



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



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

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Microbiologie

قسم : ميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Générale et biologie Moléculaire. des microorganismes.

Intitulé :

***Contribution à l'étude de l'effet des nanomatériaux sur
les bactéries***

Présenté et soutenu par : *BERKANE Fatma*
CHANTI Ramzi

Le : 11/06/2017

Jury d'évaluation :

Encadreur : *DEHIMAT L'aid* (Pr - UFM Constantine).

Co-encadreur : *ATTAF Nadhir* (Pr - UFM Constantine).

Président du jury : *ARABET Dallel* (Dr - UFM Constantine).

Examinatrice: *ALMI Hiba* (Dr - UFM Constantine).

***Année universitaire
2016 - 2017***

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier de manière très particulièrement et à exprimer notre profonde reconnaissance au Professeur, DEHIMAT LAID notre encadreur, Nous le remercions pour le soutien et la confiance qu'il nous a accordée, ainsi que pour les conseils avisés qu'il a su nous prodiguer au cours de la discussion qui a été toujours fructueuse. Nous apprécions fortement vos hautes qualités scientifiques et valeurs humaines.

Nos cordiaux remerciements vont tout particulièrement à Mr. ATTAF Nadhir Professeur du département de la physique, pour nous avoir accueillis au sien de son équipe, nous le remercions ainsi que toute son équipe pour leurs précieux conseils et leurs encouragements.

Nous remercions vivement Melle ARABET Dallel docteur de l'UFM Constantine pour ses précieux conseils et ses encouragements. Nous la remercions aussi pour l'honneur qu'elle Nous fait en acceptant de présider le jury.

Nous remercions vivement Melle ALMI Hiba Docteur de l'UFM Constantine pour l'attention qu'elle a bien voulu porter à ce travail en acceptant de le juger. Qu'elle soit assurée de notre sincère reconnaissance.

*Nos vifs remerciements s'adressent au docteur Chabi et Mme
Guerguouri pour Leurs aide.*

*B. Rayane, ma sœur de toujours, permettez moi de vous remercier pour
votre soutien, votre disponibilité ainsi que pour votre aide.*

*Nos remerciements particuliers sont adressés à nos amies : Ahlam,
Marwa, Oumaima, Salma, Ibtisseme, Nardjess, Samira, Ramla et
Hadjar de nous avoir procuré l'aide quand nous en avions besoin.*

Ayoub et Sadek merci pour votre Aide et sympathie

*Un immense merci au personnel du laboratoire Samia, Nadia, Mouna et
Farid*

*Toutes nos salutations à tous nos collègues de la promotion du master
2017 pour les sympathiques moments qu'on a passé ensemble.*

*Que toute personne ayant participé de près ou de loin dans l'élaboration
de ce travail, trouve ici l'expression de nos
très vifs remerciements*

Liste des abréviations

ADH : Arginine dihydrolase

ATCC: American type culture collection.

CMI : Concentration minimale inhibitrice

CVD : Chemical Vapor Deposition

DRX : Diffraction des rayons X

H₂S : Hydrogène sulfuré

LDC : Lysine décarboxylase

MgO : Oxyde de magnésium

NaCl : Chlorure de sodium

NPs : Nanoparticules

ODC : Ornithine décarboxylase

ONPG : Ortho-Nitro-Phényl-Galactopyranoside

PVD : Physical vapor deposition

rpm : Rotation par minute.

TDA : Tryptophane désaminase

VP : Voges-Proskauer

ZnO : Oxyde de zinc

Liste des figures

Figure 1 : Représentation des différentes structures cristallines du ZnO	6
Figure 2 : Structure Rocksalt de MgO	8
Figure 3 : Variation du gap en fonction de la composition x (%)	9
Figure 4 : Principe de la DRX. a. Interférences des rayons X diffusés	10
Figure 5 : Données obtenues par DRX. a. Diagramme de diffraction b. Photographie de DRX des nanoparticules de TiO ₂ de structure cristalline anatase	11
Figure 6 : Photos représentative de la coloration de Gram de <i>P.aeruginosa</i> sous microscope optique (Gx100).....	15
Figure 7 : Photos représentative de la coloration de Gram de <i>S.aureus</i> sous microscope optique (Gx100).....	18
Figure 8 : Culture de <i>S. aureus</i> sur gélose au sang	19
Figure 9 : Photos représentative de la coloration de Gram d' <i>E.coli</i> sous microscope optique (Gx100).	21
Figure 10 : Photos représentative de la coloration de Gram de <i>Salmonella enterica</i> sous microscope optique (Gx100).....	24
Figure 11 : Photos représentative de la coloration de Gram de <i>Bacillus sp</i> sous microscope optique (Gx100).	27
Figure 12 : La solution blanche obtenu par la technique de précipitation des poudres de ZnO et MgO.....	31
Figure 13 : Les poudres de NPs avec différent pourcentage de dopage.....	32
Figure 14 : couche mince en verre recouverte par le matériau.....	32
Figure 15 : La pesée des ingrédients pour la préparation des milieux de culture	33
Figure 16 : Préparation des boîtes de pétri pour les tests.....	34
Figure 17 : Variation de la colonne de Mg FRX compté avec la concentration du ZnO dopé MgO et les couches minces MgO.....	38

Figure 18: Diffraction rayon X du ZnO pure, dopé 5, 25, 50 et 75 % Mg des couches minces.....	39
Figure 19 : Effet des NPs et de l'ATB sur la croissance des <i>Salmonella enterica</i>	40
Figure 20 : Effet des NPs et de l'ATB sur la croissance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	41
Figure 21 : Effet des NPs et de l'ATB sur la croissance d' <i>E.coli</i>	41
Figure 22 : Effet des NPs et de l'ATB sur la croissance de <i>Bacillus</i>	41
Figure 23 : Effet des NPs et de l'ATB sur la croissance de <i>Staphylococcus aureus</i>	42
Figure 24 : Effet des NPs dopés sur la croissance de <i>Salmonella enterica</i>	44
Figure 25 : Effet des NPs dopés sur la croissance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	44
Figure 26 : Effet des NPs dopés sur la croissance d' <i>E.coli</i>	45
Figure 27 : Effet des NPs dopés sur la croissance de <i>Bacillus</i>	45
Figure 28 : Effet des NPs dopés sur la croissance de <i>Staphylococcus aureus</i>	46

Liste des tableaux

Tableau 1 : Principales sources de nanoparticules.....	4
Tableau 2 : La classification de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15
Tableau 3 : La classification de <i>Staphylococcus aureus</i>	17
Tableau 4 : La classification d' <i>Escherichia coli</i>	21
Tableau 5 : La classification de <i>Salmonella enterica</i>	23
Tableau 6 : Caractères généraux et classification des <i>Salmonella</i>	25
Tableau 7 : La classification de <i>Bacillus sp.</i>	26
Tableau 8 : Tableaux des résultats de la diffusion sur gélose pour les Gram négatif.....	47
Tableau 9 : Tableaux des résultats de la diffusion sur gélose pour les bactéries Gram positif	49
Tableau 10 : Résultats du test antibactérien des couches minces Gram positif	52
Tableau 11 : Résultat du test d'activité antibactérienne pour les Gram négatif.....	54

Table des matières

Liste des abréviations.....	I
Liste des figures	II
Liste des tableaux.....	IV
Introduction	1
Synthèse bibliographique	3
I. Les Nanoparticules	3
I.1. Introduction	3
I.2. Définition des nanomatériaux	3
I.3. Les Nanoparticules.....	3
I.3.1. Définition.....	3
I.3.2. Les sources des nanoparticules.....	4
I.4. Les nanoparticules d'oxyde métallique.....	5
I.4.1. L'Oxyde de Zinc.....	5
I.4.1.1. L'élément zinc.....	5
I.4.1.2.L'Oxyde de Zinc.....	5
I.4.1.3. Processus général de formation de l'oxyde de zinc.....	6
I.4.1.4. Méthodes de synthèse de nano-objets d'oxyde de zinc.....	7
I.4.2. L'oxyde de Magnésium.....	7
I.4.2.1. Propriétés structurales de MgO.....	8
I.4.2.2. Méthodes de synthèse de L'oxyde de Magnésium.....	8
I.4.2.3. Propriétés structurales de $Mg_xZn_{1-x}O$	9
I.5.1. Identification de la structure cristalline par DRX.....	9
I.5.2. Principe de la technique.....	10
I.6. Les couches minces.....	10
I.6.1. Méthodes de dépôt de couches minces de ZnO.....	11
I.6.1.1 Définition	12
I.6.1.2. Principe général du procédé spray.....	12
I.7. Applications des couches minces.....	12
II. Les bactéries.....	13
II.1. Introduction.....	14
II.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14
II.2.1. Généralités.....	14

II.2.2. Classification	15
II.2.3. Caractères bactériologiques	15
II.2.4. Caractères cultureux	15
II.2.5. Caractères biochimiques	16
II.2.6. Pouvoir pathogène	16
II.2.7. Résistance aux antibiotiques	16
II.3. Staphylococcus aureus	17
II.3.1. Généralités	17
II.3.2. Classification	17
II.3.3. Caractères bactériologiques	18
II.3.4. Caractères cultureux	18
II.3.5. Caractères biochimiques	19
II.3.6. Pouvoir pathogène	19
II.3.7. Résistance aux antibiotiques	20
II.4. <i>Escherichia coli</i>	20
II.4.1. Généralité	20
II.4.2 Classification	21
II.4.3. Caractères bactériologiques	21
II.4.4. Caractères cultureux	22
II.4.5. Caractères biochimiques	22
II.4.6. Le pouvoir pathogène	22
II.5. <i>Salmonella enterica</i>	23
II.5.1 Généralité	23
II.5.2. Classification	23
II.5.3. Caractéristiques bactériologiques	24
II.5.4. Caractères cultureux	24
II.5.5. Caractères biochimiques	24
II.5.6. Le pouvoir pathogène	25
II.6. <i>Bacillus</i>	26
II.6.1 Généralité	26
II.6.2. Classification	26
II.6.3. Caractères bactériologiques	27
II.6.3. Caractères physiologiques.....	27

II.6.4. Caractères culturaux	27
II.6.5. Pouvoir pathogène	28
Matériel et méthodes	29
I. Matériel	29
I.1. Souches bactériennes	29
I.2. Milieux de culture.....	29
I.3. Appareils.....	29
I.4. Solvants et réactifs	30
II. Méthodologies	30
II.1. Synthèse des couches minces	30
II.2. Synthèse des NPs	31
III. Préparation des échantillons pour les tests antibactériens	32
➤ Les couches minces	32
➤ Les poudres en solution	32
III.1. Etape de préparation des milieux déshydratés	33
➤ Dissolution	33
➤ Stérilisation	33
III.2. Préparation des boîtes de pétri	34
III.3. Préparation des bactéries à tester	34
III.3.1. La coloration de Gram	35
III.4. Préparation de l'inoculum bactérien	35
III.4.1. Comptage des cellules	35
III.4.2. Protocole de comptage	35
IV. Détermination de la croissance par l'absorbance (densité optique)	36
V. Test de diffusion sur gélose	36
Résultats et discussion	38
I. Caractérisation des NPs et des couches minces	38
I.1. Propriétés chimiques	38
I.2. Propriétés structurales	39
II. Résultats des tests d'activité antibactérienne	40
II.1. Les résultats de l'absorbance des suspensions bactériennes.....	40
II.1.1. Comparaison entre l'effet antibactérien des NPs et celui d'un antibiotique	40
A/ En comparant les résultats de l'activité des NPs avec celle du témoin	43

B/ En comparant l'activité antibactérienne des NPs avec celle de l'antibiotique	43
II.1.2. Comparaison entre l'effet antibactérien des différents pourcentages de dopage....	44
II.2. Résultats des tests de diffusion sur gélose en utilisant les disques en papier filtre...	47
i. Tableaux des résultats de la diffusion sur gélose pour les bactéries Gram négatif	47
ii. Tableaux des résultats de la diffusion sur gélose pour les bactéries Gram positif	49
II.3. Résultats des tests de diffusion sur gélose en utilisant les lames de verre couvertes des couches minces de NPs	51
i. Résultats du test antibactérien des couches minces pour les bactéries à Gram positif.....	52
ii. Résultat du test d'activité antibactérienne pour les bactéries à Gram négatif.....	54
Conclusion	58
Références bibliographiques	59
Annexe	
Résumé	
المخلص	

Introduction

Introduction

Dans les années 1940, des millions de vies ont été sauvées grâce à la découverte d'antibiotiques. Cependant, avec l'utilisation croissante et parfois inappropriée des antibiotiques, de nombreuses souches bactériennes ont commencé à s'adapter et encore plus à développer des résistances face à cette thérapeutique. Cette résistance des bactéries aux antibiotiques est devenue une véritable préoccupation. Ce phénomène de résistance aux antibiotiques ne cesse d'augmenter et de se généraliser sur la quasi-totalité des espèces bactériennes et ; ajoutant à cela le problème des contaminations bactériennes et les infections causées par ces espèces, surtout les infections nosocomiales qui sont devenus un problème majeur de santé mondiale.

Comme on peut le constater, la recherche pour la conception et le développement de nouvelles substances à activité antibactérienne alternatives aux antibiotiques conventionnels constitue un enjeu scientifique très important. Les études effectuées dans ce contexte sont nombreuses, citons les antibactériens organiques tels que les acides organiques, les huiles essentielles, les bactériocines et les enzymes qui étaient largement étudiés. Récemment, les nanosciences et la nanotechnologie ont ouvert une nouvelle voie qui a révolutionné toutes les technologies dans le monde. En effet, ce passage de manipuler la matière dans ses dimensions nanométriques a permis d'apparaître et de manifester ses propriétés quantiques. Ce phénomène est dû aux faibles dimensions < 100 nm, proches de celles de l'atome, de la molécule, de la longueur d'onde de la lumière ou, dans notre cas, des bactéries.

Cette vision de la matière s'intéresse de manière significative aux matériaux et à l'amélioration de leurs propriétés physiques, chimiques et biologiques. Ainsi, la nanotechnologie offre un moyen d'améliorer l'activité antibactérienne des composés inorganiques.

Malgré la large portée que les nanoparticules d'oxydes métalliques ont comme agents antibactériens, ils posent des problèmes dans les applications pratiques en tenant compte des effets cytotoxiques. À cet égard, la considération des oxydes polymétalliques pour applications biologiques devient encore plus importante car ceux-ci peuvent fournir des effets synergiques et unifier les meilleures propriétés physico-chimiques de leurs composants. Par exemple, une forte efficacité antibactérienne spécifique d'un oxyde métallique peut être complétée par une non cytotoxicité d'un autre.

