

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة عمار ثليجي بالاغواط

UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم

FACULTE DES SCIENCES

قسم البيولوجيا

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



*En vue de l'obtention de diplôme de master*

*Filière : Sciences Biologiques*

*Option : Microbiologie environnementale et Infectieuse*

**THEME**

**Impact des microondes sur la survie de quelques souches  
bactérienne de référence**

Présentée par :

Blemadani walid.

Baroud khaled.

Devant le jury :

Président : Boukerouis djoudi.

Rapporteur : Krantar Kamel.

Examineur : Gacem Mohamed Amine.

**Soutenu publiquement le : 20 Mai 2017**

# DÉDICACE

*Au nom de dieu le miséricordieux, par essence et par excellence.*

*« Je remercie mon dieu pour tout absolument tout. »*

*Je dédie ce travail :*

*A ma très chère et tendre mère, et à mon cher père, qui ont sacrifiés leur vie pour moi, et qui ont été mon repère.*

*Merci pour leur amour, affection et patience.*

*A mes chères enfants Khadidja et mohamed.*

*A mes chers frères Abdenour, Taki-eddin, Abdelkados  
et ma chère sœur.*

*A toute la famille.*

*A toutes mes amis.*

*A tous mes collègues de ma promotion surtout mon binôme*

*Khalesd qui partage avec moi la difficulté de ce travail.*

*is ceux qui me connut.*

*Belmadani Wasid*



# DÉDICACE

*Au nom de dieu le miséricordieux, par essence et par excellence.*

*« Je remercie mon dieu pour tout absolument tout. »*

*Je dédie ce travail :*

*A ma très chère et tendre mère, et à mon cher père, qui ont sacrifiés leur vie pour moi, et qui ont été mon repère.*

*Merci pour leur amour, affection et patience.*

*A ma chère épouse.*

*A mes chères enfants.*

*A mes chers frères et sœur.*

*A toute la famille.*

*A toutes mes amis.*

*A tous mes collègues de ma promotion surtout mon binôme*

*Walid qui partage avec moi la difficulté de ce travail.*

*A tous ceux qui me connut.*



*Baroud Khaled*

# REMERCIEMENT

*Nous remercions Dieu le miséricordieux de nous avoir donnés  
la santé, la volonté et la force d'atteindre notre but.*

*Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements et profondes  
gratitude à notre encadreur M. Krantar Kamel pour nous  
avoir dirigés avec souplesse et compréhension pour mener à terme  
ce modeste travail.*

*Nous remercions tous les membres de jury pour avoir accepté  
d'examiner ce travail.*

*Nous adressons également nous plus sincères remerciements à  
tous les enseignants qui nous ont accompagnés tout le long de  
notre parcours universitaire.*

*Nous remercions énormément et M. Boudjemaa, Badereddine  
ingénieur de laboratoire des analyses médicales à l'établissement  
EPH pour nous avoir aidés dans notre travail.*

*Nous n'oublions pas de remercier le personnel du laboratoire de  
département de biologie qui nous a facilité notre travail.*

*Nos sincères remerciements à tous ceux qui ont contribué de près  
ou de loin à la réalisation ce travail*

*Walid et Khaled*

## Impact des microondes sur la survie de quelques souches bactérienne de référence.

### Résumé

Dans un contexte global de sécurité alimentaire, associé à une recherche de nouveaux procédés d'amélioration de la qualité, de prolongement de la fraîcheur, mais aussi de volonté de diminution des pertes post-récoltes, le présent projet a pour but de combiner les effets antimicrobiennes des microondes. Des bactéries Gram négatif (*Escherichia coli* ATCC 25922), Gram positif (*Micrococcus luteus* ATCC 4698, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 et *Staphylococcus aureus* ATCC 43300) ont été soumises à deux temps de traitement (2 minutes et 5 minute) et deux puissance de four microonde (moyenne 350 W et faible 90 W). Les résultats obtenus montrent que les souches bactériennes sont sensibles à la microonde à partir de 5 minutes de traitement pour une puissance moyenne, et une résistance remarquable présentée par quelques souches bactériennes notamment *Bacillus subtilis* et *Micrococcus luteus* pour faible puissance de four microonde pendant 5 minute. On conclut que l'action bactéricide des microondes est très importante par apport à l'effet de la chaleur (bain marie).

**Mots clé :** Micro-onde, Bain marie, Stérilisation, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

## Impact of microwaves on the survival of some bacterial reference strains.

### Summary

In à global context of food safety, coupled with a search for new methods to improve quality, prolong freshness, and also reduce post-harvest losses, the aim of this project is to combine the effects Antimicrobial microwaves. Gram-negative (*Escherichia coli* ATCC 25922), Gram-positive (*Micrococcus luteus* ATCC 4698, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 and *Staphylococcus aureus* 43300) bacteria were subjected to two treatment times (2 minutes and 5 minutes) and two microwave oven power (medium 350 W and low 90 W). The results obtained show that the bacterial strains are sensitive to the microwave from 5 minutes of treatment for an average power, and a remarkable resistance presented by some bacterial strain including bacillus subtilis and micrococcus aureus for low microwave oven power for 5 minutes. It is concluded that the bactericidal action of microwaves is very important, By contribution to the effect of heat (bain marie).

**Key words:** Microwave, Bain marie, Sterilization, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

تأثير الميكروويف على بقاء بعض مراجع السلالات البكتيرية.

### ملخص

في السياق العالمي للأمن الغذائي، إلى جانب البحث عن عمليات جديدة لتحسين النوعية، و ابقاءها طازجة لمدة أطول، و للتقليل خسائر ما بعد الحصاد، ويهدف هذا المشروع إلى اظهار تأثير أفران ميكروويف المضادة للميكروبات و هي : البكتيريا سالبة الغرام (*Escherichia coli* ATCC 25922)، و بكتيريا ايجابية الغرام (*Bacillus subtilis*, ATCC 6633) و التي عالجنها بفترة زمنية (2 دقيقة و 5 دقائق) و بقوتين مختلفتين (متوسطة 350 واط ومنخفضة 90 واط). و أظهرت النتائج النتائج أن السلالات البكتيرية حساسة لأشعة الميكروويف لمدة 5 دقائق لعلاج بقوة متوسطة لمدة 5 دقائق وخلصت الدراسة إلى أن أشعة الميكروويف لها تأثير كبير جدا في اباداة أنواع البكتيريا المدروسة و هذا مقارنة مع تأثير الحمام المائي.

**كلمات المفتاح :** الميكروويف، الحمام المائي، التعقيم.

*Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

## Liste des abréviations

**ATP** : Adénosine tri phosphate

**ADN** : Acide desoxy ribonucleique

**ARN** : Acide ribonucleique

**BEMS** : The bioelectromagnetics society

**C** : Cytosine

**DCS** : Digitale Communication System

**EBEA** : European bioelectromagnetics Association

**ENS** : Ecole normale supérieure

**FGF** : Forschungs Gemeinschaft Funk

**G** : Guanine

**GSM** : Global System for mobile communications

**HSP** : Heat Shock Protéine

**Kda** : Killo dalton

**LPS** : Lipo-polysaccharide

**MIT** : Massachusetts Institute of Technology

**ml** : Millilitre

**NAG** : N-acétyl glucosamine

**NAM** : N-acétyl muramique

**PCA** : Plat count Agar

**UMTS** : Universal Mobile Telecommunication System

**UFC** : Unité formant colonie

**V** : Volt

**W** : Watt

# Table des matières

-Résumé	
-Abstract	
-ملخص	
- Liste des abréviations	
-Liste des tableaux	
-Liste des figures	
-Introduction.....	01
<b><u>-Partie Bibliographique</u></b>	
Chapitre I : Généralité sur les micro-organismes.....	02
I.1. Les bactéries.....	03
I.1.1. Bactéries Gram négatif.....	03
I.1.1.1.Escherichia coli.....	05
I.1.2.Bactéries Gram positif.....	06
I.1.2.1. <i>Bacillis subtilis</i> .....	08
I.1.2.2. <i>Micrococcus luteus</i> .....	10
I.1.2.3. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	11
I.2- Méthodes de décontaminations classiques.....	12
Chapitre II : Généralité sur les ondes électromagnétique et la décontamination bactérienne.....	14
II.1- Généralité sur les micro-ondes.....	14
II.1.1- Un peu d'histoire.....	14
II.1.2- Bandes de fréquences et application.....	15
II.2- Interaction micro-ondes et systèmes biologiques.....	17
II.2.1- Paramètres importants.....	17
II.2.2- Puissance et mode d'exposition.....	17
II.2.3- Caractéristiques du matériau exposées.....	17
II.2.4- Existence d'un phénomène non thermique.....	18
II.3- Micro-ondes et microorganismes.....	19
II.3.1 Les interactions à 2,45 GHz.....	19
II.3.1.1- Effet globale.....	19
II.3.1.2- Effet sur la membrane cellulaire.....	20
II.3.1.3- Effet génotoxique.....	21
II.3.1.4- Induction des protéines du choc thermique.....	22
II.3.2- Interactions à des fréquences supérieures : les ondes millimétriques.....	24

## **-Partie Expérimentale**

<b>Chapitre III : Matériels et méthodes.....</b>	<b>25</b>
<b>III.1- Objectifs de l'étude.....</b>	<b>25</b>
<b>III.2- Lieu de travail.....</b>	<b>25</b>
<b>III.3- Matériels biologiques.....</b>	<b>25</b>
<b>III.3.1 Les bactéries.....</b>	<b>25</b>
<b>III.4- Principe de travail.....</b>	<b>25</b>
<b>III.4.1- Description de four micro-onde Black decker.....</b>	<b>26</b>
<b>III.5- Méthodes.....</b>	<b>26</b>
<b>III.5.1- four black decker my 2000p.....</b>	<b>26</b>
<b>III.5.2- Tests sur les souches bactériennes : protocole expérimentale.....</b>	<b>27</b>
<b>Chapitre IV : Résultats et discussion.....</b>	<b>28</b>
<b>IV.1. Résultats de l'impact des rayons de four microonde sur les microorganismes.....</b>	<b>28</b>
<b>IV.1.1- Tests sur les souches bactériennes.....</b>	<b>28</b>
<b>IV.1.1.1- L'effet de four microonde sur <i>Escherichia coli</i>.....</b>	<b>28</b>
<b>IV.1.1.2- L'effet de four microonde sur <i>Micrococcus luteus</i>.....</b>	<b>29</b>
<b>IV.1.1.3- L'effet de four microonde sur <i>Bacillus subtilis</i>.....</b>	<b>30</b>
<b>IV.1.1.4- L'effet de four microonde sur <i>Staphylococcus aureus</i>.....</b>	<b>31</b>
<b>IV.1.1.5- Comparaison entre l'effet de four microonde et l'effet de la chaleur.....</b>	<b>32</b>
<b>IV.2. Discussion des résultats.....</b>	<b>33</b>
<b>-Conclusion</b>	<b>35</b>
<b>-Références bibliographiques</b>	

# *Liste des tableaux*

<b>Tableaux</b>	<b>N° de page</b>
<b>Tableau 01-</b> Microbe dans un corps humain sain .....	<b>02</b>
<b>Tableau 02-</b> Taxonomie d' <i>Escherichia coli</i> .....	<b>06</b>
<b>Tableau 03-</b> Taxonomie de <i>Bacillus subtil</i> .....	<b>09</b>
<b>Tableau 04-</b> Taxonomie de <i>Micrococcus luteus</i> .....	<b>10</b>
<b>Tableau 05-</b> Taxonomie de <i>S.aureus</i> .....	<b>12</b>
<b>Tableau 06-</b> Exemples de fréquences micro-ondes allouées .....	<b>15</b>
<b>Tableau 07-</b> Les souches bactériennes utilisées dans ce travail.....	<b>26</b>
<b>Tableau 08-</b> Présente les caractéristiques de four microonde Black decker <b>My2000P</b> ...	<b>26</b>

# Liste des figures

Figures	N° de page
<b>Fig.01</b> - Schéma de la paroi des bactéries à Gram négatif .....	<b>04</b>
<b>Fig.02</b> - Photo d' <i>Escherichia coli</i> .....	<b>05</b>
<b>Fig.03</b> - Photo d' <i>Escherichia coli</i> gram négatif (prise avec un microscope optique et magnifié 400 fois) montre la couleur rouge de bactéries lorsqu'elles sont colorées en utilisant la technique de coloration de Gram .....	<b>05</b>
<b>Fig.04</b> -Schéma de la paroi des bactéries à Gram positif .....	<b>07</b>
<b>Fig.05</b> - Photos de <i>Bacillus subtilis</i> .....	<b>08</b>
<b>Fig.06</b> - Photo de <i>Bacillus subtilis</i> gram positif (microscope optique, objectif x100) Après coloration de <b>Gram</b> .....	<b>08</b>
<b>Fig.07</b> - Photos de <i>Micrococcus luteus</i> .....	<b>10</b>
<b>Fig.08</b> - Photo de <i>Micrococcus luteus</i> gram positif (microscope optique, objectif x100) après coloration de Gram .....	<b>10</b>
<b>Fig.09</b> - Photos de <i>S.aureus</i> .....	<b>11</b>
<b>Fig.10</b> - Photo de <i>S.aureus</i> gram positif (microscope optique, objectif x100) après coloration de Gram.....	<b>11</b>
<b>Fig.11</b> : Le spectre électromagnétique divisé en bandes, par décades de fréquences (F : frequency, L : low, E : extremely, V : very, M : medium, H : high, U : ultra, S : super) .....	<b>16</b>
<b>Fig.12</b> : Comparaison d'une cellule et d'un condensateur en termes de comportement électrique .....	<b>20</b>
<b>Fig.13</b> : Hypothèse du mécanisme des champs électromagnétiques basses fréquences .....	<b>23</b>
<b>Fig.14</b> – Photo présente four microonde Black decker My2000p.....	<b>26</b>
<b>Fig.15</b> - Schéma résumant le protocole expérimental pour les souches bactériennes.....	<b>27</b>

<b>Fig.16</b> -Représentation graphique des résultats en pourcentages d'inhibition de la souche <i>Echirichia Coli</i> après l'exposition au four microonde avec deux puissances (2 minute, 5 minute).....	<b>28</b>
<b>Fig.17</b> -Représentation graphique des résultats en pourcentages d'inhibition de la souche <i>Micrococcus luteus</i> après l'exposition au four microonde avec deux puissances (2 minute, 5 minute).....	<b>29</b>
<b>Fig.18</b> -Représentation graphique des résultats en pourcentages d'inhibition de la souche <i>Bacillus Subtilis</i> après l'exposition au four microonde avec deux puissances (2 minute, 5 minute).....	<b>30</b>
<b>Fig.19</b> -Représentation graphique des résultats en pourcentages d'inhibition de la souche <i>Staphylococcus Aureus</i> après l'exposition au four microonde avec deux puissances (2 minute, 5 minute).....	<b>31</b>
<b>Fig.20</b> -Représentation graphique des résultats en pourcentages d'inhibition de 4 souches bactérienne après l'exposition au four microonde à puissance moyenne pendant 5 minutes, et au bain marie avec une température de <b>80C°</b> pendant 5 minute.....	<b>32</b>

# **-Introduction**

## Introduction

Depuis la découverte et la maîtrise de l'électricité, l'Homme n'a eu de cesse de mettre à profit les champs électromagnétiques. Actuellement, les applications qui en sont faites sont omniprésentes et notre environnement s'en trouve constamment modifié (**Vergne, 2000**).

Les systèmes vivants sont donc aujourd'hui soumis à un foisonnement de rayonnements artificiels utilisés pour améliorer notre confort (les ultraviolets utilisés en cosmétologie, les infrarouges pour le chauffage ou la commande à distance, le four micro-onde, les lignes de transport de courant haute tension), notre santé (radiothérapie, Imagerie par Résonance Magnétique, Rayons X) et pour faciliter nos communications (radio, télévision, téléphones mobiles) (**Rougier et carol, 2003**).

