antimicrobiens est-elle une préoccupation mondiale ?	39
8-7. La lutte contre l'acquisition des résistances	39
Références bibliographique.....	40