C'est pourquoi, la combinaison des nanoparticules ZnO et MgO a fait l'objet du travail présentés dans ce mémoire ayant pour but de confirmer l'activité antibactérienne de ces deux nanoparticules d'oxydes métalliques, Tester ce matériau et évaluer son activité antibactérienne pour différentes mixtures ZnO/MgO, ainsi que les oxydes purs en utilisant les deux formes : poudre de NPs et couche mince.

En vue de rendre compte de la démarche scientifique adoptée, ce manuscrit comportera trois parties :

- La première partie est une revue bibliographique qui se présente en deux grands axes : Un premier axe portera sur la définition, caractéristiques et utilisation des deux formes d'oxydes, les techniques de synthèses de chaque forme : (i) NPs ; (ii) couches minces, ainsi qu'aux méthodes de leur caractérisation. Un deuxième axe est destiné aux souches test utilisée, leurs caractéristiques culturaux, bactériologiques; leurs pouvoir pathogène et leurs résistances aux antibiotiques.
- La deuxième partie du manuscrit présentera le matériel et les méthodes utilisées, notamment la préparation de ces NPs, leurs dépôt en couche mince ainsi que l'étude de leurs activité antibactérienne.
- La troisième et dernière partie de ce manuscrit est une présentation des résultats obtenus, suivis de leur discussion. Enfin, nous terminons par une conclusion qui retrace l'ensemble des résultats importants obtenus le long de ce travail et nous dégageons quelques perspectives phares pour illuminer la continuité de cette recherche.

Synthèse bibliographique

I. Les Nanoparticules

I.1. Introduction

L'intérêt scientifique et commercial que représente les nanomatériaux aujourd'hui illustrent l'énorme défi lancé en 1959 par le prix Nobel du physicien Richard Feynman : « il y a plein de place en bas de l'échelle. Lorsque nous aurons quelques contrôles sur l'arrangement des atomes à une petite échelle, nous découvrirons que la matière possède des propriétés énormément plus étendue et qu'avec nous pourrons réaliser beaucoup plus de choses ». C'est en 1985, avec la découverte des nanoparticules de carbone que le terme « nanoparticules » est né (**Nachet, 2015**).

I.2. Définition des nanomatériaux

Il existe de nombreuses définitions du terme « nanomatériau » :

- La Commission européenne a proposé en octobre 2011, dans le cadre d'une recommandation, une définition pour le terme « nanomatériau ». Un nanomatériau est un matériau naturel, formé accidentellement ou manufacturé, contenant des particules libres, sous forme d'agrégat ou sous forme d'agglomérat, dont au moins 50% des particules, dans la répartition numérique par taille, présentent une ou plusieurs dimensions externes se situant entre 1 nm et 100 nm.
- Selon la norme ISO TS 80004-1, un nanomatériau est un matériau dont au moins une dimension externe est à l'échelle nanométrique, c'est-à-dire comprise approximativement entre 1 et 100 nm, ou qui possède une structure interne ou de surface à l'échelle nanométrique (**Ricaud et Witschger, 2012**).

I.3. Les Nanoparticules

I.3.1. Définition

Le terme de « nanoparticule » est utilisé lorsque la particule a au moins une de ses dimensions inférieure à 100 nm. Le rayon typique d'un atome étant de l'ordre de 0,1 nm, une nanoparticule peut-être constituée de quelques dizaines à plusieurs centaines d'atomes. Par exemple, les nanoparticules les plus célèbres, les fullerènes, sont constituées de seulement 60 ou 70 atomes de carbone. Leur très petite taille donne aux nanoparticules des surfaces spécifiques très importantes (**Zeyons, 2008**).

Cette caractéristique dimensionnelle confère à ces matériaux des comportements particuliers et des propriétés très intéressantes. Les nanotubes de carbone par exemple, sont 100 fois plus résistants que l'acier.

Le terme de nanoparticules fait référence à différentes familles de particules (**Sajid et al., 2015**) telles que :

- Les oxydes de métaux (titane, cuivre, zinc, aluminium, silicium),
- Les nanotubes de carbones, qui forment des fibres solides aux propriétés électriques particulières,
- Les fullerènes [C60, C70], utilisées pour améliorer les propriétés électriques et optiques de polymères ou pour des applications pharmaceutiques,
- Les nanopoudres d'argent, dont les propriétés antibactériennes sont mises à profit notamment dans le textile (**Khebbeb, 2015**).

I.3.2 Les sources de nanoparticules

On distingue trois types de nanoparticules en fonction de leur provenance (Tableau 1) :

- Les nanoparticules d'origine naturelle résultant essentiellement des phénomènes de nucléation et de condensation des gaz et vapeurs dans l'atmosphère.
- Les nanoparticules d'origine anthropogénique non-intentionnelle issues des procédés chauds tels que le soudage ou encore de la combustion des moteurs.
- Les nanoparticules d'origine anthropogénique intentionnelle ou nanoparticules manufacturées (**Simon-Beckers, 2008**).

Tableau 1 : Principales sources de nanoparticules (d'après **Oberdörster et al., 2005**).

Naturelles	Anthropogéniques	
	Non intentionnelles	Intentionnelles
Conversions gaz/particules	Combustion des moteurs	Nanomatériaux manufacturés
Feux de forêt	Centrales électriques	nanoparticules, nanotubes,
Lave de volcan	Incinérateurs	nanofilms
Virus	Avions	métaux, semi-conducteurs
Magnetites biogéniques :	Fumés de métaux	oxydes métalliques, carbone
bactéries, protozoaires,	(soudage, etc..)	
mollusques, arthropodes,	Fumés de polymères	
poissons, oiseaux,	Autres fumées	
cerveau humain	Surfaces chauffées	
Ferritine	Fritures, grillades	
	Moteur électrique	

I.4. Les nanoparticules d'oxyde métallique

Ils sont nombreux dans la nature, mais les plus courantes sont : les oxydes de titane (TiO_2), les oxydes de fer (Fe_2O_3), les oxydes de zinc (ZnO), les oxydes d'aluminium (Al_2O_3), la silice (SiO_2) et les oxydes du magnésium (MgO). Nous nous intéressons plus particulièrement ici aux nanoparticules ZnO et MgO .

I.4.1. L'Oxyde de Zinc

I.4.1.1. L'élément zinc

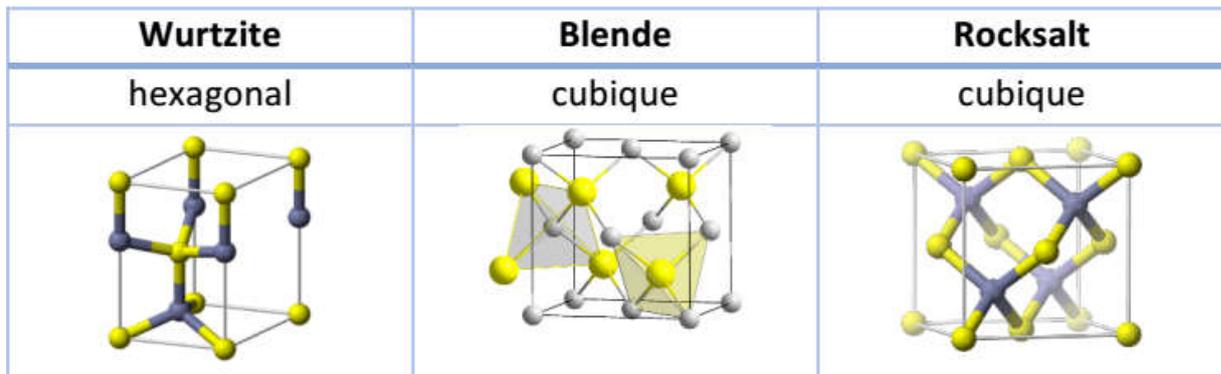
Le zinc (Zn) a été découvert au 13^{ème} siècle avant J.C en Inde lors de l'extraction du minerai de calamine. La première industrialisation a été réalisée par William Champion en 1738. Le zinc Zn appartient à la famille des métaux de transition, au groupe II (colonne 12 du tableau périodique de Mendeleïv) et possède la configuration électronique suivante : $[\text{Ar}] 4s^2 3d^{10}$.

Le zinc est un métal de couleur bleu-gris qui peut réagir avec l'humidité, l'oxygène, le dioxyde de carbone pour former par exemple une couche, insoluble, adhérente et protectrice, à base de carbonate de zinc. Au contact de l'eau, des taches blanchâtres constituées notamment d'hydroxyde et d'oxyde de zinc peuvent apparaître. Ces produits pulvérulents, également appelés rouille blanche, sont généralement peu adhérents et non protecteurs. Le zinc réagit avec des acides dilués en dégageant de l'hydrogène. L'état d'oxydation le plus couramment rencontré du zinc est +II (appelé ion zincique) (**Ngo Van, 2011**).

I.4.1.2. L'Oxyde de Zinc

ZnO est un composé binaire II-VI, il peut avoir trois structures cristallines (Figure 1): la forme cubique (Rocksalt), la forme hexagonale (Wurtzite) (**Ngo Van, 2011**), Zinc-Blende. Mais la structure la plus stable thermodynamiquement est la Wurtzite, tandis que la structure Zinc-Blende ne peut être stabilisée que par épitaxie sur des substrats cubiques et la structure Rocksalt peut être obtenue par application d'une pression hydrostatique externe sur la structure Wurtzite (**Ozgur et al., 2005**).

Figure 1 : Représentation des différentes structures cristallines du ZnO : cubique (Rocksalt), blende, et hexagonale (Wurtzite) (Ngo Van, 2011) Les atomes de couleur gris sont les atomes d'oxygène.



I.4.1.3. Processus général de formation de l'oxyde de zinc

Le processus mis en jeu repose sur trois étapes distinctes :

- Etape de nucléation des particules élémentaires : appelées « nucleis » se forment par un processus soit homogène soit hétérogène. La nucléation homogène correspond à la condensation spontanée des atomes du métal, c'est une propriété de stabilité intrinsèque. La nucléation est initiée par la présence d'impuretés, de défauts ou même de sels de métaux nobles comme $[AgNO_3, K_2PtCl_4]$ qui constituent le point de départ de la croissance des particules du ZnO (Mercier *et al.*, 2000; Ducamp-Sanguesa *et al.*, 1992).
- Etape de croissance : les « nucleis » ainsi formés grossissent, par un phénomène de croissance cristalline, jusqu'à atteindre une taille optimale. La croissance peut être décrite par deux mécanismes: (a) l'adsorption d'atomes sur le noyau en croissance ou (b) la coalescence de clusters. Ces deux types de croissance ont été observés par le groupe de F. Fievet, lors de la synthèse en milieu polyol de nanoparticules sphériques de ZnO de 10 à 20 nm (Poul *et al.*, 2001).
- Etape dite de mûrissement d'Ostwald : les étapes de nucléation et de croissance sont suivies d'une dernière étape appelée mûrissement d'Ostwald qui permet d'obtenir des particules dont la dispersion en taille diminue avec le temps. Ce vieillissement des particules est un phénomène thermodynamique, qui repose sur le fait qu'une interface est coûteuse en énergie (Ngo Van, 2011).

Le contrôle de ces étapes nécessite un contrôle de la taille, la forme et l'organisation des particules.

I.4.1.4. Méthodes de synthèse de nano-objets d'oxyde de zinc

Ils existent plusieurs méthodes chimiques pour l'élaboration de nanoparticules d'oxyde de zinc décrites dans la littérature, à savoir :

- La méthode « sol-gel » : ce procédé correspond à la transformation d'un système liquide appelé « sol » vers un état colloïdal appelé «gel». Le sol correspond à la dispersion d'un précurseur organométallique ou d'un sel dans un solvant organique (alcool: méthanol, éthanol, etc...). Le passage du «sol» au «gel» s'effectue dans un premier temps par une série de réactions d'hydrolyse et de polymérisation inorganique pour former une suspension colloïdale et dans un deuxième temps par un processus de vieillissement. L'état solide est obtenu par calcination du « gel » **(Znaidi, 2010)**.

- La microémulsion : cette méthode permet de former des microréacteurs (micelles inverses) en dispersant un milieu réactionnel polaire (eau, alcool) au sein d'une phase apolaire (huile, ex. n-alcane). La stabilisation de la microémulsion est assurée par un surfactant ou tensioactif qui permet de former une barrière entre ces phases. La taille et la forme des particules dépendent principalement des proportions de la phase dispersée et du surfactant au sein de la phase continue **(Ngo Van, 2011)**.

- La précipitation: formation d'une phase solide au sein d'une solution liquide. La précipitation est un procédé rapide, consistant en l'addition dans la solution d'un agent rendant le produit insoluble ou modifiant le pH **(Jolivet, 1994)**.

I.4.2. L'oxyde de Magnésium

L'oxyde de Magnésium (MgO) est un oxyde largement répandu, caractérisé par des propriétés basiques fortes. Il est d'un grand intérêt catalytique, soit comme support, soit comme promoteur. L'oxyde de magnésium est un matériau modèle des cristaux ioniques : la faible électronégativité du magnésium, et la forte électronégativité de l'oxygène font que la structure de l'oxyde de magnésium peut s'expliquer uniquement grâce à des interactions entre des particules ponctuelles chargées **(Matsui, 1989)**.

I.4.2.1. Propriétés structurales de Magnésium

Le composé binaire II-VI, MgO cristallise dans la structure Rocksalt (NaCl), qui est sa structure la plus stable thermodynamiquement. Dans cette structure, la base comporte un atome de Mg et un atome de O séparés par une demi-diagonale du cube, telle que c'est montré sur la Figure (2). Dans la structure Rocksalt (type B1), chaque atome de Mg est entouré par six atomes de O, et vice versa, lié entre eux par une liaison ionique (**Benharrabts, 2007**).

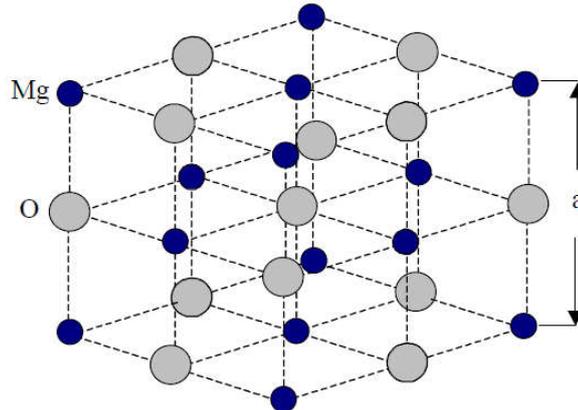


Figure 2 : Structure Rocksalt de MgO (**Kittel, 1980**).

I.4.2.2. Méthodes de synthèse de L'oxyde de Magnésium

L'oxyde de Magnésium (MgO) est un oxyde polyvalent selon ses larges applications, telles que: la catalyse, traitement des déchets dangereux, matériaux anti-microbiens, matériaux réfractaires, matériaux super conducteurs.

