

I.1. Définition de la microbiologie

La microbiologie est une science fondamentale qui étudie la structure, la physiologie et l'écologie des microorganismes. Le terme (microbe) englobe tous les organismes vivants, de petites dimensions nécessitant le microscope pour les observer. Il comprend les : Champignons (moisissures et levures), algues unicellulaires, protozoaires, bactéries et virus.

I.2. Place des micro-organismes dans le monde vivant

Après la découverte des microorganismes, les scientifiques ont essayé de les classer parmi les êtres vivants.

Avec le développement des techniques de **biologie moléculaire**. **Woese CR en 1978** a proposé une classification plus précise basée sur un critère objectif et phylogénétique, il est arrivé à diviser les organismes vivants en **trois domaines**. Le domaine des **Bactéries ou (Eubacteria)** qui se caractérisent par la présence d'une paroi cellulaire avec du peptidoglycane, le domaine des **Archéobactéries (Archaea)** dont la paroi est distincte et différente de celle des eubactéries. Le domaine des **Eucaryotes** qui regroupe les animaux, les plantes, les mycètes (moisissures et levures) et les protistes.

II. La cellule bactérienne

II.1. Morphologie bactérienne

Les bactéries sont des êtres unicellulaires de petite taille, qui possèdent les éléments essentiels à la vie cellulaire, leur longueur varie de 2 à 5 μm et leur diamètre de 0,5 à 1 μm . Elles ne sont donc visibles qu'au microscope optique ($\times 10^3$) ou au microscope électronique ($\times 10^6$). Certaines bactéries sont très longues : (longueur = 100 μm , diamètre = 1 à 2 μm) et les plus petites bactéries = mycoplasmes (0,1 à 0,3 μm). Le poids d'une bactérie est d'environ 10^{-12}g .

Elles ont une grande variété de tailles, formes, et arrangements ou agrégations cellulaires. Les cellules bactériennes peuvent rester ensemble après la division pour former des paires, des chaînettes ou des groupes de différentes tailles et formes.

- ✓ **Formes arrondies ou sphériques (coques) : isolées, Amas=grappe** (Staphylocoques), **Chaînette** (*staphylococcus aureus*), **Diplocoque** (*Streptococcus pneumoniae*), **Tétrades** : 4 coques en un groupe carré (*Sarcina ventriculi*).
- ✓ **Formes intermédiaires ou coccobacilles** : (*Haemophilus influenzae*)
- ✓ **Formes allongées en forme de bâtonnet ou bacilles : Avec des extrémités carrées** (*Bacillus anthracis*, *Escherichia coli*), **extrémités effilées** (*Fusobacterium*) **ou Incurvées** : (*Vibrio cholerae*), elles peuvent être **isolés, diplobacilles** ou en chaînette **streptobacilles**.
- ✓ **Pléiomorphes** : Organismes qui changent de forme (*Corynebacterium diphtheriae*)
- ✓ **Formes spiralées : Spirochètes** (*Treponema palidum*), **Spirillum** (*Spirillum volutans*)

- ✓ **Forme mycélienne** : Réseau de longs filaments multinucléés ramifiés ou non comme certaines espèces d'Actinomycètes (*Streptomyces albus*) et cyanobactéries (*Oscillatoria limosa*).

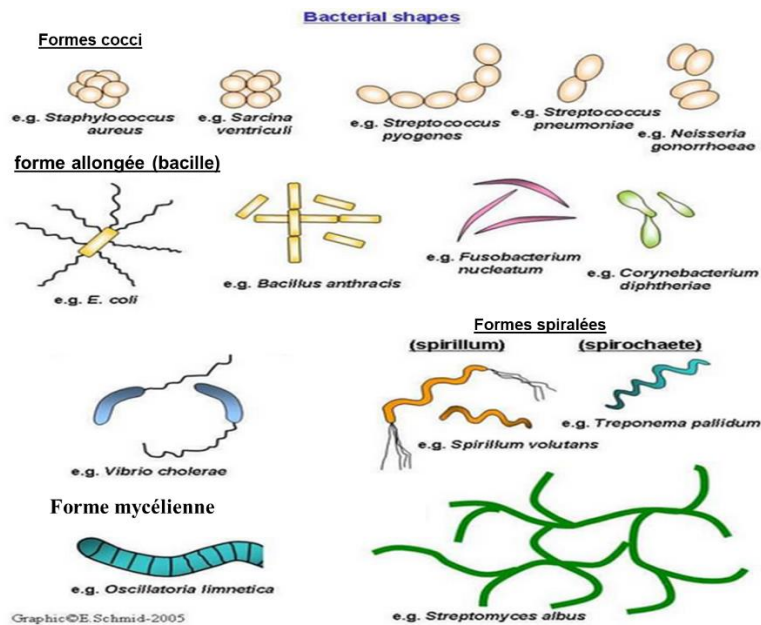


Figure 01 : Les différentes formes et arrangements des bactéries

II.2. Techniques d'observation de la cellule bactérienne

Compte tenu de leur taille (de l'ordre du micron), elles seront visualisées par le microscope. La présence de bactéries est habituellement recherchée avec un **microscope optique** sans coloration (état frais) pour examiner la mobilité, ou après coloration pour la mise en évidence de la présence de la capsule (**coloration à l'encre de Chine**), la présence des endospores (**coloration au vert de malachite**), la distinction entre les bactéries à Gram positif et négatif (coloration de Gram), l'identification des mycobactéries (**coloration de Ziehl-Neelsen**), détermination de la forme (**coloration simple au bleu de méthylène**) ou la présence d'autres structures comme les cils et les flagelles (**voir TP2**).