Face aux questions sur d'éventuels effets sanitaires des ondes électromagnétiques, des chercheurs groupés au sein d'associations internationales (**European BioElectromagnetics Association -EBEA-**, **the BioElectroMagnetics Society -BEMS-**) européenne (COST), nationales (**Elettra 2000 pour l'Italie, ForschungsGemeinschaft Funk -FGF- pour l'Allemagne**) ou de centres privés (EDF, CNET) réalisent de nombreuses études pour apporter des éléments de réponse. (**Rougier et carol, 2003**).

Le travail présenté ici s'inscrit dans la démarche scientifique actuelle qui consiste à mieux connaître les mécanismes d'action (**si action il y a**) des micro-ondes sur la plus petite entité vivante, à savoir la cellule. Le choix des paramètres étudiés a été en fonction des compétences disponibles au laboratoire. Dans ce cadre, une étude concernant d'une part les effets des fours micro-ondes à des puissances plus importantes et d'autre part leurs interactions avec les bactéries gram<sup>+</sup> et gram<sup>-</sup> (**Rougier et carol, 2003**).

Ce manuscrit s'articule sur deux grands axes :

Le premier consiste en une synthèse bibliographique divisée à son tour en deux chapitres :

Le premier constitue une généralité sur les micro-organismes et nous rappelons les connaissances sur les espèces microbiennes : bactéries (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Micrococcus luteus* ATCC 4698, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 et *Staphylococcus aureus* ATCC 43300).

Le deuxième constitue un aperçu général sur les microondes et leur effet sur les micro-organismes.

Le second axe est consacré à notre expérimentation personnelle dans laquelle nous répondrons à l'objectif cité précédemment. Tout en s'appuyant sur :

Les essais ont été conduits en mesurant l'effet antibactérienne des fours microondes sur les souches cibles pendant différents temps d'exposition et par différentes puissances dans différents milieux ( lait **UHT** , bouillon nutritif ).

Les résultats obtenus seront discutés ensuite et une conclusion générale achèvera notre étude.

# **-Partie bibliographique**

## **Chapitre I – Généralité sur les microorganismes**

# Chapitre I : Généralité sur les microorganismes

## I- Généralité sur les micro-organismes :

Les micro-organismes aussi appelés microbes et protistes, forment un ensemble d'organismes vivants microscopiques, invisibles à l'œil nu. C'est leur seul point commun, car ils diffèrent et varient par leur morphologie, leur physiologie, leur mode de reproduction et leur écologie. Les protistes se composent: bactéries, des protozoaires, des champignons (**Mycètes**) microscopique, et des algues. Les virus sont considérés comme des microorganismes non vivants, acellulaires, puisqu'ils ne peuvent accomplir aucune activité vitale avec autonomie (**Bergan, 1984**).

Avant la découverte de micro-organismes, les êtres vivants connus n'étaient classés qu'en deux catégories : les végétaux et les animaux ; nul ne soupçonnait l'existence de catégorie intermédiaire. Au cours du **XIX** siècle, il devient évident que les micro-organismes alliaient, dans toutes les combinaisons possibles, des propriétés végétales et animales. Il est généralement admis aujourd'hui qu'ils ont évolué, sans grand changement, à partir d'ancêtres communs aux deux espèces (**Levine, 1973**). Les micro-organismes sont différents et leur classification a toujours été un défi pour les taxinomistes (**Bergan, 1984**). Les micro-organismes sont généralement divisés en cinq majeure catégories taxonomiques : les algues, les bactéries, les champignons, les protistes et des virus (**Bergan, 1984**). Les micro-organismes jouent un rôle important dans les processus environnementaux. Certains de leurs rôles sont très bien connus et élaborés. Par exemple, le rôle des microbes dans les cycles biogéochimiques des éléments et de la matière, la fertilité du sol, y compris la décomposition de la matière organique et la fixation de l'azote. Applications industrielles des microbes dans la médecine, la nourriture, la production des acides, des vitamines, de l'alcool, également dans la brasserie et de la cuisson. Dans ces domaines de nouvelles technologies sont développées et de nouvelles souches de microbes concernés sont développées par les bio-technologistes microbiennes pour augmenter la production industrielle de produits chimiques (**Levine, 1973**).

**Tableau 01.** Microbe dans un corps humain sain (**Mainil et al., 1999**)

Oreille (externe) <i>Aspergillus</i> (champignon)	
Peau	<i>Candida</i> (champignon)
Intestin grêle	<i>Clostridium</i>
Intestin	<i>Escherichia coli</i>
Vagin	<i>Gardnerella vaginalis</i>
Estomac	<i>Lactobacillus</i>
Urètre	<i>Mycobacterium</i>
Nez	<i>Staphylococcus aureus</i>
Yeux	<i>Staphylococcus epidermis</i>
Bouche	<i>Streptococcus salivarius</i>
Gros intestin	<i>Trichomonas hominis</i> (protozoaire)

# Chapitre I : Généralité sur les microorganismes

---

Les micro-organismes sont présents dans le tractus digestif de l'homme et des animaux, un grand nombre d'entre eux est en relation symbiotique avec l'hôte et participe au fonctionnement normal des processus digestifs, cette flore est très abondante : elle représente en moyenne pour un homme  $10^{14}$  cellules (alors qu'un homme est constitué de  $10^{13}$  cellules) (Mainil et al., 1999).

Ils peuvent également contribuer aux maladies chroniques et ils sont maintenant liés aux maladies comme celle à l'artère coronaire, le diabète, certains types de cancer, la sclérose en plaque et infection pulmonaire chronique. (Mainil et al., 1999).

## I.1- Les bactéries :

Les bactéries sont des êtres unicellulaires qui possèdent les éléments essentiels à la vie cellulaire. Leur taille varie de **1 à 10 microns ( $\mu\text{m}$ )**. Elles ne sont donc visibles qu'au microscope optique (**x103**) ou au microscope électronique (**x106**). Elles peuvent être désintégrées par divers procédés physiques et chimiques, ce qui permet d'étudier les constituants bactériens ainsi libérés (Mainil et al., 1999).

On peut classer les bactéries grâce à la coloration de gram, qui distingue deux types de bactéries: les bactéries à Gram positif et celles à Gram négatif. (Mainil et al., 1999).

### I.1.1- Bactéries Gram négatif :

Les bactéries à Gram négatif constituent une large catégorie de micro-organismes qui sont incapables de retenir une coloration de cristal violet en raison de la structure distincte de leur paroi cellulaire. Parmi ceux-ci, les entérobactéries de même que les bactéries non-fermentaires forment deux groupes largement responsables de plusieurs maladies infectieuses. Les bactéries regroupées dans la famille des *Enterobacteriaceae* se retrouvent principalement dans le sol, l'eau, et certaines (incluant *Citrobacter* sp., *Enterobacter* sp., *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp., *Proteus* sp. et *Serratiamarcescens*) sont des constituants naturels de la flore intestinale de l'homme. Ces micro-organismes sont d'importants pathogènes en milieux hospitaliers et communautaires. Ces derniers se propagent facilement entre humains par le biais des mains, de l'eau et de la nourriture contaminée de même que de sources environnementales. Les bactéries non-fermentaires sont également répandues dans l'environnement et sont responsables d'infections dites opportunistes (York et al., 2015).

#### a- Structure :

- Peptidoglycane < **15 %**

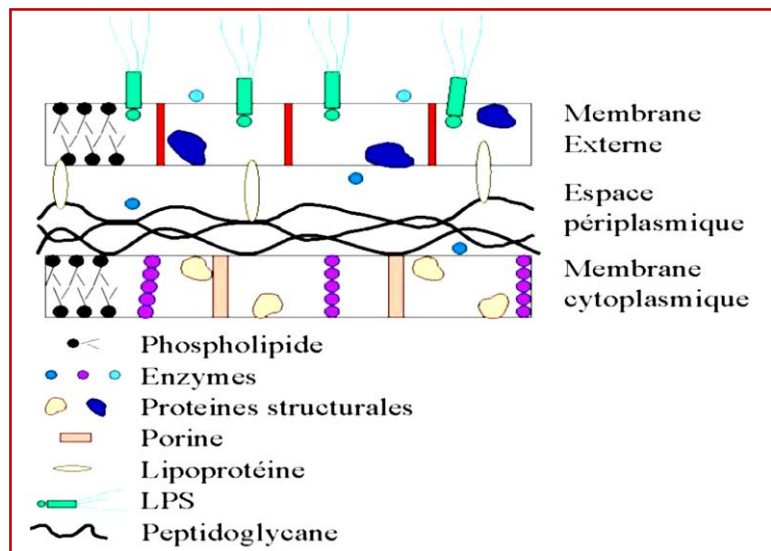
# Chapitre I : Généralité sur les microorganismes

- lipide complexe (A) (Il y a analogie entre les appellations «endotoxine», « **lipide A** » et «**membrane externe** »).
- Polysaccharides complexes (partie la plus externe de la paroi, **antigènes O**).
- Protéines (**Broes, 1993**).

Il n'y a qu'une seule ou au plus deux couches de peptidoglycane qui ne représente que **5 à 20%** des constituants de la paroi bactérienne. Mais **3** polymères situés en dehors du peptidoglycane viennent compléter la paroi : des lipoprotéines, une « **membrane externe** » qui contient du lipopolysaccharide. Les lipoprotéines sont le lien entre le peptidoglycane et la « **membrane externe** » : le composant protéine est un polymère de **15** acides aminés qui forme une liaison peptidique avec le tétra-peptide des chaînes latérales du peptidoglycane ; le composant lipide est relié à la « **membrane externe** ». (**Fairbrother, 1993**).

La « **membrane externe** » est constituée d'une double couche de phospholipides dans laquelle tout ou partie des phospholipides de la couche la plus externe sont remplacés par des molécules de lipopolysaccharide (**Fairbrother, 1993**).

Au sein de cette « **membrane externe** », qui est une mosaïque fluide, se trouvent associés au moins deux types de protéines spécifiques : certaines sont dites protéines de structure car elles consolident la membrane externe ; d'autres, appelées « porines » permettent le passage des petites molécules hydrophiles et en particulier, sur le plan médical, des antibiotiques ( **$\beta$ -lactamines, tétracyclines, quinolones...**). (**Fairbrother, 1993**).



**Fig. 01** - Schéma de la paroi des bactéries à Gram négatif (**Fairbrother, 1993**).

Sur le plan immunologique, le lipopolysaccharide constitue l'antigène O des bactéries à Gram négatif. Le **LPS** est un lipide complexe auquel est attaché un polysaccharide qui est responsable de la

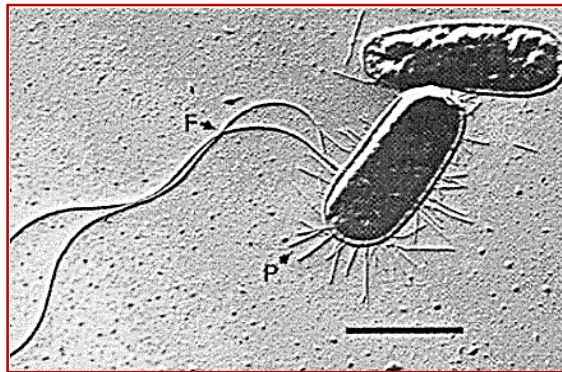
# Chapitre I : Généralité sur les microorganismes

spécificité antigénique de l'antigène O. Sur le plan physiopathologique, le **LPS**, extrêmement toxique, représente l'endotoxine des bactéries à Gram négatif (**Fairbrother, 1993**).

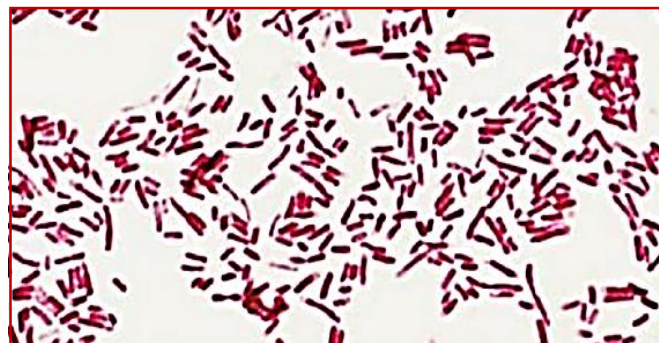
## I.1.1.1-Escherichia coli :

*Escherichia coli*, l'une des premières espèces bactériennes étudiées par les scientifiques a été isolée pour la première fois en **1885** dans les selles de nourrissons par le pédiatre allemand **Theodor Escherich** qui lui donna

Le nom de bacille **Bacterium coli** commune. En **1919**, pour rendre hommage aux travaux d'Escherich, Castellani et Chambers ont renommé la bactérie *Escherichia coli* (**Ghebru, 1988**). *Escherichia coli* (*E. coli*) est un bacille à Gram négatif appartenant à la classe des  **$\gamma$ -protéobactéries** et à la famille des *Enterobacteriaceae*. Il s'agit d'une bactérie anaérobie facultative fermentant le glucose et non sporulante. Le microbiote intestinal des animaux à sang chaud et des reptiles est son habitat primaire (**Fairbrother, 1993**).



**Fig. 02** - Photo d'*Escherichia coli* (**Ghebru, 1988**).



**Fig. 03** - Photo d'*Escherichia coli* gram négatif (prise avec un microscope optique et magnifié 400 fois) montre la couleur rouge de bactéries lorsqu'elles sont colorées en utilisant la technique de coloration de Gram (**Ghebru, 1988**).

# Chapitre I : Généralité sur les microorganismes

---

## a- Classification d'*Escherichia coli* :

Le genre *Escherichia* appartient à la famille des *Enterobacteriaceae* du fait de leur isolement fréquent du tube digestif de l'homme et /ou de fèces des mammifères. Les genres appartenant à cette famille sont des bacilles à gram négatif, ne possédant pas d'oxydase, aéro-anaérobies facultatifs et parfois mobiles grâce à une ciliature péritriche. Le genre *Escherichia coli* est constitué de **5** espèces : *E. coli* ; *E. blattae* ; *E. fergusonii* ; *E. hermannii* et *E. vulneris* (Ghebru, 1988).

**Tableau 02** –Taxonomie d'*Escherichia coli* (Gyles, 2007).

Règne	Bactérie
<b>Embranchement</b>	Gamma Proteobacteria
<b>Classe</b>	Gamma Proteobacteria
<b>Ordre</b>	Enterobacteriales
<b>Famille</b>	Enterobacteriaceae
<b>Genre</b>	<i>Escherichia</i>
<b>Espèces</b>	<i>E. coli</i> , <i>E. fergusonii</i> , <i>E. hermannii</i> , <i>E. vulneris</i> , <i>E. blattae</i>

## b- Pathogénicité d'*Escherichia coli* :

Certaines souches d'*E. coli* sont pathogènes pour l'homme. La classification médicale des *Escherichia coli* pathogènes distingue ainsi **6** groupes définis suivant les différents signes cliniques induits par une infection :

**a-** Les *E. coli* entérohémorragiques (**ECEH**).

**b-** Les *E. coli* entérotoxinogènes (**ECET**).

**c-** Les *E. coli* entéropathogènes (**ECEP**).

**d-** Les *E. coli* entéroinvasifs (**ECEI**).

**e-** Les *E. coli* entéroaggrégatifs (**ECEagg**).

**f-** Les *E. coli* d'adhésion diffuse (**ECDA**) (Farmer et al., 2002).

## I.1.2-Bactéries à Gram positif

Les bactéries gram positif sont des bactéries qui retiennent le cristal violet dans le procédé de coloration de Gram. En taxinomie bactériologique, bactéries enveloppées d'une membrane plasmique, doublée d'une épaisse paroi de peptidoglycane et dépourvues d'une membrane externe. Le caractère

# Chapitre I : Généralité sur les microorganismes

gram-positif est dû à l'épaisseur de la paroi et au taux de pontage élevé du peptidoglycane. Lorsque la paroi est trop mince pour que la coloration soit nettement positive, la bactérie est néanmoins classée comme gram-positif, si elle n'a pas de membrane externe (**Hanes, 2003**).