La méthode la plus classique pour la synthèse de MgO est celle de la décomposition thermique de plusieurs sels de magnésium (**Nagappa et al., 2007; Jeon et al., 2013**); cependant, les particules de MgO résultants possèdent inévitablement des tailles de particules relativement grandes et non uniformes et une faible surface spécifique, ce qui n'est pas préférable pour les applications catalytiques. Jusqu'à présent, des efforts considérables ont été consacrés pour développer de nouveaux matériaux d'oxyde mésoporeux possédants des structures uniformes. Actuellement, il y a eu plusieurs méthodes pour le synthétiser, par exemple :

Les nanoparticules cristallines de MgO ont été préparé par Piya Ouarai pryvan et coll. (**Ouarai pryvan et al., 2009**) par procédé sol-gel, l'agent structurant c'était le chlorohydrate

Laurylamine; L'oxyde a présenté une phase cristalline ultra pure et une surface spécifique de l'ordre de $94 \text{ m}^2/\text{g}$.

Dans une autre étude, M. Bhagiyalakshmi et coll (**Bhagiyalakshmi et al., 2011**) ont réussi à immobiliser le magnésium à différentes teneurs sur le carbone mésoporeux par synthèse directe; le matériau était testé dans l'adsorption de dioxyde de carbone.

I.4.2.3. Propriétés structurales de $\text{Mg}_x\text{Zn}_{1-x}\text{O}$

La structure cristalline du $\text{Mg}_x\text{Zn}_{1-x}\text{O}$ dépend de x D'où pour $x \leq 0.35$, la structure cristalline est hexagonale, et pour $x \geq 0.8$, la structure cristalline est cubique (Figure 3).

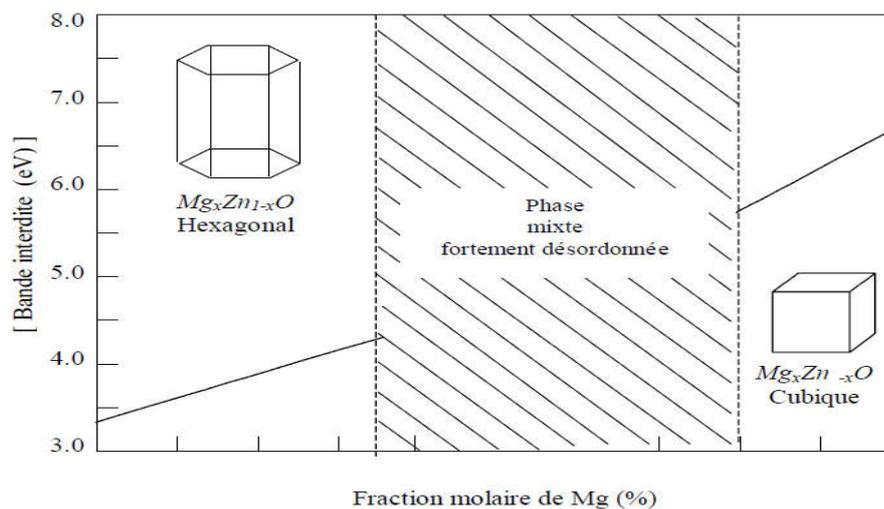


Figure 3 : Variation du gap en fonction de la composition x (%) (**Chauveau et al.**).

I.5. Caractérisation physico-chimique des nanoparticules

Il existe plusieurs méthodes. Parmi elles :

- Microscopie électronique à transmission (MET)
- Surface spécifique BET
- Spectroscopie des photoélectrons X (XPS)
- Spectrométrie d'émission au plasma (ICP/OES)

- Analyse Carbone/Soufre et Oxygène/N (azote)
- Spectroscopie de réflexion diffuse (DRS)

I.5.1. Identification de la structure cristalline par DRX

La diffraction des rayons X (DRX) est une méthode utilisée pour identifier la nature et la structure de produits cristallisés principalement, c'est-à-dire ayant un arrangement périodique et ordonné d'atomes constitutifs.

I.5.2. Principe de la technique

Les rayons X, comme toutes les ondes électromagnétiques, provoquent dans les atomes un déplacement du nuage électronique par rapport au noyau. Ces oscillations induites provoquent une réémission d'ondes électromagnétiques de même énergie et de même longueur d'onde appelée diffusion Rayleigh. Ainsi lorsque les rayons X frappent un morceau de matière, ils sont diffusés par chacun des atomes de la cible. Or ces rayons X diffusés interfèrent entre eux. Si les atomes sont ordonnés comme dans les cristaux, alors ces interférences vont être constructives dans certaines directions (les ondes s'additionnent), et destructives dans d'autres (les ondes s'annulent). Ces interférences d'ondes diffusées forment le phénomène de diffraction (voir figure 4.a).

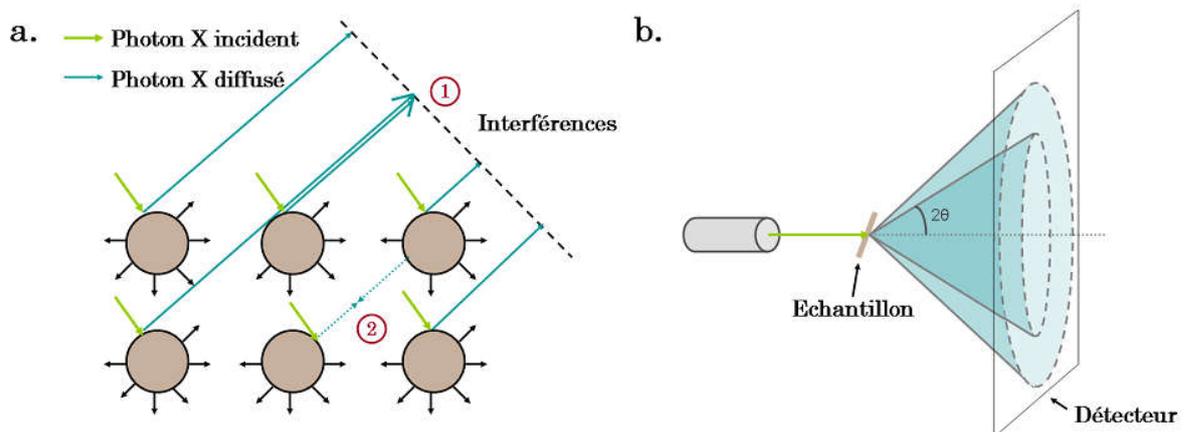


Figure 4 : Principe de la DRX. a. Interférences des rayons X diffusés : (1) interférences constructives (2) interférences destructives. b. Détection des rayons diffusés.

Si le faisceau de rayons X qui éclaire l'échantillon polycristallin est ponctuel, il y a alors une symétrie de révolution autour de l'axe du faisceau. Les rayons diffractés forment ainsi des cônes dont l'axe est le faisceau incident (voir figure 4.b).

Un détecteur à rayons X, détecte l'intensité des rayons diffusés en fonction de l'angle 2θ dans un plan perpendiculaire au faisceau incident. Un diagramme de diffraction $I = f(2\theta)$ ou diffractogramme est ainsi obtenu (voir figure 5).

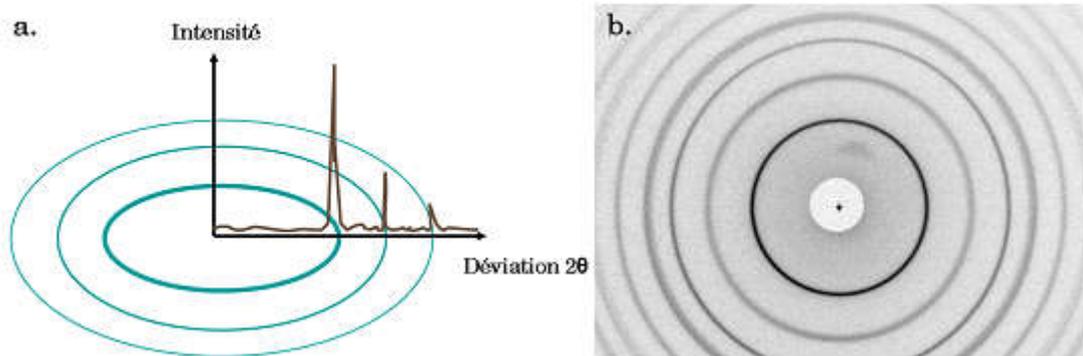


Figure 5 : Données obtenues par DRX. a. Diagramme de diffraction b. Photographie de DRX des nanoparticules de TiO₂ de structure cristalline anatase.

Or une poudre formée d'une structure cristalline donnée va toujours donner lieu à des pics de diffraction dans les mêmes directions, avec des hauteurs relatives à peu près constantes. Ainsi le diagramme de diffraction forme une véritable signature de la structure cristalline d'un composé (**Simon-Beckers, 2008**).

I.6. Les couches minces

On appelle couche mince, un matériau dont l'épaisseur est très petite devant les deux autres dimensions (largeur et longueur). En pratique une couche est considérée mince lorsque son épaisseur est inférieure à quelques 100 nm. Cette faible distance entre les deux surfaces limites du matériau entraîne des modifications des propriétés physiques selon cette dimension. L'intérêt des couches minces provient de la particularité des propriétés physico-chimiques acquises par le matériau selon cette direction (**Benelmadjat, 2007; Tranchant, 2007**). C'est pourquoi les couches minces jouent un rôle de plus en plus important en nanotechnologie et connaissent un développement de plus en plus accéléré depuis ces deux dernières décennies (**Benelmadjat, 2007**).

Selon la nature du processus, les techniques utilisées pour la synthèse de couches minces de ZnO peuvent être divisées en deux groupes : les processus chimiques et les processus physiques.

I.6.1. Méthodes de dépôt de couches minces de ZnO

Les couches minces d'oxyde de zinc sont réalisées en utilisant une grande variété de techniques dues à la diversité des applications de ce matériau.

Elles peuvent être obtenues en opérant en phase liquide ou en phase vapeur, et par des procédés physiques ou chimiques.

Par voie liquide, les techniques les plus fréquentes sont : le dépôt chimique en solution (**Niesenet *al.*, 2002**), l'électro-dépôt par synthèse électrochimique (**Peulon et *al.*, 1998**), la voie sol-gel (**Natsume et Sakata, 2002**) Par voie vapeur, on distingue les méthodes physiques « PVD » les méthodes chimiques « CVD ».

Dans le cadre de ce mémoire, nous présenterons la technique que nous avons utilisée : spray ultrasonique, à partir d'une solution d'acétate de Zinc, sur des substrats en verre chauffés. Cette méthode entre dans le groupe des procédés chimiques en phase liquide.

I.6.1.1 Définition

Spray pyrolyse est le nom le plus courant donné à cette technique .Il se compose de : spray et pyrolyse. Spray est un mot anglais qui indique jet d'un liquide en fines gouttelettes, lancé par un pulvérisateur. La pyrolyse, a diverses définitions « la pyrolyse est un processus par lequel un solide (ou un liquide) subit, sous l'effet de la chaleur et sans interaction avec l'oxygène ou tous autres oxydants une dégradation des produits chimiques à des plus petites molécules volatiles » (**Stauffer, 2003**).

I.6.1.2. Principe général du procédé spray

Une solution de différents composés réactifs est vaporisée à l'aide d'un atomiseur puis projetée, sur un substrat chauffé. La température du substrat permet l'activation de la réaction chimique entre les composés (**Cauillaud et *al.*, 1992 ; Wuled Lenggoro et *al.*, 2000**). L'expérience peut être réalisée à l'air (**Vaufrey, 2003**), et peut être préparée dans une enceinte ou bien dans une chambre de réaction sous un vide, environ, de 50 Torr (**Mazon, 1991**). Cette méthode basée sur le transfert de la chaleur et de la masse (**Robles, 1972**), dans des conditions instables, génère le déplacement des gouttelettes vers le substrat. La description de la formation des films par la méthode Spray pyrolyse peut être résumée comme suit:

- Formation des gouttelettes à la sortie du bec et évaluation de leur taille moyenne.
- Décomposition de la solution des précurseurs sur la surface du substrat. Selon la température de ce dernier, plusieurs modes de décomposition de la solution source sont possibles. Un dépôt CVD classique se produit lorsque la température du substrat permet l'évaporation du solvant et la diffusion des vapeurs de précurseurs vers le substrat pour produire à son contact une réaction en phase hétérogène.

I.7. Applications des couches minces

Les couches minces trouvent plusieurs applications qui peuvent être classées en deux groupes **(Taga, 2001)**:

- Les Application passives : Les couches minces sont conçues pour la passivation, la protection contre l'oxydation et l'usure de la surface, et elles sont aussi utilisées comme barrière de diffusion ainsi que pour la détection.
- Les Application actives : Les couches minces sont exploitées de plus en plus fortement dans le domaine de la mécanique (revêtements protecteurs contre la corrosion et l'usure), l'optique, l'optique avancé, verre antireflet, la biotechnologie, la microélectronique interconnexion, le contact Schottky, le contact ohmique, les couches minces semi-conductrices.

II. Les bactéries

II.1. Introduction

Les bactéries sont des micro-organismes procaryotes, qui ne possèdent pas d'organite ni de noyau. La cellule bactérienne est entourée par une membrane plasmique et une enveloppe rigide, la paroi, qui lui donne sa forme. On distingue les bactéries à Gram positif et à Gram négatif sur une différence de composition pariétale. La paroi des bactéries Gram positif est riche en acide teichoïque et en acide diaminopimélique qui sont absents ou moins abondants chez les Gram négatif, lesquelles ont une paroi plus riche en lipides (**Vidic, 2013**).

Nous avons étudié 5 souches bactériennes qui sont : *E.coli*, *Bacillus sp*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*.

II.2. *Pseudomonas aeruginosa*

II.2.1. Généralités

La bactérie *Pseudomonas aeruginosa*, plus communément appelé « bacille pyocyanique », du grec « puon » = pus et « kuanos » = bleu foncé, a été isolée pour la première fois en 1882 par Gessard, pharmacien des armées (**Avril et al., 2000**). Le genre *Pseudomonas* fut créé en 1900 par Migula. *P. aeruginosa* en est l'espèce la plus connue, la plus répandue et la plus pathogène (**Carpentier et al., 2003**).

P. aeruginosa est une bactérie ubiquitaire. Elle vit à l'état saprophyte dans l'environnement. On la trouve dans les milieux humides, l'eau, le sol et à la surface des végétaux. Elle peut coloniser les muqueuses digestives et la peau de l'homme et des animaux, où cette bactérie vit en commensalité (**Avril et al., 2000**).