Le microscope optique à **fond noir** est utilisé pour observer des organismes vivants **non colorés** difficilement observables au microscope optique classique.

Le microscope **optique à fluorescence** : Cette technique est la même qu'un microscope optique, sauf que la lumière utilisée n'est pas blanche, mais peut-être (**ultra-violette, violette ou bleue**), elle permet d'obtenir une image de l'objet résultante de la lumière fluorescente émise par l'échantillon.

Pour observer des structures très petite de l'ordre de 5 nm à 10 nm, on utilise **la microscopie électronique**.

II.3. Structure et anatomie de la cellule bactérienne

II.3.1. Les éléments essentiels (constants) : Ils existent chez toutes les espèces bactériennes. Les principales structures sont la **paroi cellulaire** et la **membrane cytoplasmique**, le **cytoplasme** avec les **inclusions** et le **chromosome bactérien** correspondant au noyau des eucaryotes.

A. La paroi bactérienne : C'est une enveloppe rigide essentielle à la bactérie. Sa structure diffère selon les groupes bactériens (**Gram positif** ou **Gram négatif**) (voir *TP2, coloration de Gram*). Le **peptidoglycane** est le constituant principal de la paroi, c'est un polymère complexe formé de 3 éléments différents : les **osamines** formées de chaînons N-Acétyl Glucosamine - Acide N-Acétyl Muramique, Les chaînes **peptidiques latérales** sont formées au minimum de quatre aminoacides (par exemple L-Alanine - D-Glycine - L-Lysine - D-Alanine) qui sont toujours fixées sur l'acide muramique et les **chaîne peptidique** (chaîne interpeptidique).

Tableau 01 : Principaux constituants chimiques de la paroi chez les bactéries à Gram+ et à Gram-

Paroi des bactéries à Gram (+)	Paroi des bactéries à Gram (-)
Osamines : N-acétyl glucosamine (NAG) et Acide N-acétyl muramique (ANAM)	
*Paroi épaisse et monocouche 15-80 nm * Peptidoglycane représente 80 à 90% de la paroi	*Paroi mince et multicouche 6-15 nm * Peptidoglycane présent en petite quantité, 10% de la paroi
* Acides teïchoïques et lipoteïchoïques (polymères de polyribitol phosphate ou polyglycérol phosphate)	*Pas d'acides teïchoïques ni lipoteïchoïques
* Peu de lipides (1 à 2 %)	* Lipides en grande quantité (10 à 20 % dans la membrane externe)
4 Acides aminés majeurs : Ala (D et L) D-Glu, L-Lys, acide diaminopomélique (DAP)	Mêmes acides aminés Beaucoup moins de DAP et de L-Lys

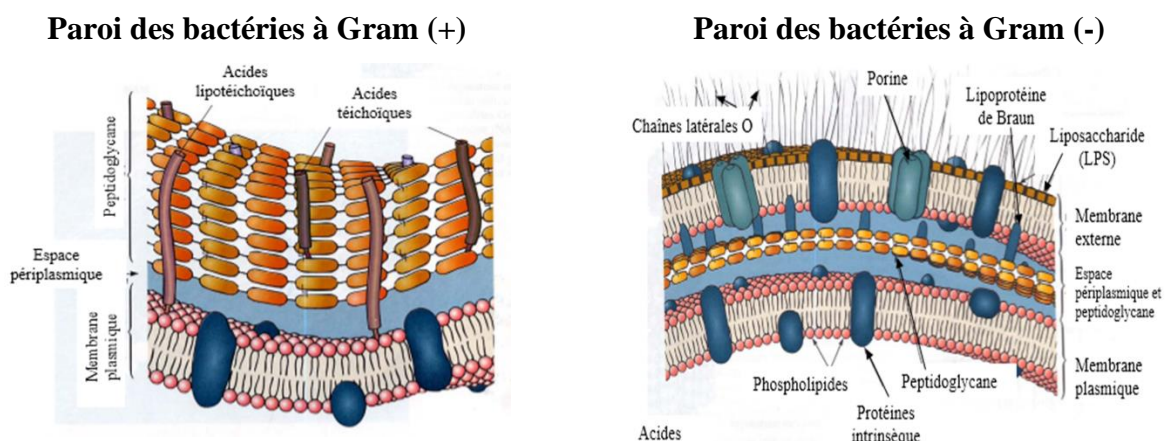


Figure 02. Principaux constituants chimiques de la paroi chez les bactéries à Gram+ et à Gram-

- Les parois des bactéries à Gram négatif se caractérisent par la présence d'une couche supplémentaire externe appelée la membrane externe épaisse de 7 à 8 nm, riche en **lipoprotéines, phospholipides et**

lipopolysaccharides (LPS). Les **LPS** sont des grandes molécules complexes contenant à la fois des lipides et des glucides. Elles sont formées de trois parties :

-Le **lipide A** qui est souvent toxique,

-Le **polysaccharide central** qui est lié au lipide A, sa composition en sucres est variable selon les espèces.

- **La chaîne latérale O** ou **antigène O** qui est une chaîne polysaccharide courte s'étendant au-delà du polysaccharide central. Elle est constituée de quelques sucres particuliers et sa composition varie selon les souches bactériennes.

❖ Rôles de la paroi cellulaire

-La paroi assure le maintien de la forme de la bactérie.

-La paroi assure une protection contre la pression osmotique intracellulaire.

- Elle joue un rôle déterminant dans la coloration de Gram.

- Elle joue un rôle déterminant dans la spécificité antigénique des bactéries (**antigène O** et **antigène flagellaire H** chez les bactéries à Gram négatif, les **acides teichoïques** ou leurs **sous unités osidiques** constituent les

principaux antigènes chez les bactéries à Gram positif).

