

Agents chimiques Désinfectants et Antiseptiques

Depuis longtemps on s'intéresse à l'antisepsie.

Fin du 18ème siècle, c'est un anglais, Pringle, qui a été le premier à classer les substances antiseptiques.

1774: découverte du chlore,

1789: Berthollet découvre l'eau de Javel,

1929: Lugol a travaillé sur la teinture d'iode.

Mais c'est Pasteur qui met en place un lien direct entre microorganismes et les maladies.

Entre les désinfectants et les antiseptiques, il y a tous les agents chimiques non-utilisables par voie générale du fait de leur forte toxicité et de leur action sélective vis-à-vis des cellules Procaryotes.

Désinfectant: s'applique à des substances qui peuvent détruire / éliminer des microorganismes au niveau des surfaces inertes (certains avec des propriétés particulières comme les détergents).

Antiseptique: même type d'action mais sur des tissus vivants.

1. Mécanismes d'action

Action brutale et non-spécifique. On ne cible pas de microorganismes particuliers.

• Oxydation et dénaturation des protéines

Ces réactions se font surtout au niveau des fonctions thiols (-SH) portées par les cystéines. Leur oxydation donne une altération irréversible de la protéine (car dénaturation tridimensionnelle et inactivation car Cys = sites actifs).

L'eau oxygénée provoque ces altérations (antiseptique) = acide peracétique (désinfectant).

L'acide peracétique permet d'agir sur le prion.

Il existe les dérivés du chlore, comme l'eau de Javel mais aussi l'alcool qui ne joue que sur la dénaturation.

• Altération des membranaires cytoplasmiques

Action due aux agents tensioactifs (TA). Ce sont des substances qui possèdent un pôle hydrophobe et hydrophile = molécule amphiphile = rôle de détergents.

Le pôle hydrophobe s'insère aux interfaces des salissures ce qui donne un effet nettoyant comme les savons.

Le pôle hydrophile s'insère dans les membranes ce qui détruit les structures par l'encombrement stérique.

A travers le pouvoir nettoyant, il y a création de mousses qui emprisonnent les microorganismes et qui sont évacués lorsque l'on évacue les mousses.

Savons:

Pouvoir émulsifiant, pour nettoyer.

Surfactant:

Contiennent: ammonium quaternaires + solutions tampon + complexateurs d'ions.

• Action sur le métabolisme

Certains agissent comme des poisons respiratoires.

Fluorure ou Cyanure qui agissent au niveau des mitochondries en dissociant les transferts d'électrons et la consommation d'O₂ par synthèse d'ATP. Ils détruisent le gradient de protons en les faisant traverser la membrane sans production d'ATP.

D'autres ont une action mutagène. On le retrouve notamment chez les colorant comme l'acridine. Ils se comportent comme des analogues des bases des nucléotides. Ils sont capables de s'insérer entre les bases, dans le double hélice ce qui entraîne une erreur lors de la transcription et de la réplication.

2. Classification des agents chimiques

On les classe selon leur mode d'emploi, leur spectre d'activité, leur action vav du prion, d'après leur degrés d'atteinte sur les microorganismes (statique ou side). Enfin on les classe aussi selon la famille chimique des antiseptiques et désinfectants.

3. Présentation de quelques groupes de désinfectants et d'antiseptiques

• Composés chlorés

Ils appartiennent aux groupes des oxydants (H_2O_2 , Ozone, dérivés à la base d' I_2).

Chlore:

Antiseptique / désinfectant le plus commun. Utiliser notamment pour désinfecter les eaux de boissons et les eaux de piscines. Il peut être utilisé sous différentes formes:

Cl_2 : gaz, produit dangereux, manipulation délicate.

Hypochlorite de Calcium, Hypochlorite de Sodium = eau de Javel ($NaClO$), Dioxyde de Chlore (ClO_2), chloramines.

Leurs pouvoir désinfectant est fonction du chlore qu'ils dégagent = degrés chlorométrique de Gay Lussac = au nombre de litres de chlore gazeux qu'un litre de solution ou d'extrait est capable de dégager en présence d'un acide dans des conditions normales de température et de pression.