Pseudomonas aeruginosa présente fréquemment dans le milieu hospitalier elle atteint essentiellement les sujets débilisés (**Ben messaoud, 2004**). Ainsi, la principale source de contamination des patients hospitalisés est donc leur flore endogène mais l'environnement est également incriminé (**Talon et al., 1995; Bergmans et al., 1998; Minchella et al., 2010**).

II.2.2. Classification

Tableau 2 : La classification de *Pseudomonas aeruginosa* (Prescott harley, 2003).

Domaine	<i>Bactéria</i>
Phylum	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre	<i>Pseudomonadales</i>
Famille	<i>Pseudomonadaceae</i>
Genre	<i>Pseudomonas</i>
Espèce	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

II.2.3. Caractères bactériologique

Ce sont des bacilles fins à Gram - ($0.5 \times 3 \mu\text{m}$), non capsulés, mobiles, leur extrême mobilité est due à une ciliature polaire en général monotriche, Gram négatif (Hafiane et Ravaoarino, 2008).

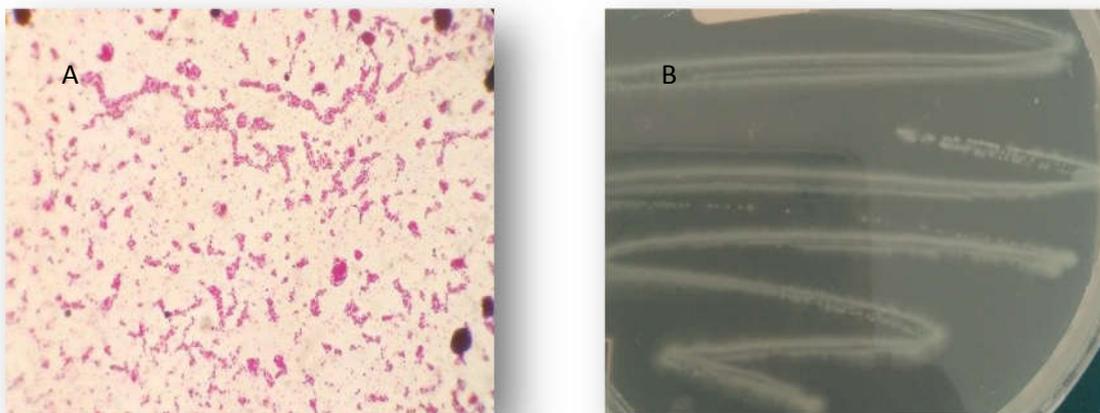


Figure 6 : Photos représentative de (A) la coloration de Gram de *P.aeruginosa* sous microscope optique (Gx100). (B) *P.aeruginosa* repiquée sur gélose nutritive.(photos prises par le binôme)

II.2.4. Caractères cultureux

P. aeruginosa est une bactérie mésophile capable de se multiplier à l'intérieur d'un large spectre de température allant de 4 à 45°C. La température optimale de croissance se situe

entre 30 et 37°C (**Elmeskini, 2011**). Elle peut être isolée en culture sur des milieux ordinaires ou sur des milieux rendus sélectifs par addition d'inhibiteur, tel que le cétrimide (**You Essoh, 2013**).

Aérobies strictes, les bactéries de l'espèce *Pseudomonas aeruginosa* pouvant utiliser pour respiration les nitrates comme accepteurs d'hydrogène, en conséquence dans les milieux anaérobies contenant des nitrates, elle cultive dans toute la hauteur de tube (**Lilet et al., 1983**).

Le bouillon est troublé avec développement d'un voile en surface, parfois limité à un simple anneau adhérent aux parois du tube. La culture, très alcaline, répand une odeur aromatique. Après quelques jours, un sédiment visqueux s'accumule en profondeurs (**Lilet et al., 1983**).

II.2.5. Caractères biochimiques

Ps.a n'est pas capable de fermenter les sucres mais peut les attaquer (le glucose en particulier) par voie oxydative, entraînant une acidification du milieu.

D'autres caractères sont utiles pour le diagnostic d'espèces :

Indole -, urée -, TDA -, H₂S -, gélatine +, ONPG -, Nitrate-réductase +, LDC -, ODC -, ADH + (**Decoster, 2003**).

II.2.6. Pouvoir pathogène

P. aeruginosa est l'exemple type de la bactérie opportuniste. En Europe, cette bactérie est le troisième pathogène responsable d'infections nosocomiales après *Escherichia coli* et *S. aureus* (**Bentzmann et Plésiat, 2011**). Elle touche principalement des personnes dont l'immunité est affaiblie localement (opérations chirurgicales, brûlures) ou de façon systémique (cancers). L'infection par le bacille pyocyanique peut être favorisée par les traitements à base d'immunosuppresseurs, de corticoïdes ou encore d'antibiotiques à large spectre (**Husson et al., 2007**).

II.2.7. Résistance aux antibiotiques

Pseudomonas aeruginosa possède une résistance naturelle à un grand nombre d'antibiotiques en raison de la production d'une bêta-lactamase chromosomique inductible de classe C qui n'est pas inhibée par le clavulanate, et d'une mauvaise perméabilité membranaire.

P.aeruginosa est donc naturellement résistante aux pénicillines des groupes V, G, M et A, à la plupart des céphalosporines de troisième génération et aux quinolones de première génération. *P.aeruginosa* est aussi généralement résistante à la kanamycine (**Pool, 2004**).

II.3. *Staphylococcus aureus*

II.3.1. Généralités

S.aureus, communément appelé staphylocoque doré, est un staphylocoque à coagulase positive. Il a été nommé ainsi par Rosenbach en 1884 en raison de la production de caroténoïdes donnant à la bactérie sa pigmentation de surface caractéristique (**Salangsang et al., 2010**).

C'est la bactérie commensale de la peau et des muqueuses dont la niche principale est la fosse nasale. La colonisation est définie comme le portage asymptomatique de la bactérie et concerne environ 30 à 50% de la population générale au niveau nasal (**Dziekan et al., 2000**).

D'autres sites peuvent également être colonisés par *S. aureus* tels que le pharynx, l'intestin, la peau et les aisselles. Si l'Homme est le principal réservoir, ces bactéries sont également retrouvées dans l'environnement (eau, air, surface, aliments) et chez l'animal, notamment d'élevage (**Couderc, 2015**).

II.3.2. Classification

Selon la 9^{ème} édition du Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, les staphylocoques sont classés parmi les bactéries à Gram positif pauvres en GC, dans le phylum des firmicutes (**Prescot et al., 2010**)

Tableau 3 : La classification de *Staphylococcus aureus*.

Classe	<i>Bacilli</i>
Ordre	<i>Bacillales</i>
Famille	<i>Staphylococcaceae</i>
Genre	<i>Staphylococcus</i>
Espèce	<i>Staphylococcus aureus</i>

II.3.3. Caractères bactériologiques

S. aureus est une coque à Gram positif d'environ 0,7 à 1,2 micromètre de diamètre qui se trouve seul, en paires ou en grappe dans divers milieux liquides et solides (**El Haddad, 2014**). Ils sont immobiles, non sporulés. La majorité des *S. aureus* sont capsulés mais ils peuvent perdre leur capsule après culture (**Robert, 2013**). La plupart des souches de *S. aureus* élaborent un pigment qui donne une couleur jaune-orangé aux colonies, d'où le nom de staphylocoque doré (**Benjamin, 2010**).

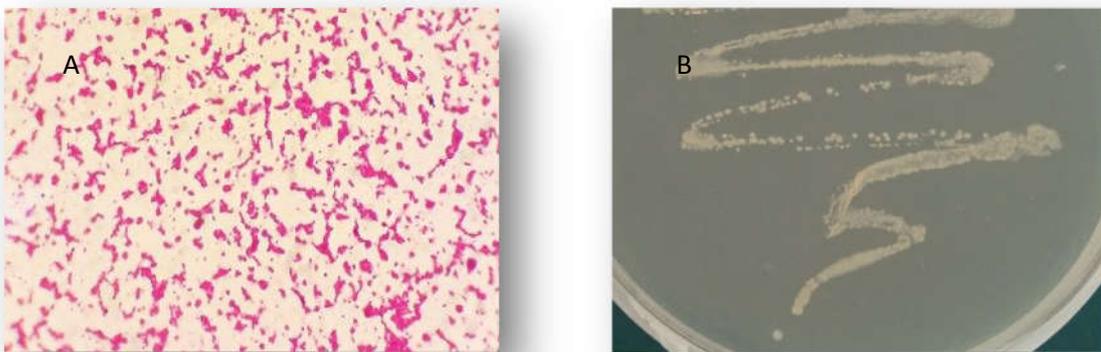


Figure 7 : Photos représentative de (A) la coloration de Gram de *S.aureus* sous microscope optique (Gx100). (B) *S.aureus* repiquée sur gélose nutritive. (photos prises par le binôme)

II.3.4. Caractères cultureux

Le *S. aureus* est une bactérie à croissance aéro-anaérobie facultative, et sa croissance sur milieu ordinaire est facile entre 10 et 45 °C. Sur une gélose profonde en tube, les bactéries cultivent tout au long du tube donc le caractère aéro-anaérobie facultatif est confirmé. Après 24h d'incubation. (**Robert, 2013**).



Figure 8 : Culture de *S. aureus* sur gélose au sang.
<http://desbiol.univ-paris5.fr/B15-obs07/index.html>

II.3.5. Caractères biochimiques

S. aureus a un métabolisme aérobie prédominant et anaérobie facultatif. Il est *catalase positive* à la différence des bactéries du genre *Streptococcus* qui n'ont pas de métabolisme aérobie (**Anonyme, 2003**).

Il est Oxydase(-), Catalase(+), Glucose(+), ADH(+), Mannitol(+), Coagulase(+), phosphatase(+) et DNASE(+) (**Osman, 2011**).

Les souches de *S. aureus* sont: indole -, acétone +, uréase +, réduisant le téllurite de potassium et les nitrates en nitrites, et produisant de l'ammoniaque à partir de l'arginine (**Kloos et al., 1990**).

II.3.6. Pouvoir pathogène

S. aureus n'est ni un pathogène strict ni un germe opportuniste pur. Il partage avec les bacilles pyocyaniques le premier rôle dans les infections hospitalières. *S. aureus* tient également une place prédominante dans les infections osseuses primitives (ostéomyélites) ou post-chirurgicales, ainsi que dans les arthrites suppurées (**Nauciel et Vilde, 2005**).

S. aureus est responsable de nombreux types d'infections chez l'homme et compte parmi les agents pathogènes les plus souvent isolés des infections nosocomiales et communautaires (**Vincenot et al., 2008; Kurlenda et Grinholc, 2012; Otto, 2012**).

On peut classer les infections à staphylocoques dorés en deux groupes :

- Les infections suppuratives qui dépendent de la prolifération du germe. Le staphylocoque est présent dans le site infectieux et le patient guérit de l'infection après élimination de la bactérie.
- Les infections dites toxiques où une toxine sécrétée par le staphylocoque est responsable des symptômes **(Ghernaout-Benchouk, 2013)**.

II.3.7. Résistance aux antibiotiques

Le staphylocoque doré ne possède aucune résistance naturelle aux antibiotiques. L'utilisation massive des pénicillines G et V a conduit dès 1941 à l'émergence de bactéries résistantes à ces molécules. *S. aureus* possède une très grande plasticité génétique. Sous la pression de sélection des antibiotiques, il a très rapidement acquis des gènes portés par des plasmides codant pour des pénicillinases **(Grundmann et al., 2006)**.

Ces enzymes sont capables d'hydrolyser le cycle béta-lactame des pénicillines G, V et A. Le traitement des infections causées par ces souches est simple. Il repose sur l'utilisation de pénicillines semi-synthétiques stables à l'action des pénicillinases type oxacilline ou alors d'amoxicilline additionnée d'un inhibiteur de béta-lactamase type acide clavulanique. La détection de ce phénotype est aisée en laboratoire. Elle peut se faire soit à l'aide d'un test utilisant un réactif chromogène type Céfinase® (Biomérieux) ou indirectement par la détermination de la CMI à la pénicilline G (système automatisé, disque ou e-test). Actuellement, plus de 90% des souches isolées sont résistantes à la pénicilline G **(Dumitrescu et al., 2010)**

II.4. *Escherichia coli*

II.4.1. Généralité

Le genre *Escherichia* comprend plusieurs espèces, dont seul *E.coli* (colibacille) est potentiellement pathogène pour l'homme. *Escherichia coli* est l'espèce bactérienne qui a été la plus étudiée par les fundamentalistes pour des travaux de physiologie et de génétique **(Avril et al., 2000)**.

La bactérie connue sous le nom d'*Escherichia coli*, a été décrite la première fois en 1885 par le pédiatre allemand *Théodor Escherich* qui travaillait sur la flore intestinale des nourrissons.

Il décrit que cette bactérie, colonise le tractus intestinal dès les 1ers jours de la vie et en devient rapidement la bactérie aéro-anaérobie facultative prédominante (**Kaper et al., 2004**).

L'espèce *E. coli* est considérée comme un hôte normal, c'est-à-dire commensal, de la microflore digestive de l'homme et de la plupart des animaux à sang chaud.

La niche écologique de cette bactérie se trouve dans la couche de mucus sécrétée par l'épithélium du côlon. Etant donné qu'elle est hautement compétitive dans cet environnement (**Freter et al., 1983; Kaper et al., 2004; Russo et al., 2000**).

II.4.2 Classification

Tableau 4 : La classification d'*Escherichia coli* selon le **Bergey's manual 2012**.

Règne	<i>Bactéria</i>
Embranchement	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gamma proteobacteria</i>
Ordre	<i>Enterobacteriales</i>
Famille	<i>Enterobacteriaceae</i>
Genre	<i>Escherichia</i>
Especce	<i>Escherichia.coli</i>

II.4.3. Caractères bactériologiques

E. coli est un bacille, donc de forme cylindrique (bâtonnets) ou coccobacillaire, gram négatif uniformément coloré, non sporulé, de 2µm à 3µm de long sur 0.7µm de large. Il se présente soit seul ou groupé le plus souvent par deux (diplobacilles), très rarement ils sont rencontrés en amas. Ils sont mobiles grâce à une ciliature péritriche (**Garba, 2012**).



Figure 9 : Photos représentative de (A) la coloration de Gram d'*E.coli* sous microscope optique (Gx100). (B) *E.coli* repiquée sur gélose nutritive. (Photos prises par le binôme)

II.4.4. Caractères culturels

E. coli est mésophile avec une température de croissance, comprise entre 15°C et 45°C avec un optimum à 37°C. Sa culture admet une grande tolérance de variation de pH et le pH optimum est de 7,5 (**Anonyme, 2004**). Se développent bien sur un bouilliant ou sur une gélose après 18 à 24 heures d'incubation à 37°C (**Ramoul, 2013**).