- Elle est le support de l'action de certains enzymes exogènes (lysozyme) ou endogènes (autolysines) et de certains antibiotiques.

- Permet la fixation des bactériophages.

- Participe à la mobilité.

- La perméabilité, la paroi laisse passer des petites molécules comme l'eau, les sels minéraux ou des métabolites simples. Par contre elle est plus ou moins perméable à certains solvants.

B. La membrane plasmique

La membrane cytoplasmique des bactéries a une épaisseur d'environ 7 µm et sépare la paroi du cytoplasme. Elle forme un feuillet continu. Elle est constituée d'une bicouche fluide de **phospholipides** dans laquelle sont incorporés des **protéines** globulaires. Les glucides (glucose et glucosamine) sont associés aux protéines de surfaces (**glycoprotéines**) ou aux phospholipides (**glycolipides**). Cette structure est dynamique et conforme au modèle de la mosaïque fluide.

❖ Composition chimique

- **Les lipides : (30 à 40 %) :** Ce sont des molécules amphiphiles, composées d'une partie hydrophile et une autre hydrophobe, ils s'organisent spontanément en bicouche avec deux surfaces hydrophiles externes séparées par une zone centrale hydrophobe.

- **Les protéines : (60 à 70 %) :** On distingue deux classes de protéines :

✓ **Intrinsèques :** Ce sont des protéines transmembranaires. Elles sont globalement hydrophobes et s'associent en un complexe stable avec les phospholipides.

- ✓ **Extrinsèques** : Riche en acides aminés hydrophiles et peuvent être soit péri-plasmique, soit cytoplasmique à proximité de la membrane.

❖ Fonction de la membrane plasmique

- **Rôle de barrière semi-perméable** : Elle s'oppose à la fuite, vers l'extérieur, des constituants libres dans la cellule. Elle s'oppose à l'entrée, vers l'intérieur, des constituants indésirables.
- **Rôle de transport** : on distingue deux mécanismes principaux : **Transport passif** : Il ne nécessite pas de l'énergie et s'effectue dans le sens du gradient de concentration du composé. **Transport actif** : Nécessite de l'énergie et s'effectue dans le sens inverse du gradient de concentration du composé.
- Possède les sites de fixation des flagelles, les enzymes nécessaires à la synthèse de la paroi, les enzymes de la chaîne respiratoire permettant la synthèse d'ATP, et permet l'excrétion d'enzymes hydrolytiques.

C. Le cytoplasme (L'hyaloplasme ou le cytosol) : Délimité par la membrane cytoplasmique et est caractérisé par :

Liquide	Cytoplasme homogène, fluide, clair, transparent.
pH	7 - 7,2
Pression osmotique	Elevée
Composition chimique	Eau, minéraux, acides aminés, nucléotides, lipides, protéines, ARN, composés métaboliques, ribosomes et granulations de réserves (glycogène, cyanophycine, phosphate, carboxysomes.)

F. L'appareil nucléaire des bactéries (Chromosome)

Les bactéries possèdent un appareil nucléaire constitué d'acide desoxyribonucléique (ADN) qui est le support de l'information génétique. L'ADN chromosomique bactérien est généralement constitué d'une double hélice d'ADN circulaire, surenroulée sans enveloppe nucléaire et sans nucléole. Le chromosome bactérien a près de **1 mm** \approx **5.10⁶** paires de bases de long et 3 à 5 nanomètres de large.

II.3.2. Les éléments facultatifs (non constants) : Ils se retrouvent seulement chez certaines bactéries comme la capsule, Pili et Fimbriae, Flagelle, Plasmide, et la spore.

A. L'ADN extra-chromosomique (plasmides) : Ce sont des éléments génétiques (ADN) de petite taille (0,5 à 5 % du chromosome bactérien), extra chromosomiques, circulaires en double brin et très enroulés, Ils ne sont pas indispensables à la vie de la bactérie. Ils se répliquent indépendamment et plus rapidement que le chromosome bactérien. Généralement on distingue deux types : **Le facteur sexuel** ou **facteur F** qui assure le transfert des fragments de chromosome bactérien vers une autre bactérie et **les plasmides de résistance aux antibiotiques (facteurs R)**

B. Les flagelles et la mobilité

La plupart des bactéries mobiles se déplacent grâce à des **flagelles**, qui sont des appendices locomoteurs s'étendant à l'extérieur de la membrane plasmique et de la paroi cellulaire. Ce sont des structures minces, d'environ 20 nm de diamètre et 15 à 20 µm de long. Ils sont composés de trois parties : **le filament**, **le corps basal** et **le crochet**. Les flagelles confèrent aux bactéries des propriétés antigéniques, cette spécificité repose sur le nombre et la séquence en acides aminés dans la flagelline.

C. Les pili ou fimbriae

De nombreuses bactéries à Gram négatif (exceptionnellement des bactéries à Gram positif) possèdent des structures de surfaces, plus courtes et plus fins que les flagelles appelées pili.

D. Capsule

La **capsule** est une couche épaisse de sucres, retrouvée chez quelques espèces seulement. Ces sucres sont sécrétés à l'extérieur de la paroi cellulaire et forment un maillage épais autour de la cellule.

E. La spore

Certaines bactéries, entre autres d'intérêt médical (genre *Clostridium* et *Bacillus*) ont la propriété de se différencier en formes de survie appelées spores lorsque les conditions deviennent défavorables, comme par exemple l'épuisement des éléments nutritifs. Ce sont des structures résistantes aux conditions sévères de l'environnement comme la chaleur, les radiations ultraviolettes, les désinfectants chimiques et la dessiccation.