Ex: extrait de Javel : 48° chlorométrique, car qu'un litre d'extrait donne 48L de gaz.

L'eau de Javel doit être titré au minimum à 12°.

Pour un désinfectant de surface, il faut l'eau de javel à 1,2° chlorométrique, une action de 15min.

Tous ces dérivés agissent de la mm manière en produisant de l'acide hyperchloreux ($ClOH$) et de l' O_2 : c'est ces deux oxydants combinés qui vont détruire les microorganismes avec des activités bactéricides.

Les microorganismes les plus résistants ici sont les formes sporulées.

A un $pH < 5$, les dérivés chlorés sont inactifs.

Une eau trop dure inhibe l'action des dérivés chlorés.

Toxicité : il existe une incompatibilité avec d'autres substances.

• Ammonium Quaternaires

Ce sont des composés bipolaires, hydrosolubles. Généralement ce sont des composés cationiques qui sont utilisés, ce qui donne un bon pouvoir d'absorption sur les surfaces (car les surfaces sont chargées négativement). Souvent on les mélange car ils peuvent favoriser l'action de d'autres substances ainsi que leur conservation.

Les ammonium quaternaires seuls ont plusieurs méacnismes d'action:

- rôle de désorganisation sur les parois,
- dénaturation des protéines,
- inactivation des Enzymes (respiration et glycolyse notamment).

Ils sont surtout actifs à pH neutre ou alcalin, il sont inhiber en milieu organique et par les cotons.

• Alcools

Dénaturation des protéines.

La présence d'eau augmente l'activité des alcool (+ 70%). Action bactéricide, large spectre (toutes les bactéries et les mycobactéries), virucide et fongicide.

Pour ce qui est de l'antiseptie, son rôle est limité car cela est toxique et irritant.

4. Méthodes d'étude de l'activité antimicrobienne des antiseptiques et des désinfectants

On attend une action létale sur le court terme. Il y a donc des méthodes d'actions particulières.

• Méthode d'étude de l'activité de base

Il existe deux étapes:

- mise en contact de différentes solutions avec des produits dans conditions standardisées,
- numération des microorganismes survivants, qui ne doit pas être faussée par une action résiduelle qui doit être stoppée.

Pour cela: il faut faire une dilution du mélange produit + bactéries dans un grand volume de milieu de culture, passer sur une filtration sur membrane et laver la membrane, enfin appliquer le procédé de neutralisation, cad à la fin du Δt on rajoute des substances qui neutralisent l'action du produit à tester (cela nécessite donc des témoins de neutralisation). Neutralisant les plus communs: lécithine ou jaune d'œuf; Tween.

• Méthode d'étude de l'activité dans les conditions d'utilisations

In vitro:

On ajoute des substances interférentes. Il s'agit du même test au quel on ajoute des substances protéiques (ex: extraits de levures, eau dure, milieu acide/alcalin, ...).

« Test de capacité »: introduire des microorganismes à Δt réguliers dans un milieu qui contient l'antiseptique ou le désinfectant. On fait également des prélèvements réguliers pour étudier la capacité de l'agent chimique à détruire les microbes.

« Méthode du porte-germe »: petits fragments de matériaux qui sont contaminés volontairement par des microorganismes. On ajoute le désinfectant sur la surface, puis on effectue des lavages, enfin le « porte-germe » est enfin transféré dans un milieu de culture pour un dénombrement.

« Essais de suspension »: cela consiste à tester un grand nombre de souches différentes avec des conditions de concentration et des Δt différentes pour bien déterminer le spectre d'activité de la substance test.

In vivo:

Toutes ces méthodes reposent sur le fait que l'on étudie la population bactérienne avant et après l'application du produit à tester. Il existe donc des méthodes de prélèvement pour dénombrer différemment:

- prélèvement par biopsie (on prélève de la peau saine généralement),
- méthode par impression,
- méthode par écouvillonnage,
- méthode par lavages.

Les antiseptiques les plus efficaces in vivo feront baisser la population de 5 log contrairement à 1 ou 2 log in vitro.

Cependant il faut que la flore transitoire soit absolument détruite (ce qui est différent de la flore résidente qui est juste abaissée).