II.4.5. Caractères biochimiques

E. coli est caractérisée par la production d'indole à partir du tryptophane et l'absence de culture sur milieu citrate de Simmons due à son inaptitude à utiliser le citrate comme seule source de carbone. Ces bactéries sont par ailleurs dépourvues d'uréase, ne produisent pas d'acétone, métabolite intermédiaire de l'acide pyruvique, mis en évidence par la réaction de Voges-Proskauer et sont donc VP négatives, ne produisent pas d'hydrogène sulfuré, ne possèdent pas d'arginine dihydrolase mais possèdent une lysine décarboxylase (**Ramoul, 2013**).

II.4.6. Le pouvoir pathogène

En outre, bien que la majorité des souches de *E. coli* soient commensales banales, certaines d'entre elles sont pathogènes et connues des médecins comme étant à l'origine de pathologies intestinales (**Levine, 1987**) ou extra-intestinales (**Pohl, 1993**). *E. coli* est responsables d'infections extra-intestinales, infections urinaires, infections abdominales, infections méningées néonatales (*E.coli* k1), septicémies avec choc septique due à l'endotoxine O et infection intestinale (**Avril et al., 2000**).

II.5. *Salmonella enterica*

II.5.1 Généralité

Eberth en 1880 découvre l'agent responsable de la fièvre typhoïde dont la culture de la bactérie a été possible en 1884 par Gaffky. Le genre *Salmonella* a été utilisé après que le bactériologiste américain Daniel Salmon eut isolé en 1886 (Encyclopédie ENCARTA 2004), avec quelques collègues, une bactérie provenant du porc (maintenant connu comme *Salmonella choleraesuis* ou *enterica*) qui était considérée comme étant la cause de la fièvre

porcine (choléra du porc). En 1896 Widal a mis en évidence la diversité antigénique des souches de salmonelles. A ce jour, on a isolé plus de 2500 sérotypes de salmonelles.

Depuis les premières observations rapportées par Eberth jusqu'à nos jours, le genre *Salmonella* n'a pas cessé de présenter une importance considérable dans les domaines vétérinaires et sur le plan médical, tant par les pertes économiques dues à la maladie animale, que par la forte incidence chez l'homme ; des fièvres typhoïdes et des toxi-infections alimentaires à salmonelles (Silue, 2005).

II.5.2. Classification

Tableau 5 : La classification de *Salmonella enterica* selon le Bergey's Manuel (2001) (Scaria, 2008).

Domaine	<i>Bactéria</i>
Phylum	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gamma proteobacteria</i>
Ordre	<i>Enterobacteriales</i>
Famille	<i>Enterobacteriaceae</i>
Genre	<i>Salmonella</i>
Especce	<i>Salmonella enterica</i>
Sous espèce	<i>enterica.</i>

II.5.3. Caractéristiques bactériologiques

Salmonella est un bacille Gram négatif non sporulant, dont la mobilité propre est assurée par des flagelles péritriches et qui est de type aéro-anaérobie. Ces bâtonnets de 2 à 3 µm de long sont des bactéries mésophiles, peu exigeantes d'un point de vue nutritionnel (David, 2009).

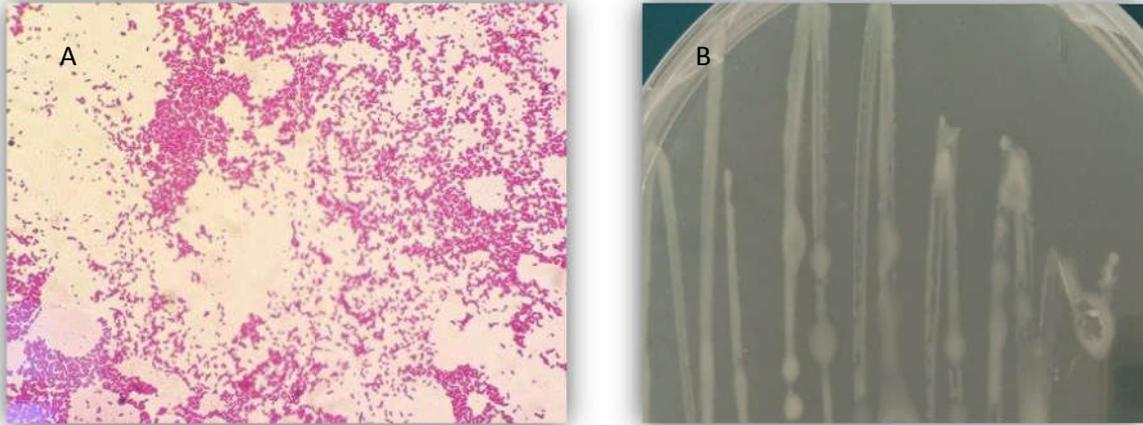


Figure 10 : Photos représentative de (A) la coloration de Gram de *Salmonella enterica* sous microscope optique (Gx100). (B) *Salmonella enterica* repiquée sur gélose nutritive. (Photos prises par le binôme)

II.5.4. Caractères culturaux

Salmonella est une bactérie mésophile, son optimum de croissance est proche de la température corporelle des animaux à sang chaud (35- 43°C) (**LeMinor, 1984**).

La plupart des salmonelles peuvent être cultivées sur milieu minimum, sans facteur de croissance. Cependant, quelques sérotypes présentant une spécificité d'hôtes tels que *S. Gallinarum*, *Typhi* ou *Paratyphi A* sont auxotrophes pour certains facteurs de croissance à un pH voisin de la neutralité et à une température optimale de croissance de 37°C

II.5.5. Caractères biochimiques

Les salmonelles possèdent un nitrate réductase et leur culture ne donne pas de réaction d'oxydase. Elles sont capables de fermenter le glucose avec ou sans production de gaz et sont aéro-anaérobies facultatives (**LeMinor, 1984**). Au sein de la famille des entérobactéries, les caractères permettant l'identification biochimique du genre *Salmonella* sont :

Uréase -, tryptophane désaminase -, indole -, acétoïne -, fermentation du lactose -, thiosulfate réductase +, la décarboxylation fréquente de la lysine et de l'ornithine et la capacité fréquente de croître sur milieu au citrate de Simmons (**Korsak et al., 2004**).

Les caractères biochimiques permettent de différencier les espèces et les sous-espèces.

Tableau 6 : Caractères généraux et classification des *Salmonella* (Le Minor, Popoff et al. 1986).

+ : positif pour 90 à 100% des souches ; - : négatifs pour 90 à 100% des souches ; d : variable selon les souches.

Propriétés et caractères biochimiques	<i>Salmonella enterica</i>						<i>S. bongori</i>
	Habitat	Hommes et animaux à sang chaud		Animaux à sang froid et environnement			
Sous-espèce	<i>enterica</i>	<i>salamae</i>	<i>arizonae</i>	<i>diarizonae</i>	<i>houtenae</i>	<i>indiana</i>	
Nombre de sérovars (2005)	1504	502	95	333	72	13	22
<u>Caractères biochimiques :</u>							
ONPG (2h)	-	-	+	+	-	d	+
Gélatinase à 36°C	-	+	+	+	+	+	-
β-glucuronidase	d	d	-	+	-	d	-
γ-glutamyl transférase	d	+	-	+	+	+	+
Culture sur KCN	-	-	-	-	+	-	+
Dulcitol	+	+	-	-	-	d	+
Malonate	-	+	+	+	-	-	-
Galacturonate	-	+	-	+	+	+	+
L(+)-tartrate	+	-	-	-	-	-	-
Salicine	-	-	-	-	+	-	-
Sorbitol	+	+	+	+	+	+	-
Lyse par le phage O1	+	+	-	+	-	+	+

II.5.6. Le pouvoir pathogène

Les salmonelloses se traduisent le plus fréquemment par des gastro-entérites. Les différentes sortes d'expression de l'infection à *Salmonella* répertoriées sont: gastro-entérite, fièvre typhoïde, septicémies, formes localisées et portage chronique.

Chez les volailles, le portage sain est fréquent : la maladie peut évoluer de manière inapparente chez des anciens malades ou des porteurs sains qui sont excréteurs permanents ou épisodiques. En effet l'absorption d'eau ou d'aliments contaminés ne provoque pas systématiquement une infection symptomatique chez les individus. Chez les malades guéris, certains restent porteurs temporaires, d'autres deviennent porteurs chroniques indépendamment de l'antibiothérapie. Celle-ci n'a aucune incidence sur le portage et pourrait même le favoriser (Bonhomme, 2003).

II.6. *Bacillus*

II.6.1 Généralité

Les études taxonomiques ont donné la preuve que le genre *Bacillus* est très diversifié. Tout au long des années 1980, une grande controverse tournait autour de la question de savoir si *Bacillus* était un genre unique ou pouvait être divisé en plusieurs genres (**Gibbons et Murrey., 1978; Garcia et al., 1982**), tels que suggéré par l'analyse de séquence d'ARNr 16S et des études d'hybridation d'ADN (**Nasina et al., 2001**).

Les *Bacillus* sont ubiquitaires car leurs spores leur confèrent une grande résistance. On en trouve dans les sols qui consistent le principal réservoir, dans l'eau de mer, dans l'eau douce et sur les plantes. On en trouve également dans les aliments, et même dans les produits « stérilisés » alimentaires ou médicamenteux à cause de la thermorésistance des spores (**Decoster, 2003**).

II.6.2. Classification

Le genre *Bacillus* est très hétérogène et comprend au moins 36 espèces.

Tableau 7 : La classification de *Bacillus sp.*

Règne	<i>Bactéria</i>
Embranchement	<i>Firmicutes</i>
Classe	<i>Bacilli</i>
Ordre	<i>Bacillales</i>
Famille	<i>Bacillaceae</i>
Genre	<i>Bacillus (Cohn, 1872)</i>
Espèce	<i>B. cereus,</i> <i>B. thuringiensis,</i> <i>B. mycoides,</i> <i>B. anthracis,</i> <i>B. weihenstephanensis,</i> <i>B. pseudomycoides</i>

II.6.3. Caractères bactériologique

Le genre *Bacillus* correspond à des bactéries en forme de bâtonnets (1,2 à 10 µm de long), chimio-hétérotrophes, généralement mobiles (présence de flagelles péritriches), Ce sont des bactéries aérobies strictes ou facultatives (**Loison, 2013**).

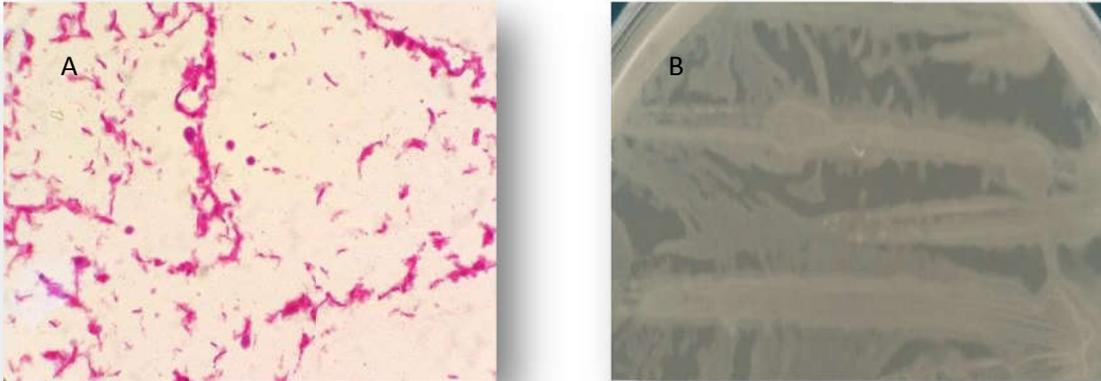


Figure 11 : Photos représentative de (A) la coloration de Gram de *Bacillus sp* sous microscope optique (Gx100). (B) *Bacillus sp* repiquée sur gélose nutritive. (photos prises par le binôme)

II.6.3. Caractères physiologiques

Les caractères physiologiques des *Bacillus* sont impressionnants. Ils peuvent dégrader la plupart de la matière organique animale ou végétale (cellulose, amidon, protéines, hydrocarbures...) par la production d'enzymes extracellulaires. Ils sont hétérotrophes, nitrifiants, dénitrifiants, fixateurs d'azote, précepteurs de fer, oxydants le sélénium, oxydants et réduisants le manganèse. Ces microorganismes sont des chimiolithotrophes facultatifs, acidophiles, alcalophiles, psychrophiles, thermophiles, halotolérants, ou halophiles et sont capables de croître à des valeurs de pH, de température et de concentrations de sel où peu d'autres organismes peuvent survivre (**Holt et al., 1994**).

II.6.4. Caractères culturaux

- Température optimale variable de 28°C à 40°C selon les espèces ; la plupart se développent mieux à 30°C qu'à 37°C.

- La sporogénèse ne se fait que dans certaines conditions bien particulières :
- présence d'O₂ et d'un certain degré d'humidité
- Germes présentant une grande résistance grâce aux spores :
- résistance thermique : 10 min à 95°C
- résistance dans le temps : survie de nombreuses années dans le sol (**Demay, 2009**).

II.6.5. Pouvoir pathogène

Bacillus anthracis est l'espèce la plus pathogène, responsable du "charbon" qui atteint les animaux, mammifères (ovins, caprins), certains oiseaux (autruches, canards), des insectes et leurs larves et occasionnellement l'homme.

Bacillus cereus occasionne des intoxications alimentaires mais aussi, et surtout chez les sujets fragiles, des septicémies, méningites, infections respiratoires et des myonécroses.

Bacillus subtilis, *licheniformis*, *sphaericus* sont également impliqués au cours d'intoxications alimentaires.

Certaines espèces, entomopathogènes (*B. thurigiensis*, *larvae*) sont utilisées à l'état de spores sous forme de poudre répandue à la surface des eaux stagnantes pour détruire les larves de moustiques (**Decoster, 2003**).

Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

Le présent travail, a été réalisé au niveau du Laboratoire N° 11 (Laboratoire de Microbiologie) de la faculté des sciences de la nature et de la vie, département Microbiologie Générale et Moléculaires, Université des frères Mentouri Constantine 1.

I. Matériel

I.1. Souches bactériennes

Pour l'évaluation de l'activité antibactérienne, quatre souches bactériennes ont été utilisées à savoir: *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Salmonella enterica* (NCTC 8017), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538P), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) et une souche clinique du genre *Bacillus*. Les souches utilisées ont été récupérées au près du Centre Hospitalo-universitaire (CHU) Benbadis de Constantine. Elles ont été conservées dans le milieu gélose nutritive. Ces espèces bactériennes sont considérées représentatives des germes les plus courants de contamination bactérienne. Elles possèdent aussi différentes résistances qui donnent une grille d'appréciation finale significative de l'efficacité des NPs et des couches minces testées.