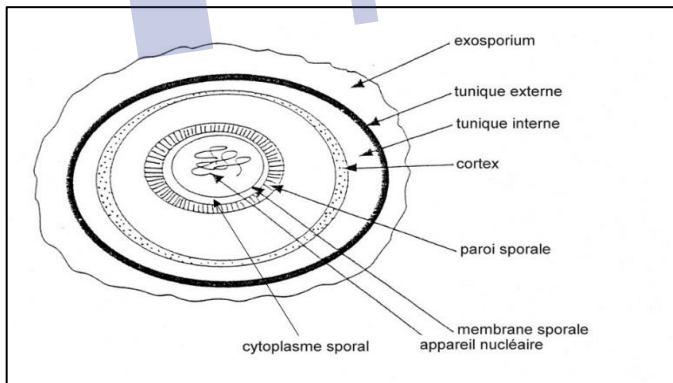


Figure 03/ L'ultrastructure de la spore bactérienne

- **Phénomènes de sporulation bactérienne/germination**

Sporulation : Il représente le passage de la forme végétative à la forme sporulée.

Germination : C'est la transformation de la spore en cellule végétative.

III : Nutrition et croissance bactérienne

III.1. Besoins nutritifs des bactéries : Les bactéries sont des organismes vivants qui ont besoin d'un ensemble de substances nutritives nécessaires à leur énergie et à leurs synthèses cellulaires. Les besoins nutritifs des bactéries sont de deux types, les **besoins élémentaires** et les **besoins spécifiques** = **facteurs de croissance**.

A. Besoins élémentaires : Besoins communs à toutes les bactéries :

1) Source d'énergie : L'énergie nécessaire à la biosynthèse des constituants bactériens peut être de nature **lumineuse**, et les bactéries sont dites **phototrophes** ou de nature **minérale** ou **organique** (Oxydation d'un composé chimique), et les bactéries sont dites **chimiotrophes**.

2) Source de carbone : Le carbone est un élément essentiel de la cellule bactérienne, Selon la source de carbone on distingue : Les bactéries dites **autotrophes** qui sont capables d'utiliser le **dioxyde de carbone (CO₂)** de l'air comme seule source de carbone. Par contre les bactéries **hétérotrophes**, exigent la présence de **composés organiques** divers comme les sucres pour utiliser leur carbone ...

Selon les sources d'énergie, donneurs d'électrons et sources de carbone, les bactéries peuvent être regroupés selon les types trophiques suivants :

Source d'énergie	Source d'électrons)	Source de carbone	<u>Type trophique</u>
Lumière <i>Photo-</i>	Composé organique <i>-organo-</i>	Organique <i>-hétérotrophe</i>	Photoorganohétérotrophe
		Minérale (CO ₂) <i>-autotrophe</i>	Photoorganoautotrophe
	Inorganique <i>-litho-</i>	Organique <i>-hétérotrophe</i>	Photolithohétérotrophe
		Minérale (CO ₂) <i>-autotrophe</i>	Photolithoautotrophe
Composé chimique organique ou non <i>Chimio-</i>	Composé organique <i>-organo-</i>	Organique <i>-hétérotrophe</i>	Chimioorganohétérotrophe
		Minérale (CO ₂) <i>-autotrophe</i>	Chimioorganoautotrophe
	Inorganique <i>-litho-</i>	Organique <i>-hétérotrophe</i>	Chimiolithohétérotrophe
		Minérale (CO ₂) <i>-autotrophe</i>	Chimiolithoautotrophe

3) Source d'azote

Il participe à la constitution des acides aminés, des peptides, des protéines, de bases azotées, des acides nucléiques et des coenzymes. Pour la majorité des bactéries, la source d'azote est constituée par des composés **inorganiques** (ammoniac, sels d'ammonium, nitrites, nitrates ou N₂) ou par des sources **organiques** pour les autres bactéries (groupements amines des composés organiques comme les protéines et les acides aminés).

4) Eléments minéraux (phosphore et soufre) : Les bactéries ont besoin également d'une **source de soufre** qui se retrouve dans les protéines, et d'une **source de phosphore** qui est incorporé sous la forme de **phosphate inorganique**.

Les bactéries ont besoin aussi d'autres éléments minéraux.

- **Macro-éléments :** comme le potassium (**K**), le magnésium (**Mg**), le chlore (**cl**) et le sodium (**Na**) qui sont nécessaire en quantités importantes.

- **Micro-éléments (oligo-éléments)** : comme le manganèse (**Mn**), le zinc (**Zn**), le molybdène (**Mo**), le Nickel (**Ni**), le cobalt (**Co**) et le Cuivre (**Cu**) nécessaires en très faibles quantités.

B. Besoins spécifiques = facteurs de croissance : Les bactéries **auxotrophes** nécessitent en plus des besoins élémentaires, un ou plusieurs **facteurs de croissance** comme les **vitamines**, les **acides aminés**, des **bases puriques** et **pyrimidiques** et les **acides gras**. Par contre certaines bactéries ne les exigent pas et elles sont dites **prototrophes**.

III.2. Croissance et division bactérienne

Chez les organismes **pluricellulaires**, la croissance se manifeste par **l'augmentation** de **taille** ou de **masse**. Chez les **microorganismes unicellulaires**, elle se manifeste par **l'augmentation** du **nombre** (multiplication suite à des **divisions binaires** ou **scissiparité**). Donc la croissance bactérienne correspond à l'accroissement du **nombre de bactéries**.