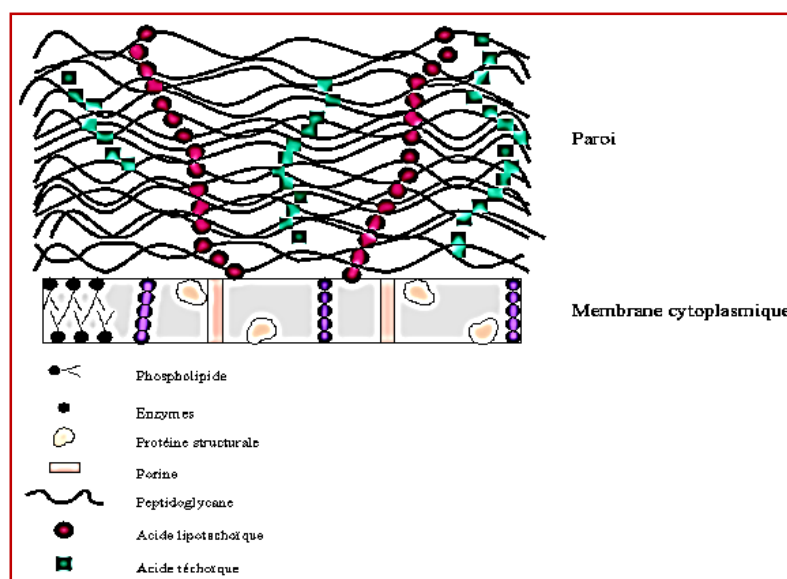
## a- Structure :

Les bactéries **Gram positif** ont (sauf exception) une structure uni-membranée qui s'organise en trois grandes parties (de l'extérieur vers l'intérieur) :

- La couche de peptidoglycane composant la paroi cellulaire
- L'espace périplasmique
- La membrane plasmique (**Heuvelink et al., 1999**)

La couche de peptidoglycane des bactéries à Gram positif est très épaisse contrairement à celle des bactéries à Gram négatif. Sa composition varie très légèrement en fonction du genre, voire de l'espèce, de la bactérie concernée. Elle est principalement formée de plusieurs couches de polymère de N-acétyl-glucosamine (**NAG**) et d'acide **N-acétylmuramique (NAM)** en série alternée. Le peptidoglycane des Gram positif est traversé latéralement par de grandes chaînes polymériques qui le relie à la membrane plasmique : les acides lipotéichoïques. D'autres chaînes, telles les acides **téichoïques**, sont contenus dans le peptidoglycane et assurent sa stabilité (**Hanes, 2003**).

L'espace périplasmique, beaucoup plus étroit que chez les Gram négatif, est un espace de stockage d'enzymes, de nutriments, de protéines, d'ions...etc. Il a beaucoup d'autres fonctions notamment dans certaines étapes de la synthèse de protéine et dans le métabolisme. Il se situe entre la couche de peptidoglycane et la membrane plasmique (**Heuvelink et al., 2002**).



**Fig. 04** -Schéma de la paroi des bactéries à Gram positif (**Hanes, 2003**).

# Chapitre I : Généralité sur les microorganismes

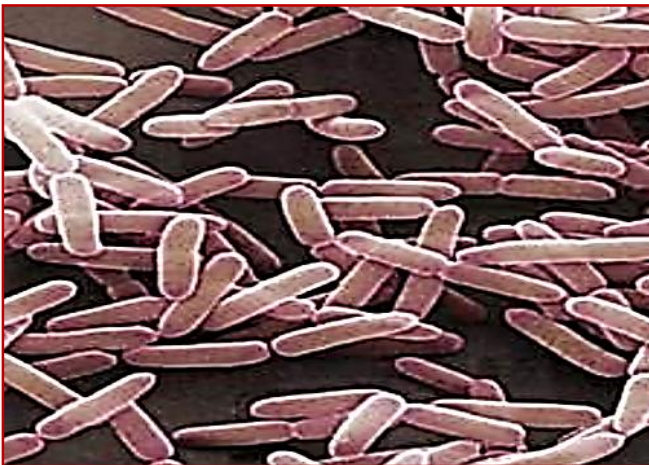
---

La membrane possède des protéines poreuses aboutissant dans l'espace périplasmique (synthèse de protéine). La membrane plasmique contient de nombreux autres complexes protéiques d'une importance vitale pour la bactérie (**comme l'ATP synthase**) qui ont des rôles prépondérants dans le métabolisme bactérien. (**Heuvelink et al., 2002**).

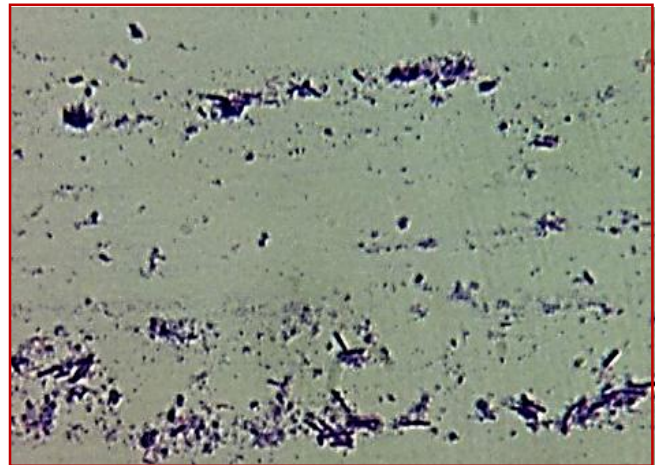
Les bactéries Gram positif sont pour la plupart des germes non exigeants, c'est-à-dire qu'ils se cultivent facilement dans les milieux de base. La plupart des coques sont des Grams positif mais de nombreux bacilles sont aussi des Gram positif. (**Heuvelink et al., 2002**).

## I.1.2.1- *Bacillus subtilis* :

*Bacillus subtilis* est une bactérie vivant dans le sol à des températures modérées (5°C-65°C). Dans sa niche écologique, elle doit souvent faire face à des stress et des carences en nutriments, ce qui l'a conduite à développer diverses stratégies afin de survivre en conditions défavorables. Elle est notamment capable de former des spores, qui lui permettent de survivre longtemps dans des conditions extrêmes telles que la dessiccation, la chaleur ou les radiations. Au cours de l'évolution, sa compétence naturelle lui a également conféré une capacité d'adaptation par recombinaison. A court terme, la bactérie est aussi capable d'affronter des situations telles que les stress osmotiques, oxydatifs, acides ou les chocs thermiques, en particulier grâce à des régulateurs globaux de réponse au stress (**Hanes, 2003**).



**Fig. 05** - Photos de *Bacillus subtilis* (**Heuvelink et al., 1999**).



**Fig. 06** - Photo de *Bacillus subtilis* gram positif (microscope optique, objectif x100)  
Après coloration de **Gram**

# Chapitre I : Généralité sur les microorganismes

---

## a- Classification de *Bacillus subtilis* :

*B. subtilis* fait partie des bactéries gram-positives à faible pourcentage en guanine et en cytosine (%GC) dans leur génome. Elle appartient au groupe des **Firmicutes** (ou **Bacillus/ Clostridium**) qui comporte trois classes : les **Bacilli** (comprenant les genres *Bacillus*, *Listeria*, *Enterococcus*, *Staphylococcus* et *Streptococcus*), les Clostridies les **Mollicutes** (Heuvelink et al., 2002).

**Tableau 03** -Taxonomie de *Bacillus subtilis*. (Hanes, 2003)

Règne	Bactérie
<b>Embranchement</b>	Firmicutes
<b>Classe</b>	Bacilli
<b>Ordre</b>	Bacillales
<b>Famille</b>	Bacillaceae
<b>Genre</b>	<i>Bacillus</i>
<b>Espèces</b>	<i>Bacillus subtilis</i>

# Chapitre I : Généralité sur les microorganismes

## I.1.2.2- *Micrococcus luteus* :

Le *Micrococcus luteus* est une bactérie Gram positif qu'on retrouve sur la peau, dans la bouche et les voies respiratoires supérieures des mammifères, y compris de l'homme. C'est l'espèce du genre *Micrococcus* la plus courante et elle peut persister jusqu'à deux ans et demi sur la peau humaine (Heuvelink et al., 2002).

Il ne s'agit pas d'une bactérie systématiquement pathogène mais elle peut le devenir chez les personnes immunodéprimées. Le *Micrococcus luteus* peut alors se rendre responsable d'abcès intracrâniens, de pneumonie, d'endocardite, d'arthrite septique ou encore de méningite (Hanes, 2003).



Fig. 07 - Photos de *Micrococcus luteus*.  
( Heuvelink., 1999 ).

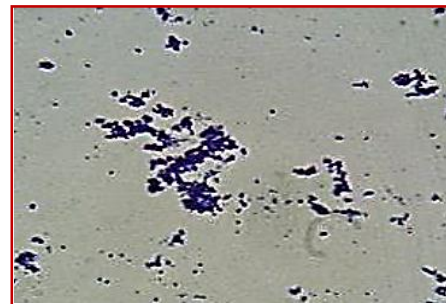


Fig. 08 - Photo de *Micrococcus luteus* gram positif  
(microscope optique, objectif x100) après coloration de Gram.  
(Heuvelink., 1999).

### a- classification de *Micrococcus luteus*

Tableau 04 -Taxonomie de *Micrococcus luteus* (Hanes, 2003)

Règne	Bactérie
Embranchement	Actinobacteria
Classe	Actinobacteria
Sous-classe	Actinobacteridae
Ordre	Actinomycetales
Sous-ordre	Micrococccineae
Famille	Micrococcaceae
Genre	<i>Micrococcus</i>
Espèce	<i>Micrococcus luteus</i>

# Chapitre I : Généralité sur les microorganismes

---

## b- Pathogénicité de *Micrococcus luteus* :

*Micrococcus luteus* n'est pas pathogène et est considéré comme un contaminant naturel, cette bactérie pourrait être un pathogène émergent engendrant des maladies nosocomiales chez des patients immunodéprimés. *M. luteus* est résistant à un potentiel hydrique réduit et peut tolérer la dessiccation et de fortes concentrations salines (Heuvelink et al., 1999).

### I.1.2.3-Staphylococcus aureus

Le staphylocoque doré (*Staphylococcus aureus*) est l'espèce la plus pathogène du genre *Staphylococcus*. Elle est responsable d'intoxications alimentaires, d'infections localisées suppurées et, dans certains cas extrêmes, d'infections potentiellement mortelles (**patient immunodéprimé, prothèses cardiaques**). *S. aureus* se présente comme une coque en amas (**grappes de raisin**), Gram positif et catalase positif. Sa teneur en caroténoïdes lui confère une couleur dorée à l'origine de son nom. ( Hanes., 2003 ).

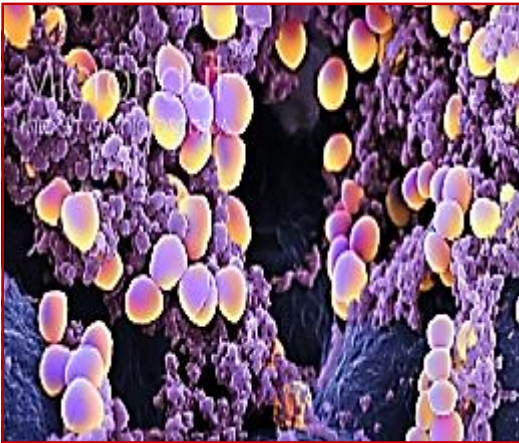


Fig. 09 - Photos de *S.aureus*  
(Heuvelink., 1999 )

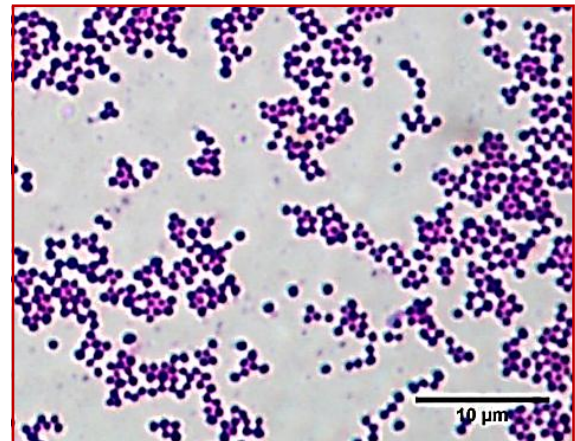


Fig. 10 - Photo de *S.aureus* après coloration  
de Gram (microscope optique, objectif x100). ( Heuvelink., 1999 )

## b- Classification de *S aureus*

Tableau 05 -Taxonomie de *S.aureus* (Hanes, 2003)

Règne	Bacterie
<b>Embranchement</b>	Firmicutes
<b>Classe</b>	Staphylocoque
<b>Ordre</b>	Bacillales
<b>Famille</b>	Staphylococcaceae
<b>Genre</b>	<i>Staphylococcus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Staphylococcus aureus</i>

### b- Pathogénicité de *Staphylococcus aureus* :

Son pouvoir pathogène résulte de plusieurs sécrétions particulières :

**a- des enzymes** : coagulase, fibrinolysine, phosphatase, hyaluronidase, désoxyribonucléase, protéase, qui, du fait des lésions qu'elles provoquent sur les barrières de l'organisme (**les tissus**), lui confèrent son pouvoir invasif ; (Hanes, 2003).

**b- des toxines** : Entérotoxines (**chez certaines souches**), staphylolysines et leucocidines lui confèrent son pouvoir toxique. Leur nombre et leurs types sont cependant inconstants, expliquant que certaines souches peuvent être peu pathogènes. (Hanes, 2003)

### I.3- Méthodes de décontaminations classiques :

La fin de tension alimentaire n'est pas uniquement le résultat de la croissance et de la diversification de la production agricole. Elle est le fruit de nouvelles découvertes qui permettent de conserver plus longtemps les denrées alimentaires. L'importance de ces innovations n'est pas à minimiser. L'économie traditionnelle était considérablement handicapée par le manque de moyens de stockage et de conservation des aliments. (Bourgeois, 1989).

Les fruits et les légumes se consommaient uniquement en saison et le bétail ne se conservait que salé... ou sur pied. Le blé était abondant jusqu'à la fin de l'hiver, mais il venait souvent à manquer en période soudure. Pour tous, le printemps correspondait à une période de pénurie, dramatique lorsque les récoltes de l'année antérieure avaient été mauvaises. Les nouveaux procédés permettent d'abord de transférer l'apport calorifique et vitaminique dans le temps, en atténuant considérablement les effets de

# Chapitre I : Généralité sur les microorganismes

---

la soudure. Ils apportent aussi une plus grande sécurité alimentaire, diminuant les risques de toxi-infection liés à la consommation d'aliments périmés. En améliorant les conditions de transport de ces produits, ils permettent enfin d'assurer des trafics plus soutenus, au bénéfice notamment des régions déficitaires (**Bourgeois, 1989**).

Entre **1803** et **1809**, les découvertes de Nicolas Appert sont à l'origine de nouvelles techniques de conservation des aliments par la chaleur, l'appertisation. Empiriquement, cet industriel met au point une méthode permettant de faire des conserves de lait et de légumes verts dans des bouteilles chauffées au bain-marie, puis plus tard à la vapeur. Cette technique se diffuse rapidement en Grande-Bretagne et aux Pays-Bas, d'abord pour la conservation du poisson et des fruits au sirop, en utilisant des boîtes de fer blanc soudées, bien plus pratiques à transporter. Les travaux de Nicolas Appert sont prolongés quelques années plus tard par son neveu. (**Bourgeois, 1989**).