I.2. Milieux de culture

Pour l'activité antibactérienne le milieu Mueller Hinton, le bouillon nutritif et la gélose nutritive (Annexe 1) ont été utilisés. En effet il s'agit des milieux non sélectifs et qui comportent des ions favorisant une bonne diffusion des NPs. De plus, tout le "nécessaire d'épreuve" (pipettes, micropipettes, boîtes de Pétri, etc.) pour les tests bactériologiques ont été utilisés pour la réalisation des activités microbiologiques.

I.3. Appareils

La réalisation de ce travail a nécessité l'utilisation de plusieurs appareils:

- Un équipement de dépôt de couches minces par spray pyrolyse : un atomiseur à ultrason, un précurseur, un système de chauffage de substrat avec régulateur de température.
- Un four électrique, une centrifugeuse pour la préparation des poudres de NPs.
- Microscope optique.
- Autoclave.

- Etuve bactériologique à 37°C avec agitateur.
- Vortex
- Plaque chauffante avec agitateur.
- Hôte à flux laminaire.
- Spectrophotomètre de type UV-VIS de marque JENWAY 6305 pour la mesure des densités optiques.

I.4. Solvants et réactifs

La liste des solvants et réactifs utilisés est la suivante :

- L'acétate de zinc $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Zn}$ et le nitrate de magnésium MgNO_3 des précurseurs des couches minces lors de la technique de pyrolyse de pulvérisation.
- Le chlorure de zinc ZnCl_2 , le sulfate de magnésium MgSO_4 , l'acide acétique $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ et une base NaOH ont été utilisées lors de la technique de précipitation des poudres de ZnO et MgO .
- De l'eau distillée a été utilisé comme solvant.
- Le violet de Gentiane, Lugol, alcool acétone et la fushine pour la coloration de Gram.

II. Méthodologies

II.1. Synthèse des couches minces

Les couches minces du ZnO pure et MgO pure ainsi que leurs différents mélanges ont été obtenus par la technique de la pyrolyse de pulvérisation en atmosphère d'air.

La préparation des deux solutions homogènes par dissolution de l'acétate de zinc $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Zn}$, $2\text{H}_2\text{O}$ (0,1 M) comme précurseur de zinc et de nitrate de magnésium MgNO_3 , $6\text{H}_2\text{O}$ (0,1 M) comme précurseur de magnésium dans 100 ml d'eau distillée individuellement à une température ambiante.

Pour la solution de pulvérisation, faire varier le rapport atomique de Mg dans l'ordre de ZnO pure (mg % =0), Mg, ZnO dopé (mg % =5, 25) et des mixtures ZnO-MgO (Mg % =50 et 75) et MgO pure.

Dans un bain à ultrasons, les substrats de verre ont été nettoyés avec l'acétone pendant 10 min, puis rincer à l'eau distillée pendant 15 min pour éliminer toutes les graisses et les résidus. Enfin, les substrats sont essuyés et laisser sécher avant le dépôt.

Les dépôts sur les substrats de verre portés à 450°C par un système automatisé de pulvérisateur avec un atomiseur à ultrasons, de débit 10 ml/h, alors que la distance entre le bec et le substrat a été fixé à 6.8 cm. Afin de pulvériser la solution, l'air sec est utilisé comme gaz porteur. Le temps de dépôts était fixé à 5 min.

II.2. Synthèse des NPs

Pour la synthèse des NPs, 2,72 g de poudre de $ZnCl_2$ et 8g de NaOH ont été dissous dans 200 ml d'eau distillée pour obtenir une solution à molarité 0,1 M et 1M, respectivement. Alors que pour le précurseur de magnésium, 1,8 g de $MgSO_4$ a été dissous dans 150 ml d'eau distillée pour obtenir une solution 0,1 M.

Par ailleurs, 5 ml de $C_2H_4O_2$ a été ajouté comme surfactant et agité pendant 20min. Puis une solution NaOH (2M) a été ajoutée ; mélanger et homogénéiser en continu jusqu'à ce que le pH atteigne 8, puis on agite pendant 1 heure.

La solution de couleur blanche qui en résulte est ensuite centrifugé à 4000 tr/min pendant 20 min, le gel blanc qui précipitera sera recueilli et lavé plusieurs fois avec de l'eau distillée pour enlever toutes les impuretés solubles et ions. Séchés dans un four électrique de 12h à 80°C puis broyer pour obtenir la poudre (Figure 12 et 13).



Figure 12 : La solution blanche obtenu par la technique de précipitation des poudres de ZnO et MgO.



Figure 13 : Les poudres de NPs avec différent pourcentage de dopage.

Pour le ZnO dopé MgO (0%, 5%, 15% et 25% MgO) les échantillons ont été chauffés dans un four électrique pendant 2h à 180°C. Tandis que, pour le MgO dopé ZnO (50%, 75% et 100% MgO) les échantillons ont été recuits à 350°C pendant 3h pour former les nano-cristaux.

III. Préparation des échantillons pour les tests antibactériens

➤ Les couches minces

Les substrats sont coupé soigneusement à l'aide d'un coupe-verre, la coupe a été effectuée directement sur la couche mince pour éviter son détachement et sa déformation. Pour chaque pourcentage de dopage on a préparé deux échantillons de forme carré un petit avec 05mm de coté (Figure 14) et un moyen de 15 mm de coté.



Figure 14 : Couche mince en verre recouverte par le matériau.

➤ Les poudres en solution

Les NPs à différents pourcentage de dopage sont mélangées avec de l'eau distillée (2mg/ml), et agités énergiquement pendant 15 min à température ambiante. Les solutions obtenues ont ensuite été filtrées à l'aide d'un filtre en coton pour ne garder que les NPs en suspension.

III.1. Etape de préparation des milieux déshydratés

➤ Dissolution

1. Pesé la quantité appropriée des milieux déshydratés (Figure 15).
2. Ajouté progressivement le volume d'eau nécessaire a la reconstitution.
3. Agité lentement et régulièrement pour solubiliser les composants et répartir la gélose de façon homogène.
4. Porté à ébullition les milieux contenant de l'agar avant de répartir en flacon, homogénéisé la suspension avant la répartition.
5. Mesure du pH et si nécessaire ajusté le pH avec une solution stérile d'hydroxyde de sodium à 40g/l (c(NaOH) 1mol/L) ou de l'acide chlorhydrique 36.5g/L à (c(HCl) 1mol-L).
6. Répartir le volume du milieu requis dans des flacons (**Biokar Diagnostics, 2015**).



Figure 15 : La pesée des ingrédients pour la préparation des milieux de culture.

➤ Stérilisation

1. Les milieux de culture répartis en flacon sont stérilisés par autoclavage à 121°C pendant 15 minutes.
2. Laisser reposer à température ambiante pendant quelques minutes.
3. Les milieux de culture préparés sont conservés au réfrigérateur à 2-8 °C jusqu'à utilisation (**Biokar Diagnostics, 2015**).

III.2. Préparation des boîtes de pétri

- Faire fondre les milieux gélosés au bain marie a une température de 95°C jusqu'à homogénéisation du milieu de culture.
- Coulé sous la hôte a flux laminaire le milieu de culture gélosé (a une température de 44-47°C) dans les boîtes de pétri de façon a obtenir une épaisseur de 4mm d'épaisseur pour les boîtes de 90mm (Figure 16).
- Laisser refroidir et solidifier les milieux en boîte sous hôte a flux lamellaire avec un couvercle ouvert pour éviter la formation de gouttelette d'eau de condensation sur le couvercle (**Biokar Diagnostics, 2015**).



Figure 16 : Préparation des boîtes de pétri pour les tests.

III.3. Préparation des bactéries a testé

Les cinq souches bactériennes à tester, sont repiquées sur la gélose nutritive (Annexe 1), les boîtes sont incubées à 37°C pendant 18h à 24 h. Ensuite, deux à trois colonies de chaque culture sont inoculées dans le bouillon nutritif (Annexe 1), les suspensions bactériennes sont ensuite placées dans une étuve réglée à 37°C pendant 18h à 24 h.

N.B.: Cette préparation sera répétée la veille de chaque test afin d'avoir toujours une population bactérienne jeune pour nos test.

III.3.1. La coloration de Gram

C'est un test confirmatif pour s'assurer que nous avons des bactéries à Gram+ et des bactéries à Gram-.

- Réaliser un frottis et le fixer à la flamme.
- Verser le Violet de Gentiane sur la lame ; laisser en contact 1 minute.
- Jeter le colorant et finir de le chasser par la solution de Lugol ; laisser agir le Lugol environ 30 sec.
- Faire couler de l'alcool sur la préparation ; rincer immédiatement à l'eau.
- Recouvrir la préparation de Safranine fushine, laisser agir environ 1 min. Laver abondamment à l'eau.
- Sécher au dessus de la flamme d'un bec Bunsen ou délicatement entre deux feuilles de papier filtre fin.

III.4. Préparation de l'inoculum bactérien

La densité de l'inoculum bactérien est un élément primordial et elle doit être ajustée selon les standards et le test utilisé; dans notre étude la densité est réglée après le comptage des nombre de cellule dans chaque suspension des souches testées en utilisant la cellule de Malassez.

III.4.1. Comptage des cellules

Une cellule de Malassez : est une lame spéciale quadrillée qui permet le comptage de différents types de cellules.

III.4.2. Protocole de comptage

- Homogénéiser la suspension bactérienne.
- Prélever un échantillon de la suspension bactérienne avec une pipette Pasteur.
- Remplir la chambre de comptage de la lame à numération en plaçant l'extrémité de la pipette contre l'encoche de la lamelle et en laissant le liquide passer par capillarité dans la chambre.
- Attendre au moins 5 minutes, la cellule bien à l'horizontal, en chambre humide, avant d'entreprendre le comptage (les éléments cellulaires doivent sédimenter).

- Au grossissement moyen du microscope, faire la mise au point sur la grille et on compte le nombre de cellules présentes dans 10 rectangle. Si ce nombre est trop élevé on fait une dilution décimale.
- Calculer le nombre moyen de cellules par rectangle et ramener le résultat obtenu en éléments par ml c.à.d. UFC/ml (Annexe 2).

IV. Détermination de la croissance par l'absorbance (densité optique)

Après avoir effectué les dilutions des suspensions bactérienne ainsi que le comptage par les cellules de Malassez, une charge bactérienne de $10^5 - 10^6$ UFC/ml et 0.2 ml de chaque solution des NPs (avec différent pourcentage de dopage) à une concentration de 1 mg/ml sont inoculés dans un bouillon nutritif. Un tube témoin est inoculé pour chaque une des cinq souches testé.

L'incubation a été réalisée à 37°C pendant 24 h sous agitation de 200rpm. Par ailleurs, la D.O a été mesuré par un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 600 nm de chaque tube à T_0 , T2h, T4h, T20h et T24h et les résultats sont notés dans un tableau spécifique pour chaque souche bactérienne (Annexe 3).

Pour les tubes témoin le bouillon nutritif sera utilisé comme blanc lors du calibrage du spectrophotomètre tandis que c'est le bouillon nutritif plus le NPs pour les autres afin d'évité les interférences avec ces derniers.

N.B : pour l'activité antibactérienne de l'ATB, la méthode utilisée est la même avec les mêmes conditions sauf que les solutions des NPs sont remplacées par l'antibiotique (Amoxicilline) avec une concentration de 1mg/ml.

V. Test de diffusion sur gélose

Les bactéries tests sontensemencées en surface (0.1 ml avec une charge de 10^6 UFC/ml) sur le milieu Muller-Hinton et sur la gélose nutritive. Les boites sont laissées à température ambiante. Après séchage à la température ambiante, des disques stériles en papier Wattman de 05 mm de diamètre, imbibés avec la solution des NPs à différent pourcentage de dopage, sont aseptiquement déposés à l'aide d'une pince stérile à la surface des milieux Muller-Hinton et la gélose nutritive, préalablementensemencés.

Les boites sont laissées deux heures à 4°C pour permettre une pré-diffusion du contenu de chaque disque, puis, incubées à 37°C pendant 18 à 24 h. La lecture est réalisée et toutes zones

d'inhibition de croissance autour des disques même de faible diamètre, est considérée comme résultat positif. Les manipulations sont répétées trois fois.

N.B. : pour les couches minces, la méthode utilisée est le test de la diffusion sur gélose avec les mêmes conditions (ensemencement sur gélose nutritif) sauf que les disques sont remplacés par les lames en verre recouverte de la couche mince des NPs.

Résultats et discussion

Résultats et Discussion

I. Caractérisation des NPs et des couches minces

I.1. Propriété chimique

La composition chimique des NPs Mg dopé ZnO et des couches minces MgO, a été analysée par la fluorescence Ray-X. Dans ces analyses, les pics des deux métaux Zn et Mg détectés par fluorescence sont corrélés aux éléments chimiques présents dans l'échantillon analysé, les intensités relatives des lignes de fluorescence fourniront l'information sur les concentrations relatives des différents éléments présents dans le matériau.

Dans la figure 17, nous avons représenté, sous forme d'historgramme, les variations des intensités de Mg et Zn respectivement pour les échantillons dopés ; notre objectif été de confirmer l'incorporation du Mg dans ZnO et voir si sa variation est en bon accord avec les conditions initiales de proportionnalité entre Mg et Zn dans le précurseur.

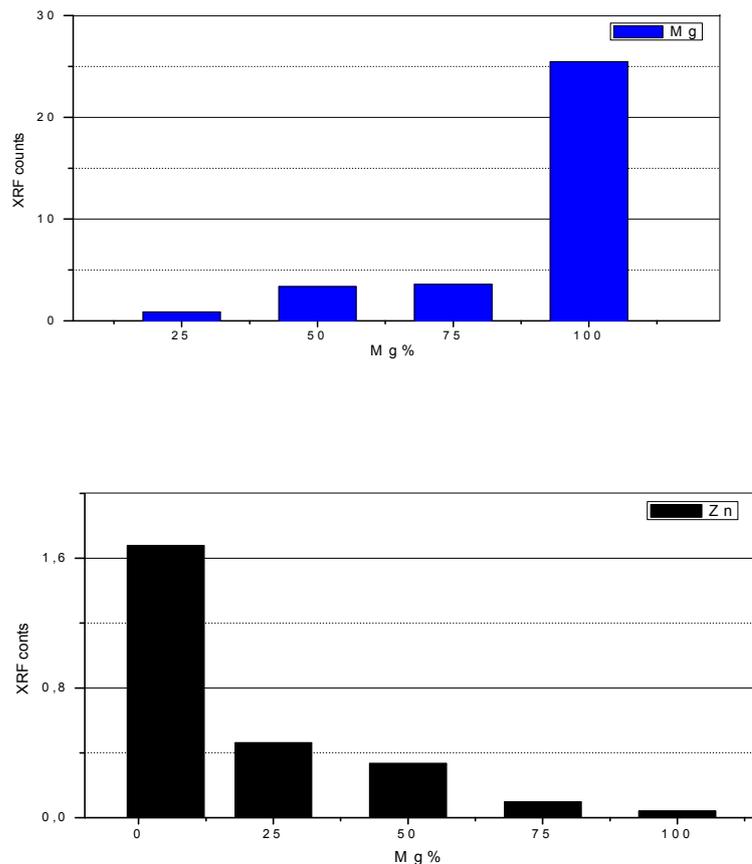


Figure 17 : Variation de la colonne de Mg FRX compté avec la concentration du ZnO dopé MgO et les couches minces MgO.