III.2.1. Constantes et expression de la croissance : La croissance d'une bactérie est définie par 2 constantes :

- **Le temps de génération (G)** : correspondant au temps nécessaire au doublement d'une population ou une division cellulaire, ou le temps d'intervalle entre deux divisions successives). On mesure l'accroissement d'une population bactérienne à partir du calcul du **temps de génération** ; il dépend de l'espèce bactérienne et des conditions du milieu extérieur (favorables ou défavorables). $G = t/n$, **t** : temps, **n** : le nombre de divisions.
- **Taux de croissance (μ)** désigne le nombre de divisions par unité de temps (**heure**). Par Exemple, *E.coli* se divise 3 fois en une heure, son taux de croissance est de 3.

$$\mu = n/t \Rightarrow n = \mu t, \text{ donc } \mu = 1/G$$

III.2.2. Les différentes phases de croissance en milieu non renouvelé

I : Phase de latence ou (phase d'adaptation) : $\mu = 0$, pas de division cellulaire, elle est nécessaire avant le début de la division pour **l'adaptation des bactéries au milieu**.

II : Phase d'accélération pendant laquelle la vitesse de croissance augmente. **μ augmente**.

III : Phase exponentielle de croissance : Cette phase est linéaire logarithmiquement où la croissance est maximale et constante (**μ est maximum et constant**).

IV : Phase de ralentissement : Les bactéries continuent à se diviser mais à un rythme moins important entraînant en parallèle une diminution de **μ (μ > 0 en diminution)**.

V : Phase stationnaire. On est parvenu à un plateau. $\mu = 0$. Les bactéries ne se divisent plus.

VI : Phase de mortalité ou de déclin : La carence en nutriments et l'accumulation de déchets toxiques conduisent à la diminution du nombre de cellules viables. Elles vont se lyser et libérer leur contenu intracellulaire (elles meurent). $\mu < 0$.

III.2. 3. Facteurs influençant la croissance bactérienne : Les facteurs physico-chimiques qui influencent le plus cette croissance sont l'humidité, la température, l'oxygène et le pH.

*** Effet de l'oxygène :** Il existe 4 classes de bactéries en fonction de leurs rapports avec l'oxygène :

- **Bactéries aérobies strictes (*Pseudomonas*) :** elles ne se développent qu'en présence de l'O₂.
- **Bactéries micro-aérophiles (*Campylobacter*) :** se développent mieux ou exclusivement lorsque la teneur en oxygène moléculaire est réduite.
- **Bactéries aéro-anaérobies facultatives :** se développent avec ou sans O₂.
- **Bactéries anaérobies strictes (*Clostridium*) :** Elles ne se développent qu'en absence totale d'oxygène.

*** Effet de la température :** sur la base de leurs températures optimales de croissance on distingue :

- **Bactéries mésophiles (*Escherichia coli*) :** dont la croissance est possible de 10 à 45°C mais avec une température optimale de croissance comprise entre 30 et 37°C.
- **Bactéries thermophiles (*Thermus aquaticus*) :** températures de croissance comprises entre 45 et 70°C.
- **Bactéries hyperthermophiles :** peuvent croître à des températures supérieures à 80°C.
- **Bactéries psychrophiles :** Température proche du 0°C avec un optimum de 10 à 15°C.
- **Bactéries psychrotrophes (*Pseudomonas*) :** se développant à des températures de -5 à 35°C (optimum proche de celui des bactéries mésophiles : 20-25°C).

*** Effet du pH :** Il existe 3 catégories de bactéries :

- **Bactéries neutrophiles (*Escherichia coli*) :** certaines bactéries se développent à des pH compris entre 5.5 et 8.5 avec un optimum voisin de 7.
- **Bactéries alcalophiles (*Pseudomonas*) :** se développent préférentiellement à un pH alcalin (>8).
- **Bactéries acidophiles (*Lactobacillus*) :** leur croissance est optimale à pH acide (<6).

*** Effet de la pression osmotique :** Selon leur sensibilité à la pression osmotique, on distingue :

- **Bactéries halophiles (*Vibrio*) :** elles nécessitent une concentration de NaCl pour leur croissance comprise 0.2 < [NaCl] < 5.2 M.
- **Bactéries halotolérantes (*Enterococcus faecalis, Staphylococcus aureus*) :** capable de s'adapter à de très fortes concentrations en sel, elles tolèrent 7.5 à 15% de NaCl.
- **Bactéries non halophiles (*Pseudomonas*) :** Croissance à des concentrations en NaCl inférieures à 0,2 M.

*** Effet de l'eau libre (Activity of Water) (AW) :** On définit l'Aw : Activity of Water pour quantifier l'eau biologiquement disponible pour les bactéries. Elle est comprise entre 0 < Aw < 1, et inversement proportionnelle à la pression osmotique d'un composé.

L'**Aw optimum** pour la plupart des bactéries est situé entre 0,91 et 0,99. Pour la plupart des levures elle est située aux alentours de 0,88 et pour la plupart des moisissures elle est située aux alentours de 0,80

Il existe aussi des bactéries pouvant résister à des Aw faibles :

- **Microorganismes halophiles** : exigeant des concentrations élevées de NaCl pour leur croissance (ex : les bactéries du genre *Staphylococcus* et certains *Vibrio*) **(0,80-0,75)**.
- **Microorganismes xérophiles** : se développant mieux dans des milieux ayant une faible Aw **(0,75-0,65)**.
- **Microorganismes osmophiles** : se multipliant de préférence dans ou à la surface d'un milieu ayant une pression osmotique élevée **(0,65-0,60)**.