Raymond Chevallier-Appert, qui invente l'autoclave en **1851**. Dès **1853**, l'Américain Winslow parvient à une stérilisation parfaite à haute température (environ **115°C**), ce qui permet un développement rapide de l'industrie de la conserve, notamment du « **cornedbeef** ». La découverte du monde microbien par **Louis Pasteur**, vers **1865**, apporte une explication scientifique à ces processus. Elle conduit à la mise au point d'un traitement thermique plus modéré, applicable aux laitages, à la bière ou aux fruits, la pasteurisation. (**Bourgeois, 1989**).

La conservation par le froid était connue bien plus anciennement puisqu'on en trouve des traces dans la Grèce antique. Jusqu'à la fin du **XIX<sup>e</sup>** siècle, le commerce de la glace est à l'origine de trafics à grandes distances, en particulier à partir de la Norvège. L'utilisation de la glace naturelle présente cependant des inconvénients comme le prix élevé, les impuretés ou les difficultés de transport. (**Buridant et al., 2007**).

Au **XVIII<sup>e</sup>** siècle, les travaux scientifiques avaient toutefois permis de constater que la détente d'un gaz produit un refroidissement. En **1857**, le Français Ferdinand Carré élabore un appareil frigorifique fonctionnant à l'éther sulfurique, suivi par celui de Charles Tellier, avec de l'éther méthylique (**1862**). La solution commercialisable est appliquée par la fière du précédent. Edmond Carré, à partir de l'acide sulfurique (**1866**). Mais cette technique permet surtout la réfrigération des boissons dans les cafés. En **1868**, Charles Tellier crée une machine à compression fonctionnant à l'ammoniac, qu'il installe sur un navire, le Frigorifique, qui assure en **1876** le premier transport de viande entre Rouen et Buenos Aires. Son rival. Ferdinand Carré, aménage un autre navire, le Paraguay, pour effectuer le chemin inverse (**Buridant et al., 2007**).

## **Chapitre II – Généralité sur les ondes électromagnétique et la décontamination bactérienne**

### II.1- GENERALITES SUR LES MICRO-ONDES

#### II.1.1- Un peu d'histoire

Le théoricien fondateur de l'électromagnétisme moderne, et par conséquent, des bases théoriques des micro-ondes est **James Clerck Maxwell** qui formula, dans les années **1860**, les célèbres équations qui portent son nom et qu'il publia en **1873** dans son *Traité sur l'électricité et le magnétisme*.  
(**Rougier et carol 2003**).

Une vingtaine d'années plus tard, en **1888**, Heinrich fut le premier à produire expérimentalement et à détecter des ondes électromagnétiques à une fréquence de l'ordre de **1 GHz**. **Lord Rayleigh**, pour sa part, démontra théoriquement, en **1897**, la possibilité de faire propager des ondes dans des tuyaux métalliques creux à section rectangulaire ou circulaire, que l'on a appelé guides d'ondes.  
(**Rougier et carol 2003**).

A la suite des travaux d'**Hertz**, la radioélectricité connut un développement important. Les expériences de **Marconi**, dans les années **1890**, montrèrent qu'il était possible d'établir une liaison entre deux points de la Terre par propagation d'ondes radioélectriques en espace libre. **Kennelly** et **Heavyside**, au début du **XXème** siècle, découvrirent les propriétés réfléchissantes, vis à vis d'ondes décimétriques, de certaines couches de l'ionosphère située à environ **100 km** d'altitude. Les radios ou télécommunications modernes (**la TSF, Télégraphie Sans Fil, comme on disait alors**) étaient nées,  
(**Rougier et carol 2003**)

Les ondes radioélectriques nécessaires pour ces liaisons de télécommunication étaient produites par des tubes électroniques inventés en **1907** par Lee de Forest. Pendant **50** ans, jusqu'à l'avènement des transistors et des dispositifs à l'état solide, ces tubes – triodes et tétrodes – furent universellement utilisés.  
(**Rougier et carol 2003**).

Des techniques radioélectriques nouvelles virent ensuite le jour. En **1920**, les premières émissions de radiodiffusion eurent lieu, notamment en France, depuis un émetteur situé à la Tour Eiffel, sous l'impulsion du général **Férrié**, qui transposa ainsi dans le domaine civil, les progrès effectués par l'électronique dans le domaine militaire pendant la Première Guerre Mondiale;(Rougier et carol 2003)

Dans les années **1930**, la mise au point du premier tube micro-ondes, le magnétron, et de la première antenne micro-onde, le réflecteur paraboloidal, permirent le développement d'un système spécifiquement micro-onde: le radar (**pour Radio Detection And Ranging**), (**Rougier et carol 2003**).

Des recherches importantes furent alors effectuées dans les grands pays industrialisés. Les équipes françaises obtinrent des résultats importants, concrétisés par l'implantation de radars à bord des navires, notamment en **1935**, à bord du paquebot Normandie. Les radars anglais, également très performants, permettaient dès **1939**, une surveillance efficace de l'espace aérien britannique ;(**Rougier et carol 2003**).

L'apport des Etats-Unis pendant la Seconde Guerre Mondiale fut considérable et les recherches du Massachusetts Institute of Technology (MIT) furent publiées en **1945** et **1950**, en une collection de **25** volumes qui servirent de bible aux étudiants et chercheurs en micro-ondes du monde entier. Dès lors, le développement des micro-ondes fut considérable et les applications, nombreuses et importantes, notamment pour le chauffage industriel et domestique (**four microonde**), la médecine (**hyperthermie micro-onde**), la radioastronomie, l'électronique. ( **Rougier et carol 2003** ).

### II.1.2- Bandes de fréquences et applications

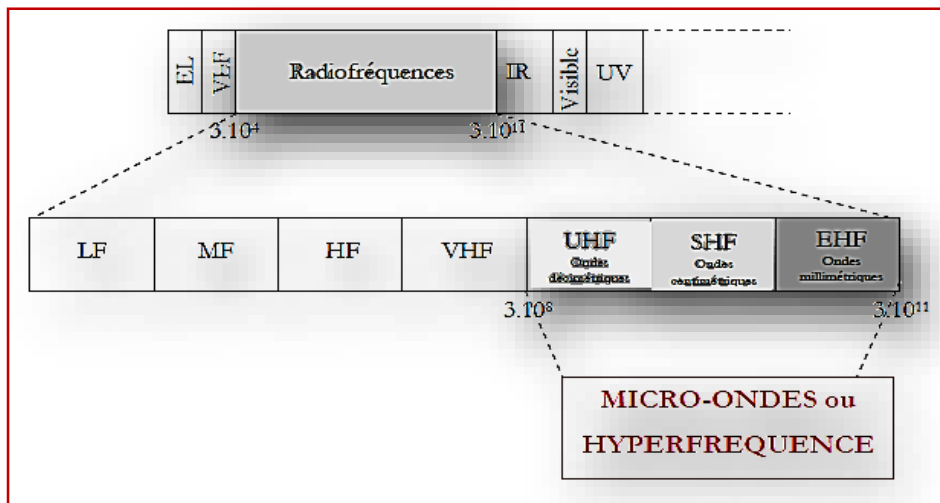
Les micro-ondes ou hyperfréquences sont des ondes électromagnétiques qui se situent dans la bande de fréquences comprises entre **30 MHz** et **300 GHz**, ce qui correspond à des longueurs d'onde ( $\lambda$ ) dans l'air ou dans le vide allant de **1 m** à **1 mm** (**Figure 2, Chapitre A**). ( **Thuery, 1989 a** )

Les micro-ondes sont donc des ondes décimétriques (**entre 300 MHz,  $\lambda = 10$  dm, et 3 GHz,  $\lambda = 1$  dm**), centimétriques (**entre 3 GHz,  $\lambda = 10$  cm, et 30 GHz,  $\lambda = 1$  cm**) et millimétriques (**entre 30 GHz,  $\lambda = 10$  mm, et 300 GHz,  $\lambda = 1$  mm**) (**Figure 5**).

Gestion des bandes hyperfréquences est réalisée par des organismes internationaux (**Thuery, 1989 a**). En effet, les micro-ondes sont utilisées pour de nombreuses applications industrielles, scientifiques et médicales. Il existe des fréquences allouées pour les différentes utilisations des micro-ondes (**Tableau 1**).

**Tableau 06 : Exemples de fréquences micro-ondes allouées** (GSM : Global System for Mobile communications, DCS : Digital Communication system, UMTS : Universal Mobile Telecommunications System). ( **Rougier et carol 2003** ).

Applications	Fréquence
<b>GSM 900</b>	890 - 915 MHz
	935 - 960 MHz
<b>DCS 1800</b>	1710 - 1785 MHz
	1805 - 1880 MHz
<b>UMTS</b>	1900 - 1980 MHz
	2010 - 2025 MHz
<b>Chauffage industrie</b>	2450 +/- 50 MHz
	5800 +/- 75 MHz



**Fig.11-** Le spectre électromagnétique divisé en bandes, par décades de fréquences  
(F : frequency, L : low, E : extremely, V : very, M : medium, H : high, U : ultra, S : super).

( Rougier et carol 2003 ).

Les micro-ondes sont utilisées dans le domaine du chauffage industriel à cause de leur capacité à induire une augmentation rapide de température. **Goldblith** a décrit le principe de chauffage des micro-ondes comme un phénomène résultant des molécules diélectriques dissymétriques qui tendent à s'aligner avec le champ électrique alternatif rapide. Dans le champ micro-onde, les molécules oscillent autour de leur axe en réponse à un champ électrique qui arrive toutes les **2450** millions de fois par seconde dans un four micro-onde par exemple. Cette oscillation crée des frictions intermoléculaires qui résultent en une génération de chaleur. (**Thuery, 1989 a**)

Les matériaux diélectriques, qui présentent un moment dipolaire important, comme les aliments ou l'eau sont dits « **à perte** ». Le taux de perte varie en fonction de la fréquence, de la température et la nature du matériau. L'augmentation de perte d'un matériau peut être directement reliée à une augmentation de l'absorption d'énergie micro-onde et, donc, à la production de chaleur; (**Thuery, 1989 a**)

Dans le domaine de l'agroalimentaire, le procédé le plus connu utilisant les propriétés de chauffage rapide des micro-ondes est le four micro-ondes. Le four micro-ondes permet de cuire aussi de décongeler des aliments. D'autres procédés utilisant le chauffage micro-ondes sont développés pour la décontamination de produits secs et de produits sous emballage. (**Thuery, 1989 a**)

Hormis l'industrie agroalimentaire, l'utilisation des micro-ondes se développe pour le traitement thermique des déchets, comme par exemple les déchets hospitaliers, en tant qu'alternative à l'incinération. (**Thuery, 1989 a**)

Les micro-ondes trouvent aussi de nombreuses applications dans le domaine des télécommunications. Dans ce cas, elles ne sont pas utilisées comme vecteur d'énergie mais comme ondes porteuses d'informations. Pour la téléphonie mobile par exemple, les champs électromagnétiques utilisés

s'étendent sur une plage de fréquences allant de **850 à 1900 MHz**. En France, il existe actuellement deux systèmes : le système **GSM 900** (**GSM : Global System for Mobile communication**) et le système **DCS 1800** (**Digital Cellular System**). La bande porteuse est **900 MHz (de 872 à 960 MHz)** pour le système **GSM 900** et la bande **1800 MHz (de 1710 à 1815 MHz)** pour le système **DCS 1800** (**Luc, 2002**). A l'intérieur de ces gammes de fréquences, les antennes relais attribuent à chaque utilisateur une bande plus étroite aléatoire et variable lorsque l'utilisateur se déplace et le signal est modulé.

### II.2- INTERACTIONS MICRO-ONDES ET SYSTEMES BIOLOGIQUES

#### II.2.1- PARAMETRES IMPORTANTS

Afin d'étudier et de quantifier les effets biologiques des ondes électromagnétiques, il est indispensable de maîtriser les paramètres physiques et biologiques qui caractérisent l'interaction de l'onde avec les systèmes biologiques ;( **Rougier et carol, 2003** ).

##### II.2.1.1- Puissance et mode d'exposition

La nature et l'ampleur des effets des micro-ondes sur les systèmes biologiques dépendent des caractéristiques de l'onde (**fréquence, longueur d'onde...**). La **puissance** micro-onde est aussi un paramètre important puisque, plus la puissance est élevée, plus la quantité d'énergie envoyée, donc susceptible d'être absorbée par le système biologique, est élevée. Les interactions seront donc différentes en fonction des puissances appliquées.

Le mode d'exposition peut lui aussi influencer les interactions entre les micro-ondes et les systèmes biologiques. En effet, les micro-ondes peuvent être appliquées en **mode continu** ou en **mode pulsé**. .( **Rougier et carol 2003** ).

##### II.2.2- Caractéristiques du matériau exposé

Les micro-ondes, comme on l'a vu précédemment, induisent une oscillation des molécules, telles que celle de l'eau, qui résulte en une augmentation de température. Par conséquent, l'eau semble avoir un rôle majeur dans l'interaction micro-ondes – systèmes biologiques. En effet, des études montrent qu'un traitement micro-ondes appliqué sur des bactéries ou des spores bactériennes dans un environnement sec n'a aucun effet en terme de mortalité cellulaire (**Jeng et al., 1987 ; Wayland, 1977**).

Comme nous l'avons décrit, les caractéristiques diélectriques du système exposé, comme la permittivité ou la conductivité sont très importantes pour étudier les interactions entre les ondes électromagnétiques et un matériau. La composition du milieu joue donc un rôle important dans les interactions entre les micro-ondes et les systèmes biologiques.

### II.2.3- EXISTENCE D'UN PHENOMENE NON THERMIQUE ?

Un effet biologique dû à un champ électromagnétique correspond à des modifications qui peuvent être de nature biochimique ou physiologique.

Depuis le début du siècle, on sait que les ondes électromagnétiques sont absorbées par les systèmes biologiques et qu'elles induisent une augmentation de température. Cependant, depuis une quinzaine d'années, on a une connaissance plus précise de l'interaction rayonnement – systèmes biologiques (**organisme, tissu, cellule**) et de nombreuses expérimentations semblent montrer que l'effet thermique n'est pas le seul à agir.

Un effet dit « **thermique** » correspond à un échauffement local du système biologique exposé que les processus de thermorégulation (s'ils existent) ne peuvent pas compenser. Les pertes diélectriques sous forme de chaleur ne se produisent que si la puissance incidente de l'onde est suffisamment élevée : c'est le principe du four micro-ondes. Ces effets thermiques trouvent de nombreuses applications ; (**Rougier et carol 2003**).

Un effet dit « **athermique** » a lieu lorsque le processus de thermorégulation du système biologique exposé est capable de maintenir sa température égale ou proche de sa température normale. Une cellule isolée ne possède pas de système de thermorégulation. Dans le cas d'une étude *in vitro*, la compensation de l'effet thermique ne peut donc pas avoir lieu et tout transfert d'énergie se traduira par une augmentation de température.

Les effets dits « **non thermiques** » ou « **spécifiques** » sont créés par l'interaction de l'onde électromagnétique avec le système biologique sans induire d'élévation de température ;(**Rougier et carol 2003**).