Il est bien claire que le pourcentage du Mg dans le film post déposé s'accroît proportionnellement au pourcentage imposé dans la solution initiale (précurseur) ; ce qui confirme la présence de cet élément dans les couches minces. Il augmente proportionnellement au fur et à mesure que nous augmentons la concentration de Mg ; la variation inverse est également justifiée pour l'élément Zn. Cette évolution de la concentration de Mg se fait au détriment de Zn.

I.2. Propriété structurale

L'analyse structurale du ZnO pure et dopé Mg est réalisée par une mesure de la diffraction des rayons X, les diffractogrammes obtenus pour chaque échantillon ZnO-MgO en couches minces sont regroupé dans la Figure 15. Cette analyse nous a permis de confirmer que les deux matériaux ZnO et MgO coexistent ensemble, le premier (ZnO) sous forme polycristalline avec plusieurs pics de diffraction tandis que le second (MgO) reste sous forme amorphe car il ne montre pratiquement aucun pic de diffraction. Cette différence dans la forme du matériau s'explique par la différence entre les énergies de cristallisation de chacun. Le MgO se cristallise avec des températures de substrat supérieures à 450°C. Cette analyse nous permet de calculer les caractéristiques de la micro structure cristallographique telle que la texture et la taille des cristallites.

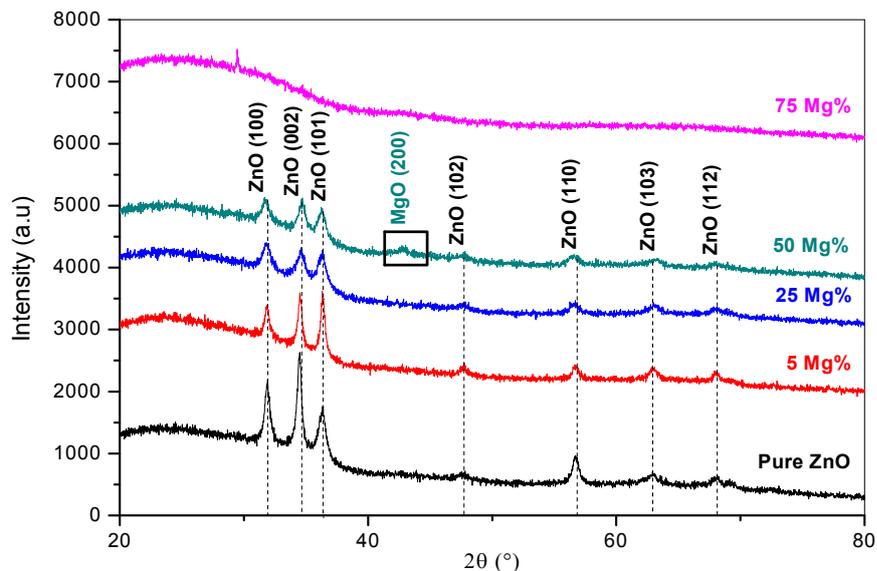


Figure 18: Diffraction rayon X du ZnO pure, dopé 5, 25, 50 et 75 % Mg des couches minces.

II. Résultats des tests d'activité antibactérienne

II.1. Les résultats de l'absorbance des suspensions bactériennes

Les résultats sont en deux axes, basés sur les types d'information recherchées et présentés dans les graphes de la manière suivante :

II.1.1. Comparaison entre l'effet antibactérien des NPs et celui d'un antibiotique

Ces graphes présentent l'activité des NPs ZnO et MgO sur les suspensions bactériennes tests comparée avec une suspension témoins de chaque souche test et aussi à l'activité de l'Amoxiciline. Cette activité est mesurée par la densité optique.

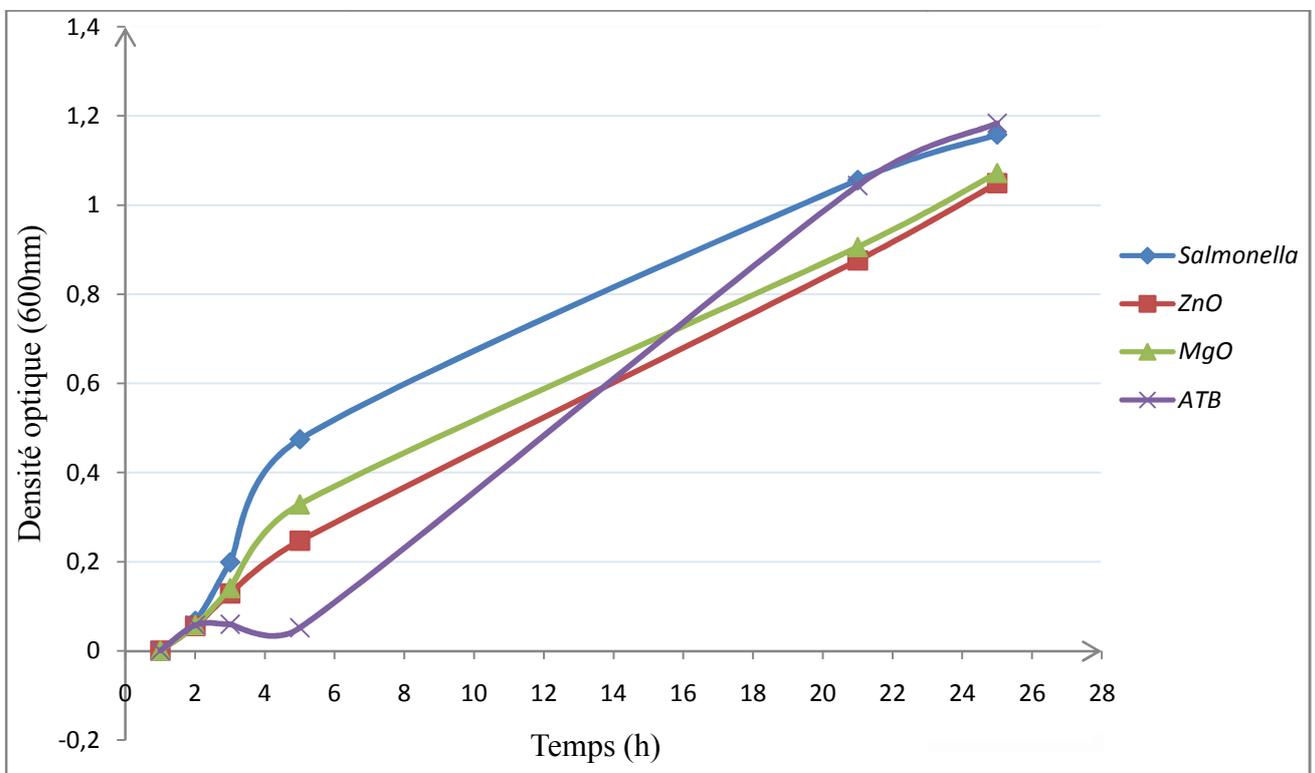


Figure 19 : Effet des NPs et de l'ATB sur la croissance des *Salmonella enterica*.

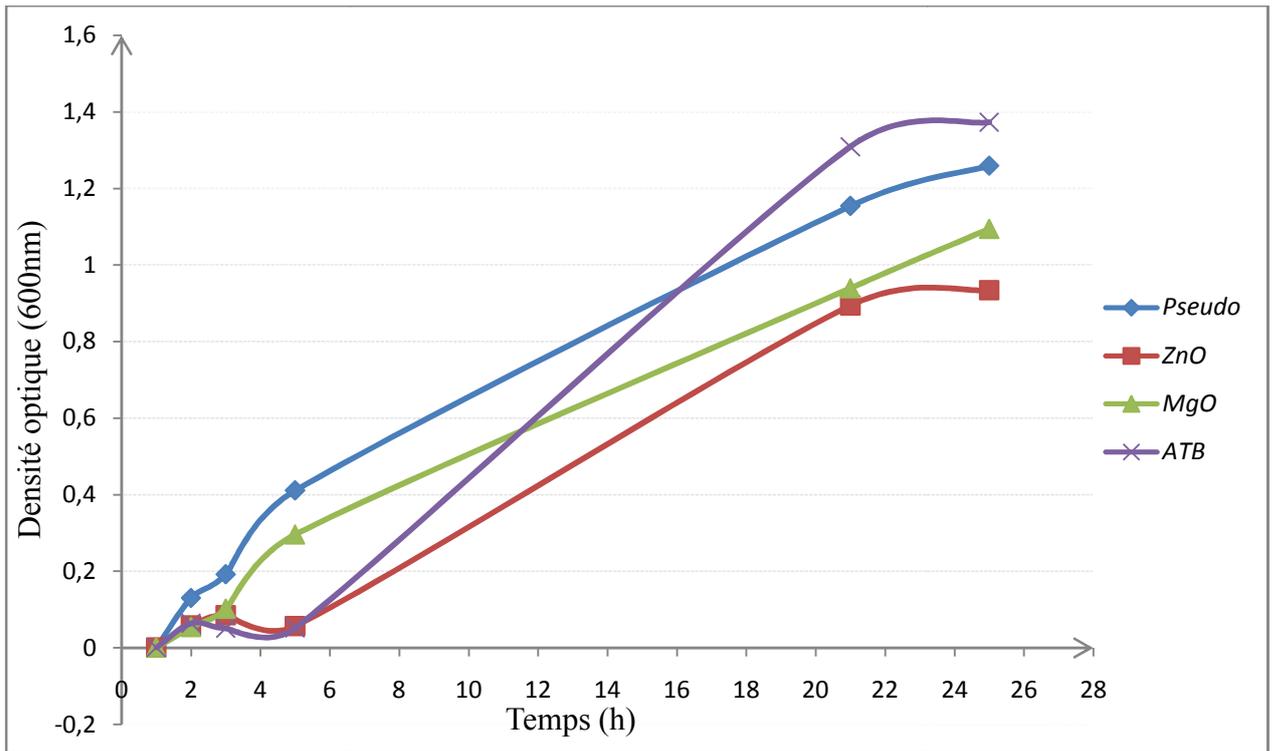


Figure 20 : Effet des NPs et de l'ATB sur la croissance de *Pseudomonas aeruginosa*.

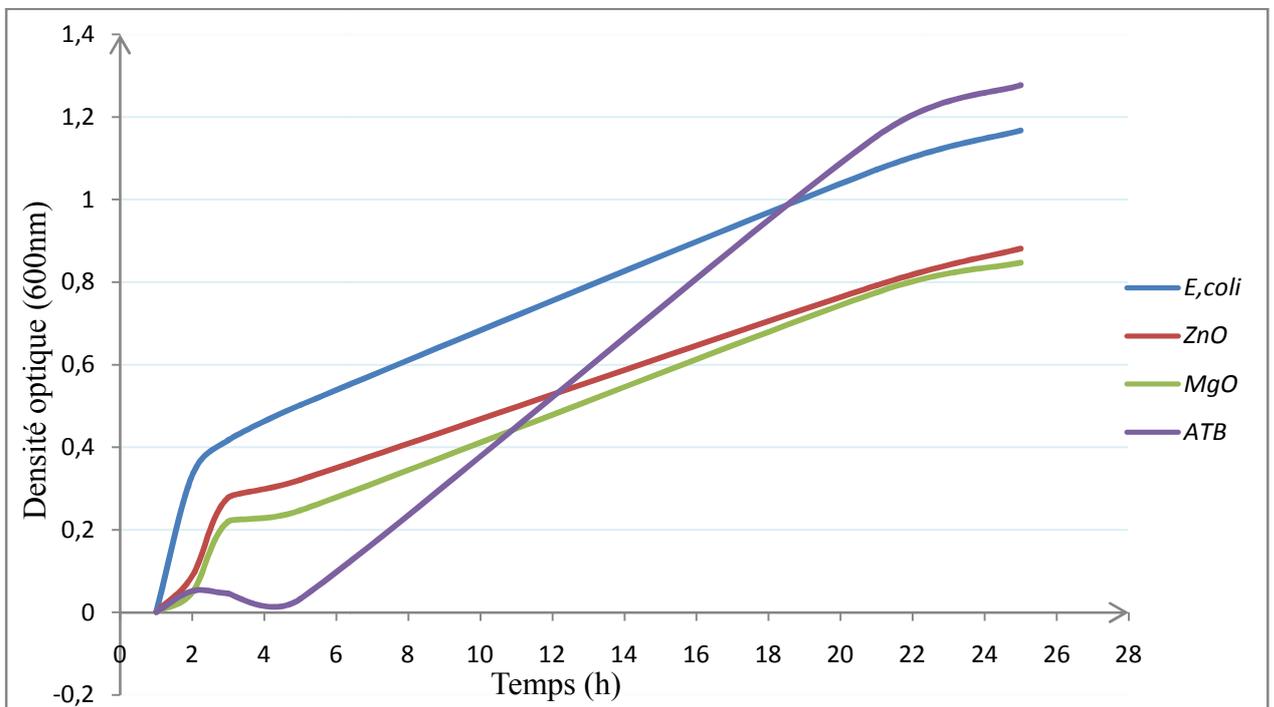


Figure 21 : Effet des NPs et de l'ATB sur la croissance d'*E. coli*.