IV : Les agents antimicrobiens : (Le contrôle des micro-organismes par les agents physiques et chimiques)

IV.1. Définition des agents antimicrobiens

Ce sont des substances dont le contact, dans des conditions définies avec les microorganismes, entraîne, soit l'inhibition de leur multiplication (suffixe=**statique**) (Exemple : **bactériostatique** et **fongistatique**), soit leur mort (suffixe=**cide**) (**bactéricides, fongicides, algicides, et viricides...**)

IV.2. Définition des termes fréquemment utilisés

➤ **Stérilisation**

Procédé par lequel on détruit ou élimine d'un objet ou d'un produit de façon durable toutes les cellules vivantes, les spores viables et les virus. Un objet stérile est totalement exempt de microorganismes, de spores ou d'autres agents infectieux viables.

➤ **Désinfection**

C'est une opération au résultat momentané permettant **d'éliminer** ou de **tuer** les microorganismes et/ ou d'inactiver les virus indésirables portés par des milieux **inertes**. Un désinfectant (habituellement agents chimiques) **ne stérilise pas forcément** un objet parce qu'il peut encore laisser des spores viables et quelques microorganismes.

➤ **Décontamination**

Elle est étroitement associée à la désinfection. Elle permet de réduire momentanément la population à des niveaux considérés sans danger selon les normes de la santé publique. Il est fréquemment nécessaire de contrôler les microorganismes sur le **tissu vivant** par des agents chimiques.

➤ **Antisepsie**

C'est la **prévention de l'infection** par l'utilisation d'antiseptique qui sont des **agents chimiques** appliqués sur les **tissus vivants** dans le but de détruire ou d'inhiber le développement de l'agent pathogène.

- **L'asepsie** est l'ensemble des règles à respecter par les équipes médicales pour éviter l'apport de microbes exogènes.

IV.3. Classification des agents antimicrobiens : On distingue 3 classes d'agents antimicrobiens :

-Les agents physiques et les agents chimiques : ils exercent une action antibactérienne non spécifique. Ils ne peuvent pas être utilisés en thérapeutique puisque leur action s'exerce vis-à-vis du microbe mais aussi vis à vis d'autres cellules animales et humaines.

-Les agents chimio-thérapeutiques : Empêchent la multiplication ou détruisent les bactéries. Ils exercent une action antibactérienne **spécifique** et n'ont pas d'effet nocif sur les cellules animales et humaines à certaines concentrations.

IV.3.1. Agents antimicrobiens physiques

A. La température

Elle peut être utilisée pour la **conservation** des aliments par le froid (**réfrigération, congélation**) soit par la chaleur (**la pasteurisation, la stérilisation, la tyndallisation**).

Les destructions thermiques utilisent **la chaleur humide ou la chaleur sèche**.

A.1. Chaleur humide

Stérilisation : La stérilisation par la chaleur humide doit être pratiquée à des températures supérieures à 100°C. La stérilisation à la vapeur est réalisée dans un **autoclave** à une température généralement de 121°C et une pression de 1 bar pendant 15-20 min. Elle est utilisée pour stériliser les produits (milieux de culture...etc) et les instruments **thermorésistants**.

Pasteurisation : C'est une technique utilisée pour détruire les cellules végétatives mais pas les spores. Elle est utilisée avec les produits **thermosensibles** comme le lait. Le lait peut être **pasteurisé** de deux manières : dans la méthode ancienne, il est maintenu à **63°C pendant 30 min**. Actuellement, de grandes quantités de lait sont soumises à une **flash-pasteurisation** qui comprend un chauffage rapide à environ **72°C pendant 15 sec** puis un **refroidissement rapide**, ou la plus récente (**La pasteurisation Ultra Haute Température (UHT)**) : **140 à 150°C pour 1 à 3 secondes**.

La tyndallisation : La tyndallisation est utilisée pour stériliser les matières **thermosensibles**. Le récipient contenant le produit à stériliser est chauffé jusqu'à **60 à 70°C pendant 30 min, une fois par jours (3 jours)** consécutivement, et **incubé à 37°C entre temps**. Le 1^{er} chauffage détruit tous les organismes sauf les endospores bactériennes, la plupart d'entre elles germent pendant l'incubation suivante à 37°C et sont tuées pendant la seconde période de chauffage. Les spores restantes sont détruites après l'incubation suivante et le troisième traitement thermique.

A.2. Chaleur sèche : Il faut utiliser le **four Pasteur ou Poupinel** à circulation d'air pour une bonne répartition de la chaleur. La stérilisation est obtenue par une oxydation des constituants cellulaires et dénaturation des protéines : **180°C (30 min) - 170°C (1h) - 160°C (2h)**. Elle est utilisée pour stériliser les objets (verrerie, matériel chirurgical) qui ne peuvent être stérilisés par la chaleur humide.

A. 3. Températures basses

- **Congélation** : Elle inhibe la reproduction microbienne dû à une absence d'eau sous forme liquide. Certains micro-organismes sont tués par la rupture des membranes dû à la formation de cristaux de glace.
- **Réfrigération** : Elle permet la réduction de la croissance bactérienne et la reproduction.

B. Les radiations : les **rayonnements** comme les rayons gamma ou l'ultra-violet agissent sur l'ADN en le modifiant chimiquement, en le coupant ou provoquent la formation de liaisons anormales entre des bases de thymine proches, entraînant des mutations létales chez les micro-organismes.

Les **UV** sont utilisés pour diminuer les microorganismes de l'air confinée comme des blocs opératoires, et les **rayons gamma** pour stériliser les boîtes de Pétri, les seringues, les pansements à emballage individuel et tout matériel en plastique.