L'existence de ces effets a entraîné une grande controverse. Par exemple, dans le domaine de la décontamination bactérienne, des études (**Atmaca et al., 1996 ; Salvatorelli et al., 1996**), ont montré que les micro-ondes, appliquées dans les mêmes conditions de température qu'un chauffage traditionnel, ont un effet bactéricide plus important que ce dernier. Certains auteurs (**Dreyffus et Chipley, 1980 ; Khalil et Villota, 1988 ; Kozempel et al., 1998 ; Tajchakavit et al., 1998**) pensent qu'il existe un effet bactéricide non thermique des micro-ondes alors que d'autres (**Fujikawa et al., 1992 ; Goldblith et Wang, 1967 ; Vela et Wu, 1979 ; Welt et al., 1994**) réfutent son existence. Il sembl qu'actuellement

l'existence de ces effets non thermiques soit acceptée, il reste cependant à déterminer leur nature et leur importance. .( **Rougier et carol 2003** ).

### II.3- MICRO-ONDES ET MICROORGANISMES

Même si la plupart de la recherche actuelle sur les interactions micro-ondes et systèmes biologiques concerne l'incidence de la téléphonie mobile sur la santé publique, de nombreuses études ont été réalisées sur l'effet bactéricide des micro-ondes. En effet, comme nous l'avons mentionné, les micro-ondes sont utilisées comme moyen de stérilisation ou de décontamination depuis de nombreuses années. De plus, l'utilisation très répandue du four à micro-ondes, qui fonctionne à la fréquence de **2,45 GHz**, a contribué au développement des études sur les interactions micro-ondes et micro-organismes à cette fréquence. (**Rougier et carol., 2003** ).

#### II.3.1- Les interactions à 2,45 GHz

##### III.3.1.1- Effet global

L'effet bactéricide des micro-ondes à **2,45 GHz** a été testé sur un grand nombre de microorganismes comme par exemple, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, etc., aussi bien sur des milieux solides (**Rosaspina et al., 1993, 1994 a, b ; Sahin et al., 1998 ; Wu, 1996**), que dans des milieux liquides (**Atmaca et al., 1996 ; Kindle et al., 1996 ; Latimer et Matsen, 1977 ; Levre et Valentini, 1998 ; Salvatorelli et al., 1996 ; Woo et al., 2000**).

Ces travaux, réalisés à des températures comprises entre **80 et 100°C**, montrent que l'action destructrice des micro-ondes est essentiellement due à l'effet thermique associé. Cependant, comme nous l'avons mentionné dans la partie I de ce chapitre, certains auteurs pensent qu'il existe un effet bactéricide non thermique des micro-ondes.

Même si l'existence de ces effets non thermiques ou spécifiques des micro-ondes demeure controversée, plusieurs théories ont été avancées pour comprendre comment l'énergie microondes pourrait détruire les micro-organismes. Une des explications serait liée à l'absorption sélective de l'énergie micro-onde par le micro-organisme résultant en son inactivation. Le milieu environnant resterait quant à lui à des températures inférieures (**Sastry et Palaniappan, 1991**).

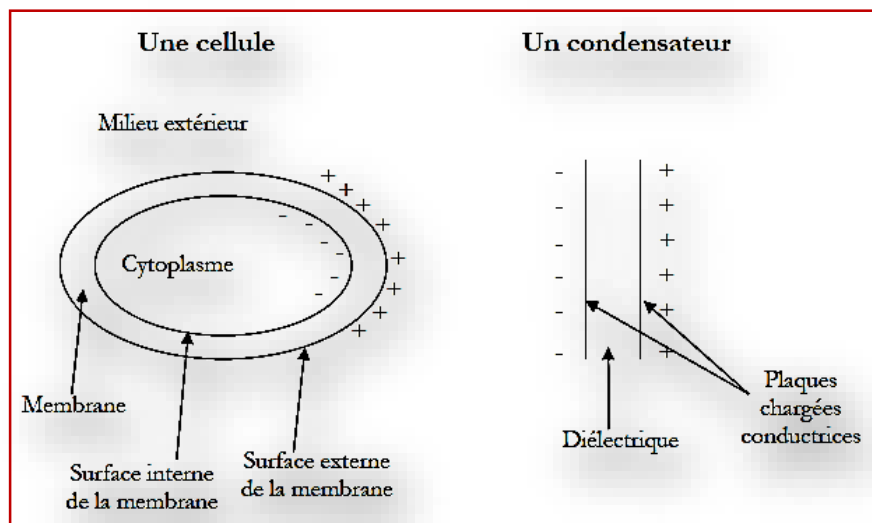
**Khalil et Villota (1989)** parlent d'un chauffage très important induit par les micro-ondes de certains composants cellulaires, tels que les protéines ou les lipides.

De manière à avoir plus d'informations sur les mécanismes d'action des micro-ondes, en particulier au niveau des effets non thermiques, de nombreuses études sur les interactions entre les micro-ondes et certains constituants cellulaires tels que la membrane, l'ADN et les protéines du choc thermique (**HSP : Heat Shock Protein**) ont été réalisées.

### II.3.1.2- Effet sur la membrane cellulaire

De tous les éléments constitutifs d'une cellule, c'est la membrane qui semble être le siège des phénomènes les plus intéressants en présence d'un champ électromagnétique.

En raison de la différence de permittivité électrique entre le cytoplasme de la cellule et le milieu extérieur dans lequel elle baigne, une accumulation de charge apparaît à l'interface (**Thuery, 1989 b**). En effet, la membrane, constituée d'une bicouche lipidique, se comporte électriquement comme un diélectrique et l'ensemble, milieu externe chargé positivement, membrane isolante, cytoplasme chargé négativement, se comporte comme un condensateur (**Figure 7**). Ce modèle reste cependant adapté pour des interactions avec des basses fréquences. Aux fréquences plus élevées, telles que celles des micro-ondes, l'effet de « **condensateur** » diminue. .(**Rougier et carol 2003** ).



**Fig.12-** Comparaison d'une cellule et d'un condensateur en termes de comportement électrique.

( **Rougier et carol., 2003** ).

De nombreuses études portent sur l'effet des micro-ondes sur la membrane des microorganismes.

Ainsi, un changement de morphologie cellulaire a été observé par microscopie électronique sur des suspensions bactériennes irradiées à **2,45 GHz** (**Rosaspina et al., 1993, 1994 a, b ; Salvatorelli et al., 1996**). Les différentes bactéries soumises à l'irradiation microondes présentent des « **cassures** » de

la membrane. Ces mêmes bactéries soumises à la même température (**environ 100°C**) en chauffage traditionnel ne présentent pas d'altérations membranaires. **Shin et Pyun (1997)** ont montré que les micro-ondes, appliquées à **50°C**, induisent des dommages irréversibles à la membrane de *Lactobacillus plantarum*, associés à une augmentation de perméabilité.

Des études d'interaction entre les micro-ondes et la membrane cellulaire ont été réalisées sur des liposomes, modèles de membranes biologiques. Des études ont montré une augmentation de perméabilité de liposomes unilamellaires sous exposition micro-ondes à **2,45 GHz** à **37°C** (**Berquist et al., 1994 ; Saalman et al., 1991**). Ces deux études sont pourtant en désaccord puisque **Saalman** et ses collaborateurs concluent à un effet non thermique des micro-ondes sur la perméabilité des liposomes alors que **Berquist** et son équipe montrent que cette augmentation de perméabilité est due aux effets thermiques des micro-ondes. Une autre étude sur l'influence des micro-ondes sur la libération d'enzyme contenue dans des liposomes montre qu'il y aurait un changement de perméabilité induit par l'exposition micro-onde et que ce changement de perméabilité serait dû à la formation de pores (**Orlando et al., 1994**).

D'autres études, sur cellules animales, ont montré que les micro-ondes à **2,45 GHz** modifiaient leur perméabilité : par exemple, modification de fluidité membranaire de cellules contenant de la mélanine (**Phelan et al., 1992**), augmentation de perméabilité d'érythrocytes aux ions  $\text{Na}^+$  (**Liburdy et Vanek, 1985**), légère modification de fluidité de cellules photoréceptrices (**Pologea-Moraru et al., 2002**), etc...

De nombreuses hypothèses concernant l'effet non thermique des micro-ondes sur la membrane cellulaire ont été émises. Un changement de concentration en ions de part et d'autre de la membrane et la réorientation de grosses molécules, comme les protéines membranaires, pourraient être une hypothèse sur le mécanisme non thermique des micro-ondes (**Barnes et Hu, 1977**). De plus, le comportement diélectrique des macromolécules biologiques (protéines, lipides, glucides, acides nucléiques) est fonction de la quantité de molécule d'eau en contact étroit avec elles (**eau liée**). L'eau liée à la membrane pourrait donc être responsable des effets des microondes sur la membrane cellulaire (**Liu et Cleary, 1995**). L'eau pourrait donc être nécessaire pour induire et potentialiser des effets spécifiques des micro-ondes (**Vela and Wu, 1979**).

### III.1.1.3- Effet génotoxique

D'une manière générale, la plupart des études portant sur l'effet **génotoxique** des microondes à **2,45 GHz** montrent qu'il n'y a pas d'effet spécifique ou non thermique des micro-ondes (**pour revue, Verschaeve et Maes, 1998**).

Cependant, des études sur l'action du chauffage par micro-ondes sur l'ADN se sont révélées positives. **Kakita et ses collaborateurs (1995)** ont montré que le chauffage micro-ondes induisait une fragmentation de l'ADN viral plus importante qu'un chauffage traditionnel. Aucune théorie n'a été proposée pour expliquer cette observation. Saffer et Profeno (1992) ont observé une augmentation de l'expression du gène de la  $\beta$ -galactosidase chez *Escherichia coli*. N'ayant pas mesuré d'élévation de température dans le milieu, ils ont émis l'hypothèse de la formation d'un gradient thermique entre les cellules et le milieu et concluent que les effets semblent être dus aux propriétés du chauffage micro-onde (**rapidité et hétérogénéité**). .( **Rougier et carol 2003** ).

Perrin et ses collaborateurs (2002) ont étudié l'influence de la modulation d'un signal à **2,45 GHz** sur le taux de mutation de *Salmonella typhimurium*, par le test de génotoxicité appelé test d'Ames. Ils ont montré qu'un signal continu ou modulé n'induit pas le même effet. Leurs résultats suggèrent qu'une exposition micro-ondes à **2,45 GHz** modulée à **217 Hz** induirait un effet « **protecteur** » lié à la modulation. Actuellement, cette équipe cherche à déceler des effets thermiques associés grâce aux protéines du choc thermique (**HSP**). .( **Rougier et carol 2003** ).

### III.1.1.4- Induction des protéines du choc thermique

En réponse à des élévations de température, à des stress chimiques ou physiques, les cellules eucaryotes et procaryotes synthétisent des protéines spécifiques impliquées dans la protection cellulaire. Ces protéines de stress comprennent une famille majeure appelée les **HSP (pour Heat Shock Protein ou protéines du choc thermique)**. Certaines **HSP** sont exprimées de façon constitutive dans les cellules dans des conditions normales de culture. L'induction d'une forte expression de ces protéines apparaît lorsque les cellules sont soumises à un stress. Ces protéines sont considérées comme des « chaperons moléculaires » : elles interviendraient au niveau du repliement des protéines (**Cleary et al., 1997**).

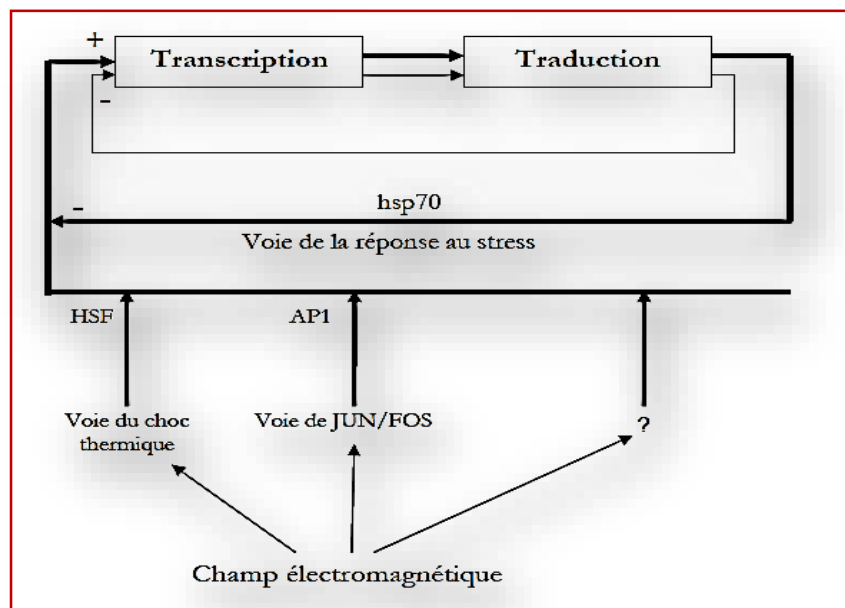
Il existe de nombreuses familles de **HSP** que l'on classe en fonction de leur poids moléculaire. Parmi elles, deux familles sont importantes : la famille des **HSP 70 (dont le poids moléculaire est d'environ 70 kDa)** et la famille des **HSP 60 (protéines dont le poids moléculaire est d'environ 60 kDa)**. Chez *Escherichia coli*, la plus connue des **HSP 60** est **GroEL**, la plus connue des **HSP 70** est **Dna K (Welch, 1993)**.

L'intérêt d'étudier ces protéines lors de l'exposition aux champs micro-ondes réside dans le fait qu'il est connu que les champs électromagnétiques **ELF** induisent une réponse au stress (**Weisbrot et al., 1993**). De plus, certaines d'entre elles ne sont produites que lorsqu'il y a élévation de température et semblent intéressantes pour localiser l'existence de points chauds au sein d'un système exposé aux micro-ondes.

La plupart des études portant sur l'induction des HSP par des champs micro-ondes dans des conditions isothermales sont réalisées sur des cellules eucaryotes. Certaines études montrent une induction des protéines **HSP**, d'autres non (**Cleary et al., 1997**). Les différences entre les résultats viennent probablement des conditions d'exposition qui sont différentes selon les études.

Certains auteurs proposent cependant des mécanismes pour expliquer l'existence d'une réponse au stress en conditions non thermiques. En fonction de la puissance micro-ondes, l'effet pourrait être différent. A de faibles niveaux de puissance, les champs micro-ondes pourraient altérer le bon repliement de certaines protéines mais de façon insuffisante pour induire une réponse au stress. Les protéines mal repliées ne sont donc pas protégées par ce système et un effet biologique est alors observé. A des puissances plus élevées, un plus grand nombre de protéines seraient altérées, la réponse au stress serait donc activée et empêcherait la mesure d'un effet biologique, la réponse au stress masquant les effets générés. A de très fortes puissances, la réponse au stress n'est pas suffisante pour protéger les cellules et des agrégats de protéines pourraient apparaître, un effet biologique pourrait alors être observé (**Laurence et al., 2000**).

**Blanck et ses collaborateurs (2000)** décrivent des éléments de réponse aux champs électromagnétiques basses fréquences qui impliqueraient à la fois la réponse au stress mais aussi la voie de **JUN/FOS** (**Figure 8**).



**Fig.13**-Hypothèse du mécanisme des champs électromagnétiques basses fréquences (d'après **Blanck et al., 2000**).

Les champs électromagnétiques seraient perçus comme un stress par les cellules. Ils pourraient agir sur la voie du choc thermique *via* le facteur de transcription **HSF** (**Heat Shock Factor**), sur la voie de **JUN/FOS** *via* le facteur de transcription **API**, ou d'autres voies qui ne sont pas encore identifiées (**Blanck et al., 2000**). Ces voies activeraient la transcription et la traduction de **HSP 70**. Ce modèle n'est peut-être pas valable pour les hautes fréquences.

### III.3.2- Interactions à des fréquences supérieures : les ondes millimétriques

De nombreux travaux sur les effets biologiques des ondes millimétriques, de **30 à 300 GHz**, ont été réalisés (pour revue, **Pakhomov et al., 1998**).