C. Elimination mécanique par filtration sur membrane : La **filtration** est le meilleur moyen pour stériliser des solutions renfermant **des substances thermolabiles**, comme des protéines, vitamines, sérum, ATB... cette filtration stérilisante est appelée stérilisation à froid.

IV.3.2. Agents antimicrobiens chimiques

Ils sont très actifs mais toxiques pour l'homme, Ils ne peuvent être ingérés. Leur action est brutale et non spécifique (à la différence des ATB).

On distingue : **Les composés phénoliques** (comme les crésols, les xylènes), **Les alcools** (l'éthanol et l'isopropanol), Les **halogènes** (l'iode, le chlore), **Les métaux lourds** (Comme l'argent, le mercure, l'arsenic, le cuivre), **Les aldéhydes** (formaldéhyde et le glutaraldéhyde), **Les gaz stérilisants** (l'oxyde d'éthylène) et Les **colorants** (le vert de malachite, le vert brillant, le violet de méthyle, le violet de gentiane).

IV.3.3. Les agents chimiothérapeutiques (antibiotiques)

IV.3.3.1. Définitions

C'est « tout **composé chimique, élaboré par un organisme vivant ou produit par synthèse**, à coefficient chimiothérapeutique élevé dont l'activité thérapeutique se manifeste à **très faible dose** d'une **manière spécifique**, par l'inhibition de certains processus vitaux à l'égard des microorganismes sensibles ».

IV.3.3.2. Classification des antibiotiques

Les antibiotiques sont très nombreux et peuvent être classés selon divers critères :

A) Origine :

- **Les antibiotiques naturels** ou produits par les micro-organismes : Champignons (**Pénicilline**). Bactéries (**Streptomycine**).
- **Les antibiotiques synthétiques** ou produits obtenus entièrement par voie chimique : **Sulfamides. Acides nalidixiques.**
- **Les antibiotiques semi-synthétiques** : Ces antibiotiques sont obtenus à partir d'une fraction moléculaire naturelle sur laquelle a été greffé un radical chimique.

B) Mode d'action : Les antibiotiques inhibent la croissance ou tuent la bactérie par plusieurs mécanismes :

- l'inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire
- l'inhibition de la synthèse des protéines
- l'inhibition de la réplication et de la transcription de l'acide nucléique
- l'inhibition de la membrane cytoplasmique
- l'inhibition de la synthèse de métabolites essentiels

C) Spectre d'activité : Le spectre d'activité d'un antibiotique ou domaine d'action est une liste théorique de toutes les bactéries pouvant être inhibées dans leur croissance ou détruites par un antibiotique donné.

Large spectre : Actif sur la majorité des bactéries à Gram positif ou négatif.

Spectre limité : Actif sur les bactéries à Gram positif et quelques bactéries à Gram négatif.

Spectre étroit : Actif uniquement sur certains germes à Gram positif ou sur certains à Gram négatif ou un genre.

D) Nature chimique : La structure de base commune à plusieurs antibiotiques permet de regrouper ces antibiotiques dans une même famille. Les antibiotiques d'une même famille ont en générale le même mécanisme d'action. Le tableau suivant résume les différentes familles d'antibiotiques.

Antibiotiques	Mode action	Effet	Spectre d'activité
<u>1. β-lactamines</u> (Pénicilline)	Inhibent la synthèse de la paroi	Bactéricides	Plus larges
<u>2. Aminoglycosides</u> <u>(Oligosaccharides)</u> (Streptomycine)	Perturbent la synthèse des protéines	Bactéricides	Large
<u>3. Les phenicoles</u> (Chloramphenicol)	Inhibent la synthèse des protéines	Bactériostatiques	Large
<u>4. Les tétracyclines</u> (Tétracycline)	Inhibent la synthèse des protéines	Bactériostatiques	Très large

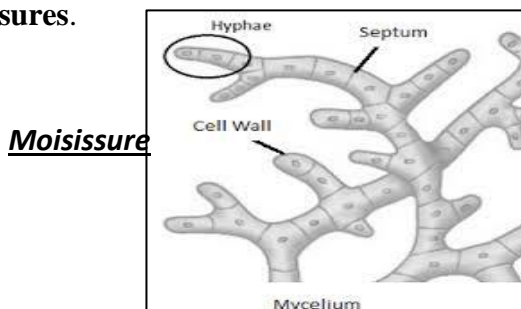
5. Les macrolides (Erythromycine)	Inhibent la synthèse des protéines	Bactériostatiques	Spectre étroit
6. Les quinolones (L'acide nalidixique)	Empêchent la réplication et la transcription de l'ADN bactérien	Bactéricides	Étroit
7. Sulfamides (Sulfapyridine)	Inhibition de la transcription de l'ADN en ARNm	Bactériostatiques	Large spectre
8. Les rifamycines (Rifampicine)	Inhibe la transcription des ARN messagers	Bactéricides	Étroit
9. Les synergistines (Pristinamycine et la virginiamycine)	Bloquent en deux étapes différentes la synthèse de la chaîne peptidique.	Bactéricides	Limité
10. Les polypeptides basiques - (La Polymyxine : Actif sur certaines bactéries à Gram négatif) - (La Bacitracine : Actif sur certaines bactéries à Gram positif)	-Il détruit la structure de la membrane de la cellule bactérienne -Inhibe la synthèse de la paroi bactérienne	Bactéricides	Étroit

V : Notion de base sur la mycologie (mycètes =champignons).

La mycologie est la science qui étudie les champignons.