Des études ont porté sur la croissance cellulaire (**Badea et al., 1993 ; Gos et al., 1997 ; Grundler et Keilmann, 1978**), les effets génotoxiques (**Belyaev et al., 1992 ; Pakhomova et al., 1997 ; Shckorbatov et al., 1998**) ou encore la membrane cellulaire (**Alekseev et Ziskin, 1995**). La plupart de ces expositions ont été réalisées dans des conditions non thermiques. Comme dans le cas de la téléphonie mobile ou dans le cas des études menées à **2,45 GHz**, certaines études montrent un effet biologique des ondes millimétriques, alors que d'autres non. En effet, comme dans les fréquences plus basses, les effets de ces ondes dépendent de nombreux paramètres aussi bien biologiques que physiques (**Belyaev et al., 2000 ; Shcheglov et al., 2002**).

Différents modèles ont été présentés pour expliquer les interactions possibles entre les ondes millimétriques et les systèmes biologiques. Un mécanisme possible serait lié au processus d'absorption des micro-ondes qui transférerait l'énergie du champ électromagnétique au mode vibrationnel des macromolécules altérant ainsi leur structure et leur conformation macromoléculaire (**Taylor, 1981**). En effet, les ondes millimétriques ont des périodes qui correspondent aux périodes des vibrations élastiques des macromolécules. **Belyaev et ses collaborateurs (1992)** parlent d'un effet de résonance des ondes millimétriques. En effet, les fréquences de résonance de certains constituants cellulaires tels que les protéines et les acides nucléiques (**ADN et ARN**) sont proches des fréquences des ondes millimétriques. Ces ondes seraient donc susceptibles d'induire des effets non thermiques et spécifiques sur des constituants cellulaires vitaux pour les cellules.

# **-Partie expérimentale**

## **Chapitre III – Matériels et méthodes**

## Chapitre III : Matériels et méthodes

---

### III.1- Objectifs de l'étude :

Les objectifs du présent mémoire peuvent se résumer comme suit :

- a- Mettre en évidence l'effet de four microonde sur quelques souches bactériennes.
- b- Mettre en évidence l'effet de puissance et du temps d'exposition au four microonde sur la survie des souches microbiennes.
- c- Suivre l'augmentation de l'efficacité des fours microondes sur les microorganismes.
- d- Mettre en évidence l'effet de l'application direct des fours microonde sur la charge microbienne.

### III.2- Lieu de travail

Ces études ont été réalisées dans le laboratoire pédagogique du département de biologie à l'université **AMAR THELIDJI – Laghouat**.

### III.3- Matériels biologiques

#### III.3.1 Les bactéries

Les bactéries utilisées dans cette étude sont des souches de référence représentées dans le tableau 07, font partie de la collection de laboratoire de microbiologie, ENS kouba, Alger. Toutes les souches sont fournées par **Mr : LAHOUM Abdelhadi** (laboratoire de microbiologie, **ENS kouba ; Alger**).

Leur pureté a été vérifiée par observation microscopique à l'objectif (**x40**).

L'authentification des souches a été réalisée par coloration du Gram.

**Tableau 07-** Les souches bactériennes utilisées dans ce travail.

Les souches bactériennes	Références
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
<i>Micrococcus luteus</i>	ATCC 4698
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 43300

## Chapitre III : Matériels et méthodes

---

### III.4- Principe de travail

Dans le présent travail, nous allons étudier :

L'efficacité de la désinfection au four microonde sur la charge microbienne, Nous avons aussi testé quelle était l'influence des conditions expérimentales sur l'évaluation de l'efficacité de la désinfection au four microonde. Et l'impact des facteurs de la puissance et du temps d'exposition.

En prenant comme modèle de micro-organismes :

### III.5- Méthodes

#### III.5-1- Four black decker My 2000P

**Tableau 08-** Présente les caractéristiques de four microonde Black decker My 2000P

<b>Capacité</b>	<b>20 litre</b>
<b>Tension</b>	220 V – 240 V
<b>Puissance</b>	700 W
<b>Fréquence</b>	2.45 GHZ
<b>Minuterie</b>	30 minute
<b>Signale de fin de cuisson</b>	
<b>Bouton de puissance</b>	5 puissance



**Fig.14** – Photo présente four microonde Black decker My2000p

## Chapitre III : Matériels et méthodes

### III.5.2- Tests sur les souches bactériennes : protocole expérimentale

Les bactéries sont cultivés sur Bouillon Nutritif et lait UHT à 37°C pendant 24h. Les souches sont ensemencées en surface sur le milieu Plate Count Agar dit PCA, et incubés à 37°C, ceci pendant 24h. La concentration obtenue en bactéries a partir des deux milieux de cultures est une moyenne de  $3 \times 10^5$  UFC/ml (Unité Formant Colonie par millilitre) (bouillon nutritif)  $6 \times 10^5$  UFC/ml (Lait UHT) pour *Escherichia coli*,  $1 \times 10^6$  UFC/ml (bouillon nutritif)  $3 \times 10^4$  UFC/ml (Lait UHT) pour *Micrococcus luteus*,  $8 \times 10^4$  UFC/ml (bouillon nutritif)  $4.5 \times 10^5$  UFC/ml (Lait UHT) pour *Bacillus subtilis* et  $4 \times 10^5$  UFC/ml (bouillon nutritif)  $1 \times 10^6$  UFC/ml (Lait UHT) pour *Staphylococcus aureus*. Les souches sont exposées au four microonde par deux puissance (moyenne et faible) et deux temps (5 et 2 minute).

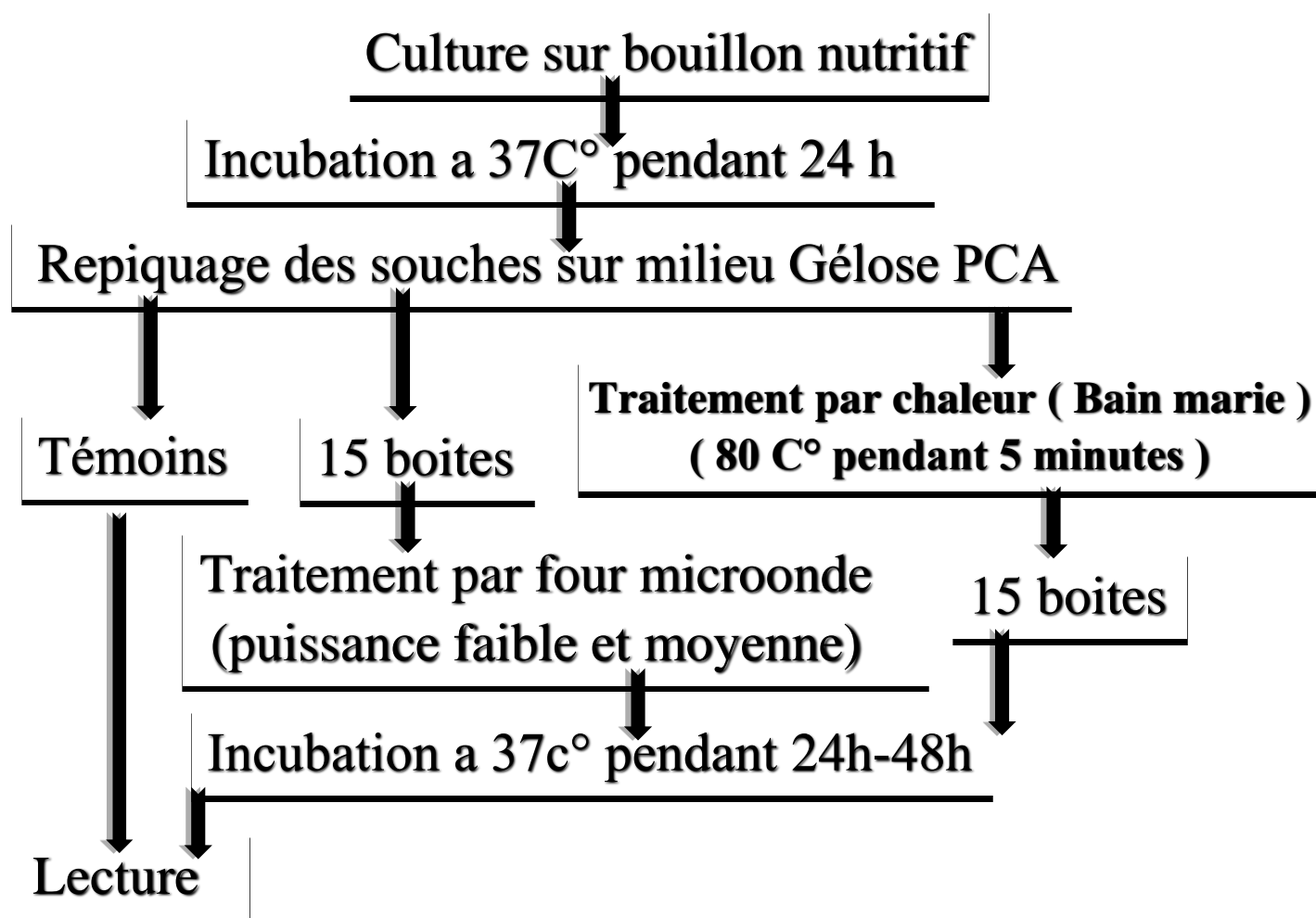


Fig. 15 - Schéma résumant le protocole expérimental pour les souches bactérienne

La mortalité cellulaire a été évaluée par la méthode des dilutions/étalements qui permet de quantifier l'aptitude des bactéries à se revivifier sur milieu gélosé.

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{\text{UFC témoin} - \text{UFC teste}}{\text{UFC témoin}}$$

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition calculé comme suit :

Le témoin correspond aux souches non-traités et le test à ceux soumis au **four microonde** (figure 15).

## **Chapitre IV : Résultats et discussion**

## Chapitre IV : Résultats et discussion

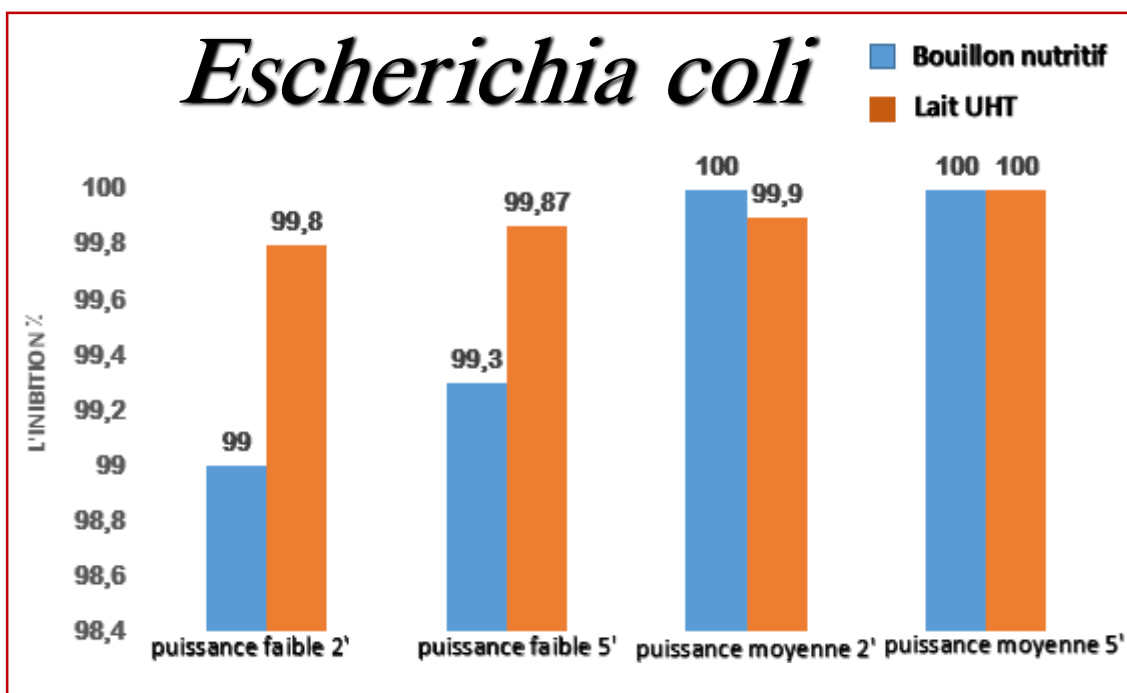
### IV.1- Résultats de l'impact de four microonde sur les microorganismes :

Les valeurs de pourcentage d'inhibition sont variées avec la variation de la puissance ( **moyenne** et **faible** ) et de temps d'exposition ( **2 minutes** et **5 minutes** ) des microorganismes au four microonde.

#### IV.1.1- Tests sur les souches bactériennes :

##### IV.1.1.1- L'effet de four microonde sur *Escherichia coli*:

*Escherichia coli* est un germe souvent associé à la qualité hygiénique des eaux de lavage et est retrouvé comme un indicateur de contamination fécale.

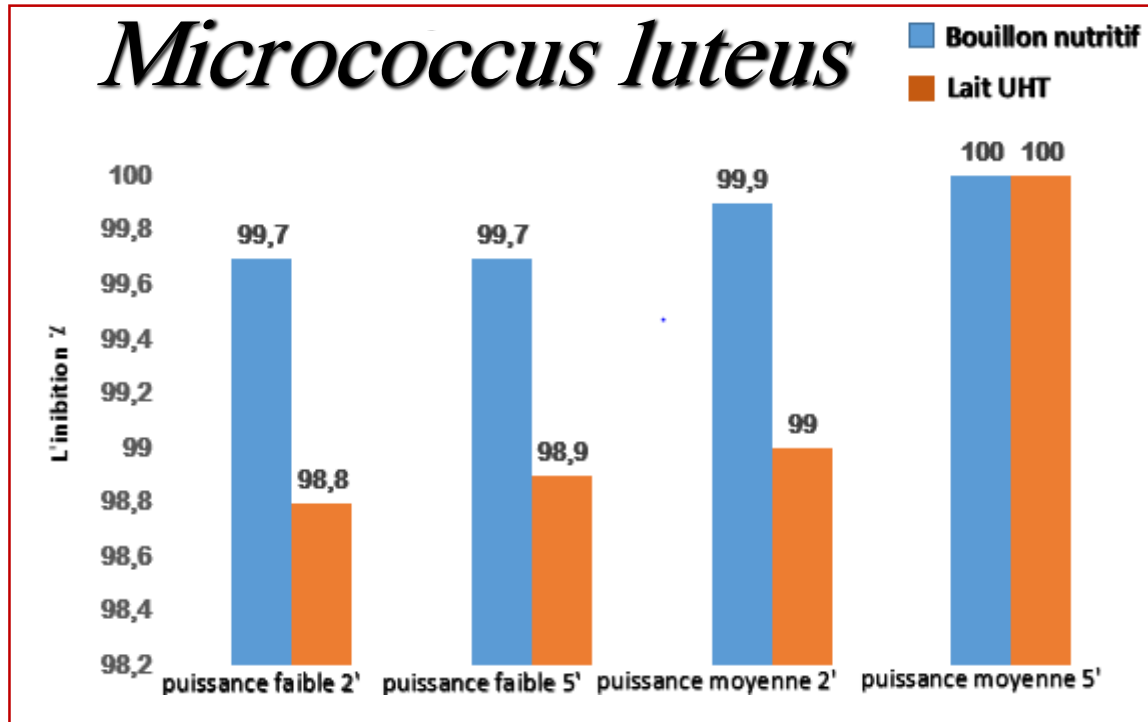


**Fig. 16** -Représentation graphique des résultats en pourcentages d'inhibition de la souche *Echirichia coli* après l'exposition au four microonde avec deux puissances (2 minute, 5 minute).