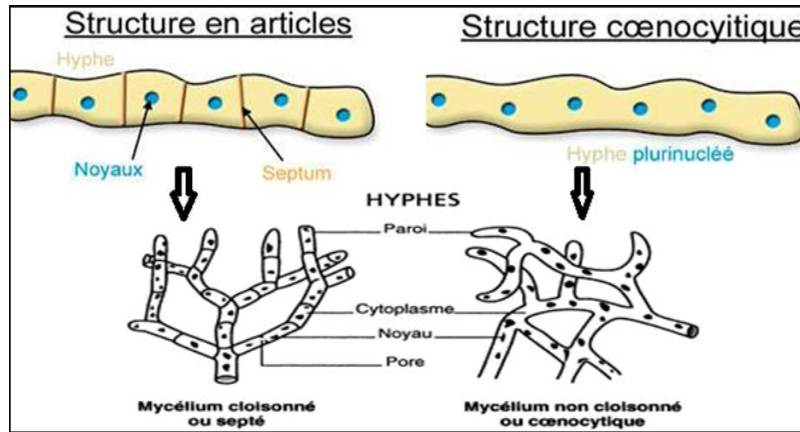
VI.1. Caractéristiques générales : Les mycètes se caractérisent par les critères suivants :

- **Eucaryotes** (les chromosomes sont enfermés dans un noyau).
 - **Hétérotrophes** vis-à-vis du carbone : incapables d'utiliser l'énergie solaire, ils utilisent de nombreuses molécules carbonées fabriquées par d'autres êtres vivants.
 - **Absorbotrophes** : Leur mode de nutrition se fait par absorption en libérant dans un premier temps des enzymes hydrolytiques dans le milieu extérieur.
 - Ils sont (**chimioorganohétérotrophes**), c'est à dire qu'ils utilisent la matière organique comme source d'énergie d'électrons et de carbone.
 - Leur appareil végétatif (**thalle**) est **ramifié** et **tubulaire** ; il est constitué de filaments fins enchevêtrés, appelés **hyphes**, à croissance apicale (elle se fait au niveau de l'apex des hyphes).
 - Tous les champignons vrais ont une paroi constituée de **chitine**, polysaccharide très résistant constitué de résidus N-acétylglucosamine ;
 - Leur premier polymère glucidique de réserve est le **glycogène** (polysaccharide)
- * les éléments végétatifs sont représentés par un mycélium **unicellulaire** de quelques **µm** (**levure**) et/ou **pluricellulaire** pouvant atteindre **plusieurs mètres** (« hyphe » ou **filament mycélien**) chez les **moisissures**.



Levure

Le plus souvent, les hyphes sont **cloisonnées** par des cloisons qui divisent le filament en segments (**articles**) similaires à des cellules comme chez les Ascomycètes, les Basidiomycètes et les Deutéromycètes. Par contre chez les oomycètes, les chytridiomycètes et les zygomycètes, les hyphes ne sont généralement pas cloisonnées (mycélium **siphonné ou coenocytique**) et les noyaux cohabitent dans le cytoplasme commun.



VI : Notion de base sur la virologie

La virologie est la science qui étudie les virus.

VI.1. Caractéristiques générales

-Un virus est une **particule infectieuse** très simple et de très **petite taille** (2 à 300 nm) qu'on ne peut observer qu'avec un **microscope électronique**. Il présente une structure particulière non cellulaire (acellulaire) par rapport aux autres êtres vivants.

-Il ne contient qu'un seul type d'acide nucléique, soit un ADN, soit un ARN porteur de l'information génétique, et de protéines virales.

-Les virus se multiplient obligatoirement en intracellulaire (**parasitent obligatoire**) et ne sont pas capables, par leurs propres moyens, de produire de l'énergie ou de synthétiser des protéines.

-La multiplication virale se produit dans les cellules infectées, par élaboration des différents constituants viraux puis assemblage de ces composants, formant ainsi un virus complet. La formation de nouveaux virus vient donc des capacités de synthèse de la cellule hôte, qui réalise le programme génétique inscrit dans le patrimoine du virus

-Sa **multiplication** est assurée par la **réplication de l'acide nucléique** au moment de l'infection.

-Les virus sont **spécifiques** des **cellules** et des organismes.

VI.1.2. Structure des virus : Toute particule virale est constituée d'au moins deux éléments constants et obligatoires :

A. Le génome : Comme tous les génomes ; le génome viral est composé d'acide nucléique qui se trouve au cœur de la particule virale, composé soit d'**ARN** ou d'**ADN**, il peut être circulaire ou linéaire, bicaténaire (double brin) ou monocaténaire (simple brin).

B. La capsid : La capsid est une structure protéique qui protège le génome viral dans le milieu externe. L'ensemble capsid et nucléoïde est nommée **nucléocapsid**. Selon la taille, la forme et la complexité de la capsid, il existe trois types de structure de capsid :

- ✓ **Symétrie hélicoïdale :** Ces virus sont de longs cylindres (300 à 400 nm), creux, (fréquente chez les virus des plantes).
- ✓ **Symétrie cubique (forme d'un icosaèdre) :** La capsid icosaédrique entraîne une apparence sphérique du virus. Plus fréquente chez les virus qui infectent les cellules animales.
- ✓ Il existe aussi une **structure complexe :** tête de synergie cubique et queue de synergie hélicoïdale. Cette structure est observée uniquement chez les bactériophages.

C. l'enveloppe : Les virus limités à leur nucléocapsid sont dits des **virus nus**. Dans certaines familles virales, la nucléocapsid est entourée d'une structure périphérique **facultative** appelée **l'enveloppe** (de nature **phospholipidique**), et les virus dans ce cas-là sont dits **virus enveloppés**.