On remarque pour la souche bactérienne *Escherichia coli* qu'à chaque fois on augmente la durée d'exposition au four microonde pour chaque puissance (moyenne et faible) , l'inhibition est plus en plus augmente. Et avec un pourcentage d'inhibition important qui peut aller jusqu'à l'inhibition totale pour une puissance moyenne qui dure 5 minute.

## Chapitre IV : Résultats et discussion

### IV.1.1.2- L'effet de four micro-onde sur *Micrococcus luteus*:



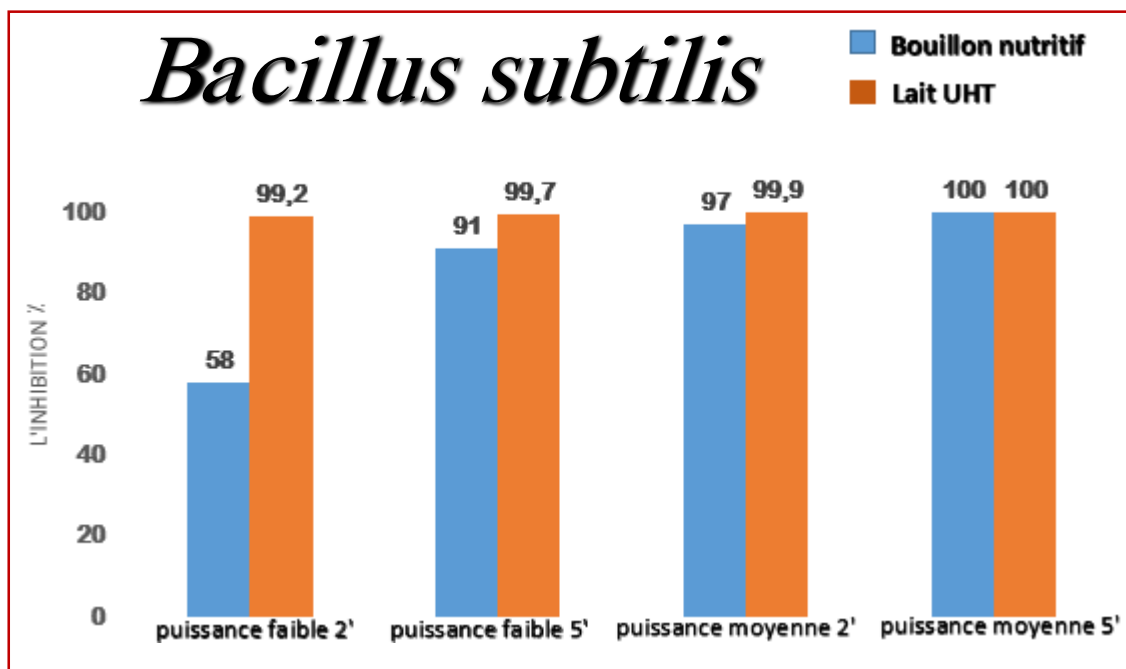
**Fig. 17** -Représentation graphique des résultats en pourcentages d'inhibition de la souche *Micrococcus luteus* après l'exposition au four microonde avec deux puissances (2 minute, 5 minute).

On remarque pour la souche bactérienne *Micrococcus luteus* qu'à chaque fois on augmente la durée d'exposition au four microonde pour chaque puissance (**moyenne** et **faible**), l'inhibition est plus en plus augmente. Et avec un pourcentage d'inhibition important qui peut aller jusqu'à l'inhibition totale pour une puissance moyenne qui dure **5** minute

## Chapitre IV : Résultats et discussion

### IV.1.1. 3- L'effet de four microonde sur *Bacillus subtilis*:

*B. subtilis* fait partie des bactéries gram-positives à faible pourcentage en guanine et en cytosine (%GC) dans leur génome. Elle appartient au groupe des Firmicutes (ou *Bacillus/ Clostridium*) qui comporte trois classes: les Bacilli (comprenant les genres *Bacillus*, *Listeria*, *Enterococcus*, *Staphylococcus* et *Streptococcus*), les Clostridia et les Mollicutes. C'est un des organismes les plus étudiés, le second chez les procaryotes, juste après *Escherichia coli*.

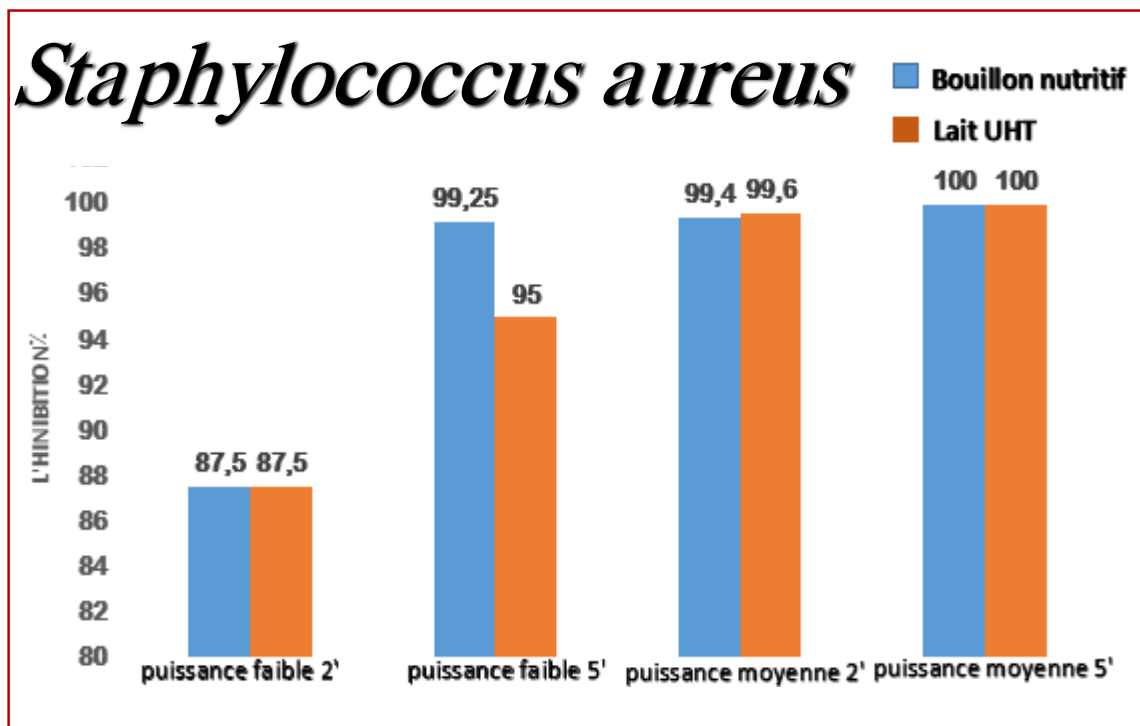


**Fig. 18** -Représentation graphique des résultats en pourcentages d'inhibition de la souche *Bacillus subtilis* après l'exposition au four microonde avec deux puissances (2 minute, 5 minute).

On remarque pour la souche bactérienne *Basillus subtilis* qu'à chaque fois on augmente la durée d'exposition au four microonde pour chaque puissance (moyenne et faible), l'inhibition est plus en plus augmente. Et avec un pourcentage d'inhibition important qui peut aller jusqu'à l'inhibition totale pour une puissance moyenne qui dure 5 minute

## Chapitre IV : Résultats et discussion

### IV.1.1.4- L'effet de four microonde sur *Staphylococcus aureus*:



**Fig. 19** -Représentation graphique des résultats en pourcentages d'inhibition de la souche *Staphylococcus aureus* après l'exposition au four microonde avec deux puissances (2 minute, 5 minute).

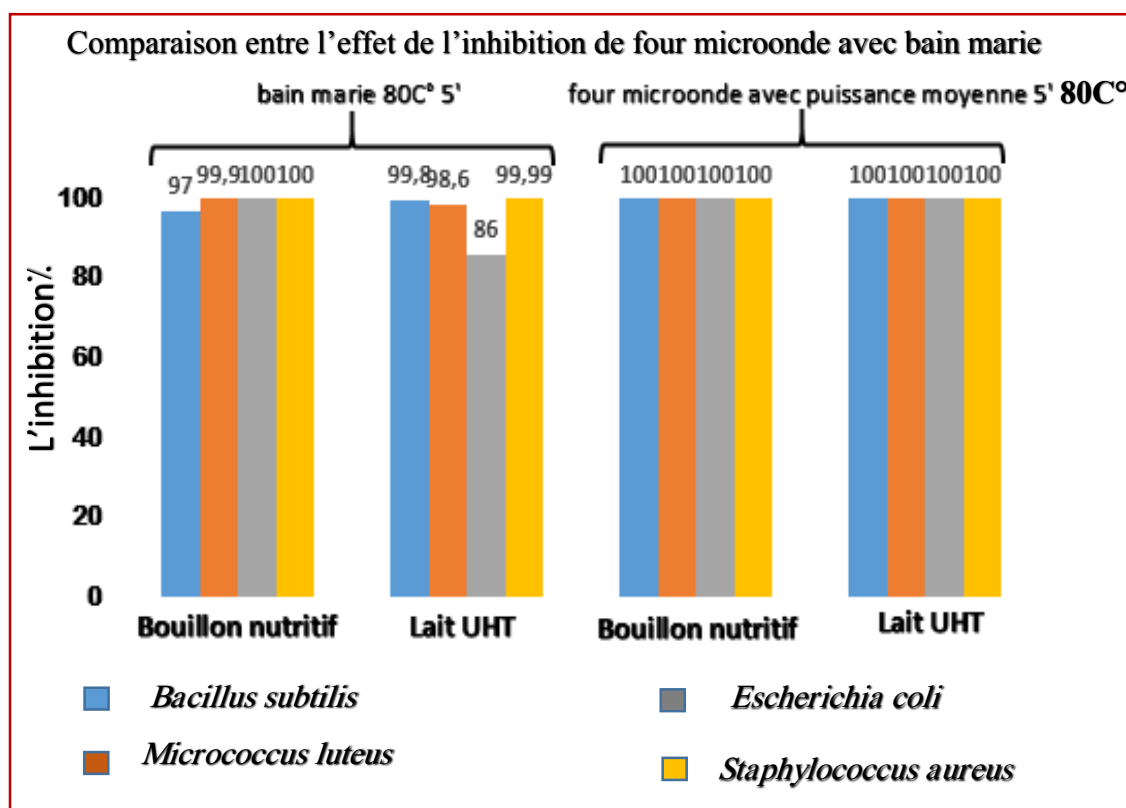
On remarque pour la souche bactérienne *Staphylococcus aureus* qu'à chaque fois on augmente la durée d'exposition au four microonde pour chaque puissance (moyenne et faible), l'inhibition est plus en plus augmente. Et avec un pourcentage d'inhibition important qui peut aller jusqu'à l'inhibition totale pour une puissance moyenne qui dure 5 minute

## Chapitre IV : Résultats et discussion

### IV.1.1.5- Comparaison l'effet de four microonde avec l'effet de la chaleur

Les valeurs de pourcentage d'inhibition sont variées avec la variation de la puissance ( **moyenne et faible** ) et de temps d'exposition ( **2 minutes et 5 minutes** ) des microorganismes au four microonde, nous comparons ces valeurs avec celle qui se résultent par l'exposition des microorganismes a la chaleur ( **bain marie** ).

Il faut savoir que la température utilisée est de **80 C°** pendant **5 minutes** équivalente à la puissance et le temps d'exposition au four microonde.



**Fig. 20** -Représentation graphique des résultats en pourcentages d'inhibition de 4 souches bactérienne après l'exposition au four microonde à puissance moyenne pendant 5 minutes, et au bain marie avec une température de **80C°** pendant 5 minute

On remarque que l'inhibition pour 4 souches bactérienne dans le cas d'exposition à la chaleur ( **80C°** pendant **5 minute** ) dans le milieu de culture bouillon nutritif se situe entre **97%** et **100%** et dans le milieu de culture lait **UHT** se situe entre **86%** et **99,99 %** par rapport à l'exposition du four microonde avec puissance moyenne pendant 5 minutes on remarque dans ce cas que l'inhibition est totale dans les deux milieux de culture.

## Chapitre IV : Résultats et discussion

---

### IV.2- Discussion des résultats :

Les résultats en pourcentage d'inhibition % de différentes souches bactériennes présentent des valeurs moyennes d'inhibition (%) égale **99,65%** pour *Escherichia coli*, **99,4%** pour *Micrococcus luteus* , **79%** pour *Bacillus subtilis* et pour *staphylococcus aureus* **93,75%**.

D'après les figures 20, 22 et 24 on remarque que les souches bactériennes testées sont sensible aux four microonde de **99 à 100 %** d'inhibition pour *Escherichia coli*, de **98,8% à 100%** pour *Micrococcus luteus* , de **58% à 100%** pour *Bacillus subtilis* et pour *staphylococcus aureus* de **87,5% à 100%**.

Cette inhibition est croissante avec le temps d'application et la puissance. Il y a une différence significative entre les différentes puissances et temps d'exposition.

-l'absorption sélective de l'énergie micro-onde par le micro-organisme résultant en son inactivation. Le milieu environnant resterait quant à lui à des températures inférieures (**Sastry et Palaniappan, 1991**).

Un chauffage très important induit par les micro-ondes de certains composants cellulaires, tels que les protéines ou les lipides. **Khalil et Villota (1989)**

Un changement de morphologie cellulaire a été observé par microscopie électronique sur des suspensions bactériennes irradiées à **2,45 GHz (Rosaspina et al., 1993, 1994 a, b ; Salvatorrelli et al., 1996)**. Les différentes bactéries soumises à l'irradiation microondes présentent des « cassures » de la membrane. Ces mêmes bactéries soumises à la même température (**environ 100°C**) en chauffage traditionnel ne présentent pas d'altérations membranaires. **Shin et Pyun (1997)** ont montré que les micro-ondes, appliquées à **50°C**, induisent des dommages irréversibles à la membrane de *Lactobacillus plantarum*, associés à une augmentation de perméabilité.

Une augmentation de perméabilité des liposomes unilamellaires sous exposition micro-ondes à **2,45 GHz à 37°C (Berquist et al., 1994 ; Saalman et al., 1991)**. Ces deux études sont pourtant en désaccord puisque **Saalman** et ses **collaborateurs** concluent à un effet non thermique des micro-ondes sur la perméabilité des liposomes alors que **Berquist** et son équipe montrent que cette augmentation de perméabilité est due aux effets thermiques des micro-ondes. Une autre étude sur l'influence des micro-ondes sur la libération d'enzyme contenue dans des liposomes montre qu'il y aurait un changement de perméabilité induit par l'exposition micro-onde et que ce changement de perméabilité serait dû à la formation de pores (**Orlando et al., 1994**).

modification de fluidité membranaire de cellules contenant de la mélanine (**Phelan et al., 1992**), augmentation de perméabilité d'érythrocytes aux ions  $\text{Na}^+$  (**Liburdy et Vanek, 1985**), légère modification de fluidité de cellules photoréceptrices (**Pologea-Moraru et al., 2002**), etc...

## Chapitre IV : Résultats et discussion

---

De nombreuses hypothèses concernant l'effet non thermique des micro-ondes sur la membrane cellulaire ont été émises. Un changement de concentration en ions de part et d'autre de la membrane et la réorientation de grosses molécules, comme les protéines membranaires, pourraient être une hypothèse sur le mécanisme non thermique des micro-ondes (**Barnes et Hu, 1977**). De plus, le comportement diélectrique des macromolécules biologiques (protéines, lipides, glucides, acides nucléiques) est fonction de la quantité de molécule d'eau en contact étroit avec elles (**eau liée**). L'eau liée à la membrane pourrait donc être responsable des effets des microondes sur la membrane cellulaire (**Liu et Cleary, 1995**). L'eau pourrait donc être nécessaire pour induire et potentialiser des effets spécifiques des micro-ondes (**Vela and Wu, 1979**).

Cependant, des études sur l'action du chauffage par micro-ondes sur l'ADN se sont révélées positives. **Kakita et ses collaborateurs (1995)** ont montré que le chauffage micro-ondes induisait une fragmentation de l'ADN viral plus importante qu'un chauffage traditionnel. une exposition micro-ondes à **2,45 GHz** modulée à **217 Hz** induirait un effet « **protecteur** » lié à la modulation

En fonction de la puissance micro-ondes, l'effet pourrait être différent. A de faibles niveaux de puissance, les champs micro-ondes pourraient altérer le bon repliement de certaines protéines mais de façon insuffisante pour induire une réponse au stress. Les protéines mal repliées ne sont donc pas protégées par ce système et un effet biologique est alors observé. A des puissances plus élevées, un plus grand nombre de protéines seraient altérées, la réponse au stress serait donc activée et empêcherait la mesure d'un effet biologique, la réponse au stress masquant les effets générés. A de très fortes puissances, la réponse au stress n'est pas suffisante pour protéger les cellules et des agrégats de protéines pourraient apparaître, un effet biologique pourrait alors être observé (**Laurence et al., 2000**).

**-Conclusion**

## **Conclusion**

Dans un contexte global de sécurité alimentaire, associé à une recherche de nouveaux procédés d'amélioration de la qualité, de prolongement de la fraîcheur, mais aussi de volonté de diminution des pertes post-récoltes. La désinfection par les fours microonde est une méthode de traitement récent plus utilisé pour traitement, les aliments ...etc.

Le présent projet a pour but de combiner l'impact des fours microondes sur la survie de quelques souches bactériennes

A travers cette étude, nous avons étudié les effets antimicrobiens des fours microondes sur des souches habituellement retrouvées dans les cas d'altération des éléments alimentaires et pour les décontaminer. Ont été soumises à deux puissance moyenne et faible avec deux temps d'exposition ( 2 minute, 5 minute )

Le pourcentage d'inhibition % que nous avons déterminé à partir le nombre d'unité formant colonies (**UFC/ml**) pour les bactéries,. Nous a permis de conclure que l'effet antimicrobien des fours microondes est augment avec l'augmentation de puissance et le temps de traitement.

On conclut que l'action bactéricide des fours microondes sur les souches testées est très importante par apport à l'effet de la chaleur.

Comme perspectif :

Pour la continuité de ce travail nous proposons de faire :

- faire une étude comparative approfondie entre l'effet de la chaleur des microondes et l'effet de la chaleur thermique, en déterminant les temps nécessaires pour avoir une même efficacité.



## **- Références bibliographiques**

### Référence bibliographique

- 01- Atmaca S., Akdag Z., Dasdag S. et Celik S.** (1996). Effect of microwaves on survival of some bacterial strains. *Acta Microbiol Immunol Hung.* **43** (4) : 371-378.
  - 02- Alekseev S.I. et Ziskin M.C.** (1995). Millimeter microwave effect on ion transport across lipid bilayer membranes. *Bioelectromagnetics.* **16** (2) : 124-131.
  - 03- Bergan, T.** (1984). Classification of *Escherichia coli*. *Methods Microbiol.*, 14, pp 1-41.
  - 04- Broes, A.** (1993). Les *Escherichia coli* pathogènes du chien et du chat. *Ann. Méd. Vét.*, 137: pp 377-384.
  - 05- Blank M. et Goodman R.** (2000). Stimulation of the stress response by low-frequency electromagnetic fields : possibility of direct interaction with DNA. *IEEE Trans Plasm Sci.* **28** (1) : 168-172.
  - 06- Belyaev I., Alipov Y.D., Shcheglov V.S. et Lystsov V.N.** (1992). Resonance effect of microwaves on the genome conformational state of *E. coli* cells. *Z Naturforsch [C].* **47** (7-8) : 621-627.
  - 07- Badea M.A., Vasilco R., Sandru D., Paslaru L., Jieanu V. et Comorosan S.** (1993). The effect of pulsed electromagnetic field (Diapulse) on cellular systems. *Rom J Physiol.* **30** (1-2) : 65-71.
  - 08- Belyaev I., Shcheglov V.S., Alipov Y.D. et Ushakov V.D.** (2000). Nonthermal effects of extremely high-frequency microwaves on chromatin conformation in cells in vitro - Dependence on physical, physiological, and genetic factors. *IEEE Trans Microw Theor Tech.* **48** (11) : 2172-2179.
  - 09- Bourgeois, C.M., Mescle, J.F., et Zucca J.** (1989). Microbiologie alimentaire. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Lavoisier. Paris. P. 216-244.
  - 10- Bergquist B., Arvidsson L., Pettersson E., Galt S., Saalman E., Hamnerius Y. et Norden B.** (1994). Effect of microwave radiation on permeability of liposomes. Evidence against nonthermal leakage. *Biochim Biophys Acta.* **1201** (1) : 51-4.
  - 11- Barnes F.S. et Hu C.J.** (1977). Model for some nonthermal effects of radio and microwave fields on biological membranes. *IEEE Trans Microw Theor Tech.* **25** (9) : 742-746.
  - 12- Cleary S.F., Cao G., Liu L.M., Egle P.M. et Shelton K. R.** (1997). Stress proteins are not induced in mammalian cells exposed to radiofrequency or microwave radiation. *Bioelectromagnetics.* **18** (7) : 499-505.
  - 13- Dreyfuss M.S. et Chipley J.R.** (1980). Comparison of effects of sublethal microwave radiation and conventional heating on the metabolic activity of *Staphylococcus aureus*. *Appl Environ Microbiol.* **39** (1) : 13-16.
-

## Référence bibliographique

---

- 14- Fairbrother, J.M.**(1993). Les colibacillooses du porc. Ann. Méd. Vét., 1993, 137,pp 369- 375.
- 15- Farmer, J.J., Davis, B.R., Hickman-brenner, F.W., Worter, A., Huntley-carter , G.P.,**
- 16- Fujikawa H., Ushioda H. et Kudo Y.** (1992). Kinetics of *Escherichia coli* destruction by microwave irradiation. Appl Environ Microbiol. **58** (3) : 920-924.
- 17- Ghebru, A.,** (1988). Contribution à l'étude du pouvoir pathobliographique grences bène des *Escherichia coli*. Mémoire De Maitrise Des Sciences Vétérinaires En Microbiologie Immunologie, Nantes, 255-373Pp.
- 18- Gyles, C. L.,**(2007). Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: an overview. J Anim Sci 85:E45-62.
- 19- Goldblith S.A. et Wang D.I.C.** (1967). Effect of microwaves on *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. Applied Microbiology. **15** (6) : 1371-1375.
- 20- Hanes, D.**(2003).Nontyphoid Salmonella. In: Miliotis N., bier J.(Eds.); International Handbook of Foodborne Pathogens, Marcel Dekker: New York.pp 137-149.
- 21- Heuvelink, A. E., Van den biggelaar, F.L., Zwartkruis-nahuis, J., Herbes, R.G.,**
- 22- Huyben, R. N., Melchers, W. J., Monnens, L.A., et De boer, E.**(1999). Occurrence of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 on Dutch dairy farms. J Clin Microbiol 36, pp3480–3487.
- 23- Heuvelink, A.E., Zwartkruis-nahuis, J.T., Van den biggelaar, F.L., Van leeuwen.**
- 24- Jeng D.K., Kaczmarek K.A., Woodworth A.G. et Balasky G.** (1987). Mechanism of microwave sterilization in the dry state. Appl Environ Microbiol. **53** (9) : 2133-2137. documentation Lavoisier. Les micro-ondes et leurs effets sur la matière 2ème édition. France.
- 25- Khalil H. et Villota R.** (1988). Comparative study on injury and recovery of *Staphylococcus aureus* using microwaves and conventional heating. J Food Prot. **51** : 181-186.
- 26- Kozempel M.F., Annous B.A., Cook R.D., Scullen O.J. et Whiting R.C.** (1998). Inactivation of microorganisms with microwaves at reduced temperatures. J Food Prot. **61** (5) : 582-585.
- 27- Kindle G., Busse A., Kampa D., Meyer-Konig U. et Daschner F.D.** (1996). Killing activity of microwaves in milk. J Hosp Infect. **33** (4) : 273-278.
- 28- Latimer J.M. et Matsen J.M.** (1977). Microwave oven irradiation as a method for bacterial decontamination in a clinical microbiology laboratory. J Clin Microbiol. **6** (4) : 340-342.
- 29- Levre E. et Valentini P.** (1998). Inactivation of Salmonella during microwave cooking. Zentralbl Hyg Umweltmed. **201** (4-5) : 431-436.
- 30- Liburdy R.P. et Vanek P.F. Jr.** (1985). Microwaves and the cell membrane. II. Temperature, plasma, and oxygen mediate microwave-induced membrane permeability in the erythrocyte. Radiat Res. **102** (2) : 190-205.
-

- 31- Liu L.M. et Cleary S.F.** (1995). Absorbed energy distribution from radiofrequency electromagnetic radiation in a mammalian cell model: effect of membrane-bound water. *Bioelectromagnetics*. **16** (3) : 160-171.
- 32- Laurence J.A., French P.W., Lindner R.A. et McKenzie D.R.** (2000). Biological effects of electromagnetic fields--mechanisms for the effects of pulsed microwave radiation on protein conformation. *J Theor Biol*. **206** (2) : 291-298.
- 33- Luc J.** (2002). Interaction des ondes électromagnétiques avec le vivant. Etude et dosimétrie numérique de systèmes d'exposition aux fréquences micro-ondes. Thèse de Doctorat « Electronique des Hautes fréquences et Optoélectronique », Limoges (2002LIM00042).
- 34- Mainil, J.; Wilbaux, M.; Jacquemin, E.; Imberechts, H.; et Van bost, S.** (1999). Les souches pathogènes d'*Escherichia coli* chez les chiens et chats : III) Données bactériologiques et cliniques sur les souches nécrotoxigènes et sur celles positives pour des adhésines. *Ann.Méd. Vét*, 145, p 343-354.
- 35- Orlando A.R., Mossa G. et D'Inzeo G.** (1994). Effect of microwave radiation on the permeability of carbonic anhydrase loaded unilamellar liposomes. *Bioelectromagnetics*. **15** (4) : 303-313.
- 36- Phelan A.M., Lange D.G., Kues H.A. et Luty G.A.** (1992). Modification of membrane fluidity in melanin-containing cells by low-level microwave radiation. *Bioelectromagnetics*. **13** (2) : 131-146.
- 37- Pologea-Moraru R., Kovacs E., Iliescu K.R., Calota V. et Sajin G.** (2002). The effects of low level microwaves on the fluidity of photoreceptor cell membrane. *Bioelectrochemistry*. **56** (1-2) : 223-225
- 38- Pakhomov A.G., Akyel Y., Pakhomova O.N., Stuck B.E. et Murphy M.R.** (1998). Current state and implications of research on biological effects of millimeter waves: a review of the literature. *Bioelectromagnetics*. **19** (7) : 393-413.
- 39- Pakhomova O.N., Pakhomov A.G. et Akyel Y.** (1997). Effect of millimeter waves on UV induced recombination and mutagenesis in yeast. *Bioelectrochem Bioenerg*. **43** (2) : 227-232
- 40- Rougier et carol.** ( 2003). Etude des interactions entre la bactérie *Escherichia coli* et les micro-ondes appliquées en mode discontinu dans des conditions faiblement thermiques. *213* (1) : 20-38
- 41- Rosaspina S., Anzanel D. et Salvatorelli G.** (1993). Microwave sterilization of enterobacteria. *Microbios*. **76** (309) : 263-270.
- 42- Salvatorelli G., Marchetti M.G., Betti V., Rosaspina S. et Finzi G.** (1996). Comparison of the effects of microwave radiation and conventional heating on *Bacillus subtilis* spores. *Microbios*. **87** : 169-174.
-

- 43- Sahin A., Eiley D., Goldfischer E.R., Stravodimos K.G., Zeren S., Isenberg H.D. et Smith A.D.** (1998). The *in vitro* bactericidal effect of microwave energy on bacteria that cause prostatitis. *Urology*. **52** (3) : 411-415; discussion 415-416.
- 44- Sastry S.K. et Palaniappan S.** (1991). The temperature difference between a microorganism and a liquid medium during microwave heating. *J Food Processing and Preservation*. **15** : 225-230.
- 45- Shin J.K. et Pyun Y.R.** (1997). Inactivation of *Lactobacillus plantarum* by pulsed-microwave irradiation. *J Food Science*. **62** (1) : 163-166.
- 46- Saalman E., Norden B., Arvidsson L., Hamnerius Y., Hojevik P., Connell K.E. et Kurucsev T.** (1991). Effect of 2.45 GHz microwave radiation on permeability of unilamellar liposomes to 5(6)-carboxyfluorescein. Evidence of non-thermal leakage. *Biochim Biophys Acta*.
- 47- Shcheglov V.S., Alipov E.D. et Belyaev I.Y.** (2002). Cell-to-cell communication in response of *E. coli* cells at different phases of growth to low-intensity microwaves. *Biochim Biophys Acta*. **1572** (1) : 101-106.
- 48- Taylor L.S.** (1981). The mechanisms of athermal microwave biological effects. *Bioelectromagnetics*. **2** (3) : 259-267.
- 49- Tajchakavit S., Ramaswamy H.S. et Fustier P.** (1998). Enhanced destruction of spoilage microorganisms in apple juice during continuous flow microwave heating. *Food Research International*. **31** (10) : 713-722
- 50- Thuery J.** (1989 a). Effets biologiques et applications médicales. p 337-338.
- 1- Vergne M.** (2000). Effets des champs électromagnétiques sur l'activité métabolique de la bactérie *Escherichia coli*. Thèse de Doctorat Biologie Santé, Limoges (2000LIM).
- 51- Vela G.R. et Wu J.F.** (1979). Mechanism of lethal action of 2.450-MHz radiation on microorganisms. *Appl Environ Microbiol*. **37** (3) : 550-553.
- 52- Verschaeve L. et Maes A.** (1998). Genetic, carcinogenic and teratogenic effects of radiofrequency fields. *Mutat Res*. **410** (2) : 141-165.
- 53- W.J., et De boer, E.** (2002). Isolation and characterization of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 from slaughter pigs and poultry. *Int. J. Food Microbiol*. **52**, pp67-75.
- 54- Wayland J.R., Brannen J.P. et Morris M.E.** (1977). On the interdependence of thermal and electromagnetic effects in the response of *Bacillus subtilis* spores to microwave exposure. *Radiat Res*. **71** (1) : 251-258.
- 55- Welt B.A., Tong C.H., Rossen J.L. et Lund D.B.** (1994). Effect of microwave radiation on inactivation of *Clostridium sporogenes* (PA 3679) spores. *Appl Environ Microbiol*. **60** (2) : 482-488.
-

## Référence bibliographique

---

- 56- Woo I.S., Rhee I.K. et Park H.D.** (2000). Differential damage in bacterial cells by microwave radiation on the basis of cell wall structure. *Appl Environ Microbiol.* **66** (5) : 2243-2247.
- 57- Weisbrot D.R., Khorkova O., Lin H., Henderson A.S. et Goodman R.** (1993). The effect of low frequency electric and magnetic fields on gene expression in *Saccharomyces cerevisiae*, *Bioelectrochemistry and Bioenergetics.* **31** (2) : 167-177
- 58- Welch W.J.** (1993). Heat shock proteins functioning as molecular chaperones: their roles in normal and stressed cells. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* **339** (1289) : 327-333.
- 59- York, N.R; et Jacobe, H.T.** (2010). UVA1 phototherapy: a review of mechanism andtherapeutic application. *International journal of dermatology*, 49(6), pp 623-30.
-