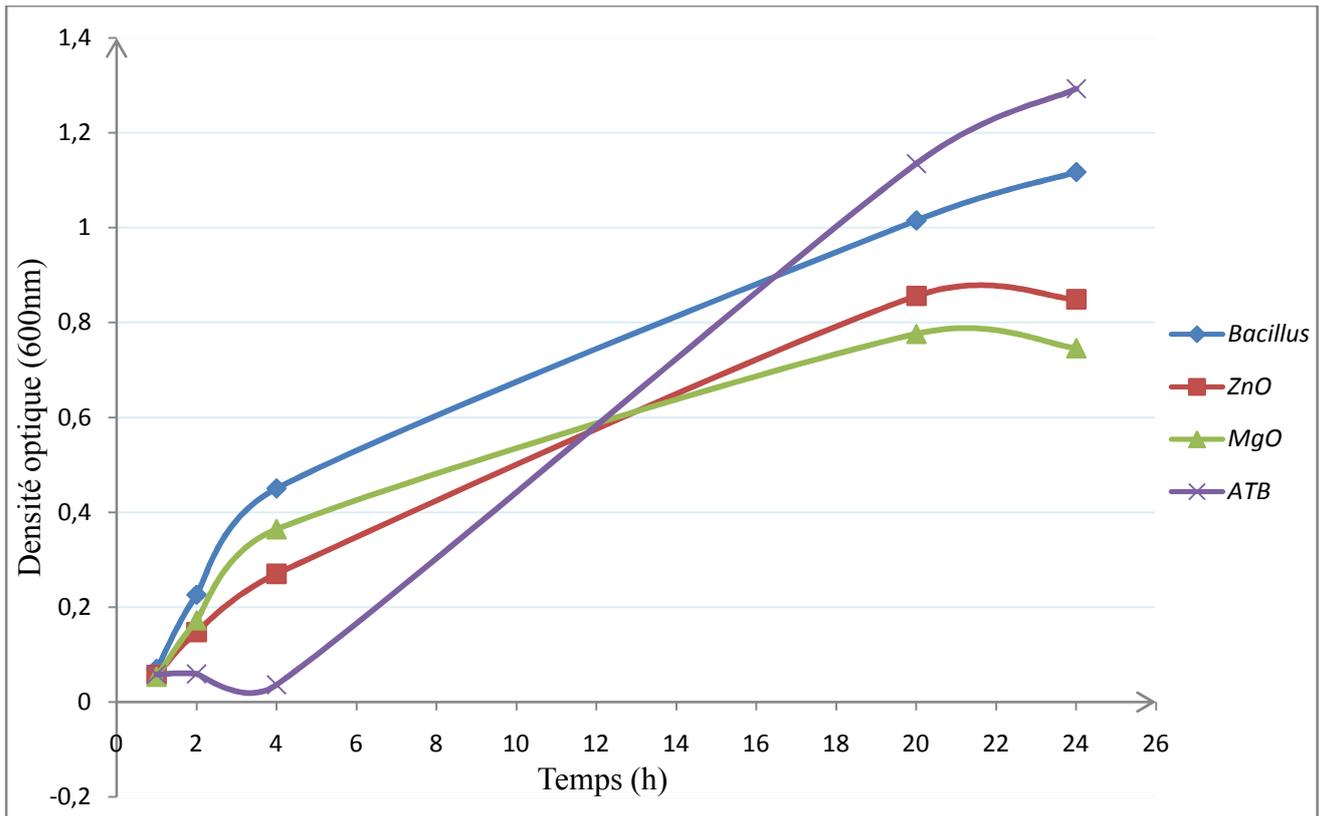


Figure 22 : Effet des NPs et de l'ATB sur la croissance de *Bacillus*.

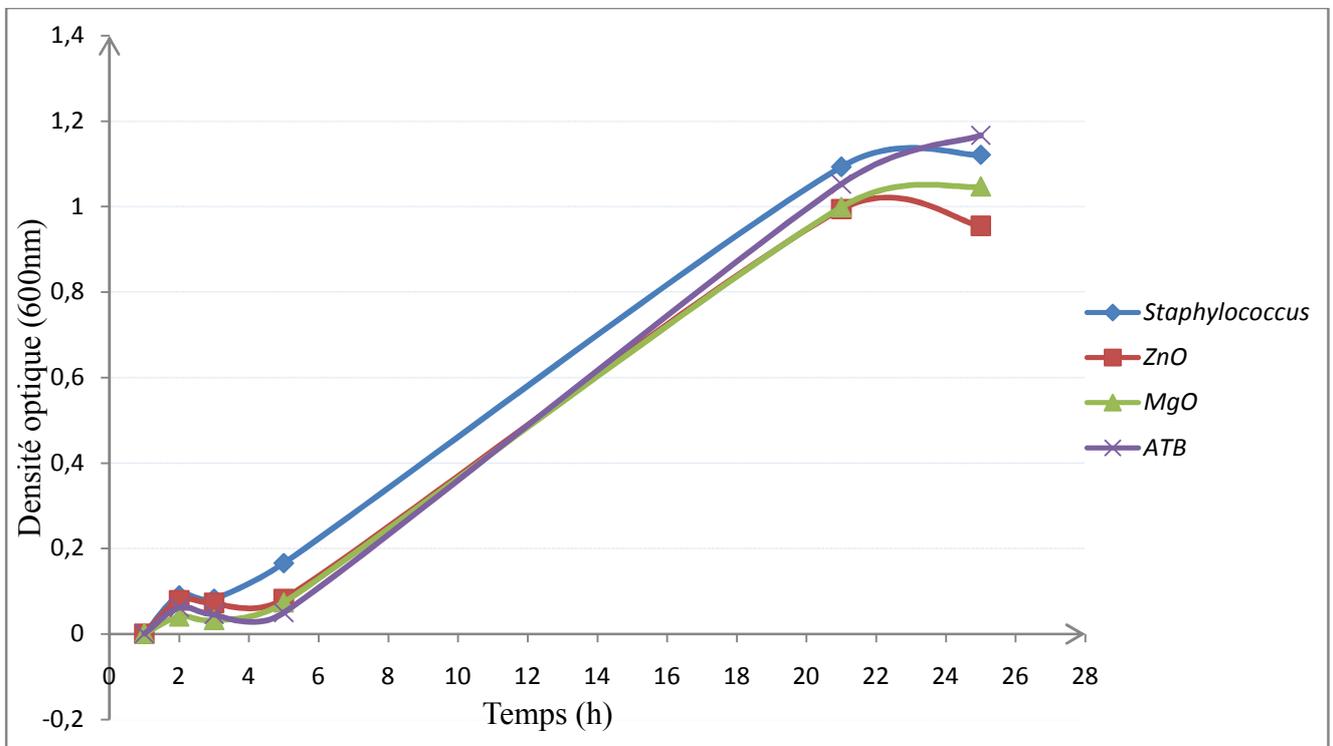


Figure 23 : Effet des NPs et de l'ATB sur la croissance de *Staphylococcus aureus*.

A/ En comparant les résultats de l'activité des NPs avec celle du témoin : on constate une diminution de la charge bactérienne d'une moyenne de 20% pour le ZnO et de 15% pour le MgO pour les bactéries à Gram- ; tandis que pour les Gram+ cette diminution est propre à chacune des souches tests ; pour le *Bacillus* c'est le MgO qui a donné un meilleur effet avec une baisse de la charge bactérienne de presque 34% devant 25% pour le ZnO pourtant le ZnO avait un meilleur effet au douze première heures du test ; alors que pour le *Staphylococcus aureus* c'est 15% pour le ZnO et 7% pour le MgO malgré que ce dernier avait le même effet que le ZnO jusqu'à t=20h cette diminution d'effet peut être expliqué par la production de catalase.

B/ En comparant l'activité antibactérienne des NPs avec celle de l'antibiotique : on constate que l'effet d'inhibitions des NPs a duré tout au long de l'expérience c'est-à-dire pendant les 24h de cette dernière contrairement à l'ATB qui a donné un effet bactéricide dans les cinq premières puis il a disparu laissant place à une croissance bactérienne dont leurs nombre a dépassé celui du témoin à T=24h.

Contrairement à l'ATB utilisé qui doit son effet à une action sur la paroi bactérienne car il est de la classe des β -lactamine ; l'effet des NPs n'est pas encor connu avec précision jusqu'à nos jours.

De nombreuses études ont été entreprises pour expliquer les mécanismes de l'action antibactérienne des nanoparticules d'oxyde métallique mais la littérature existante est encore controversée et incomplète. Bien que leurs mécanismes antibactériens exacts sont encore en débat, quelques mécanismes ont été proposés et qui comprennent les espèces réactives de l'oxygène (ROS) ou le stress oxydatif, la formation d'ions métalliques et la destruction mécanique directe de la paroi cellulaire bactérienne et/ou la membrane.

Dans les études évaluant les mécanismes d'action des nanoparticules, il apparait que ce serait une perturbation de la membrane qui serait à l'origine de la toxicité. En effet, il a été montré que les nanoparticules d'Ag adhèrent à la paroi, ce qui provoquerait la formation de puits et perméabiliserait la membrane, entraînant ainsi une expulsion du cytosol de la bactérie (Sondi et Salopek-Sondi, 2004).

Une autre étude décrivant un changement de la composition lipidique de la membrane en présence de fullerènes, ce qui est la preuve d'une déstabilisation et/ou d'une adaptation des bactéries (Fang et al., 2007). Dans le cas d'une déstabilisation, cela pourraient être dû à la

formation d'espèces réactives de l'oxygène qui entraineraient par exemple une peroxydation des lipides de la membrane.

II.1.2. Comparaison entre l'effet antibactérien des différents pourcentages de dopage

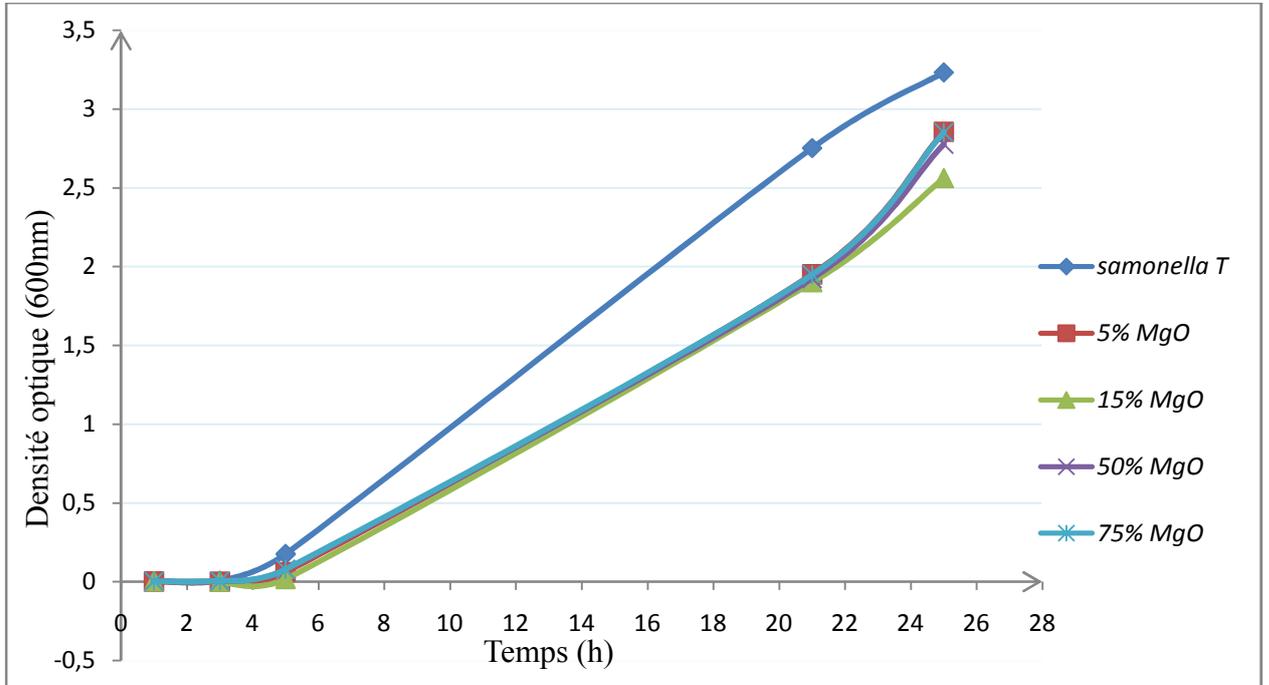


Figure 24 : Effet des NPs dopés sur la croissance de *Salmonella enterica*.

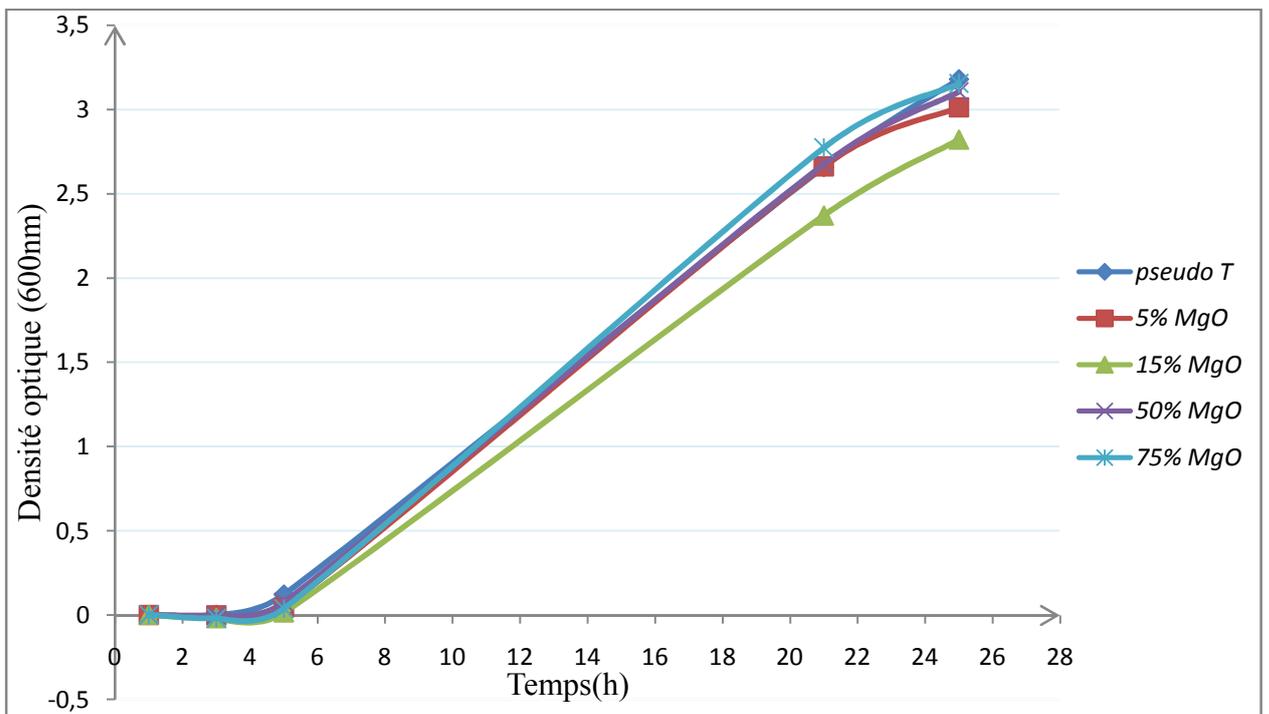


Figure 25 : Effet des NPs dopés sur la croissance de *Pseudomonas aeruginosa*.

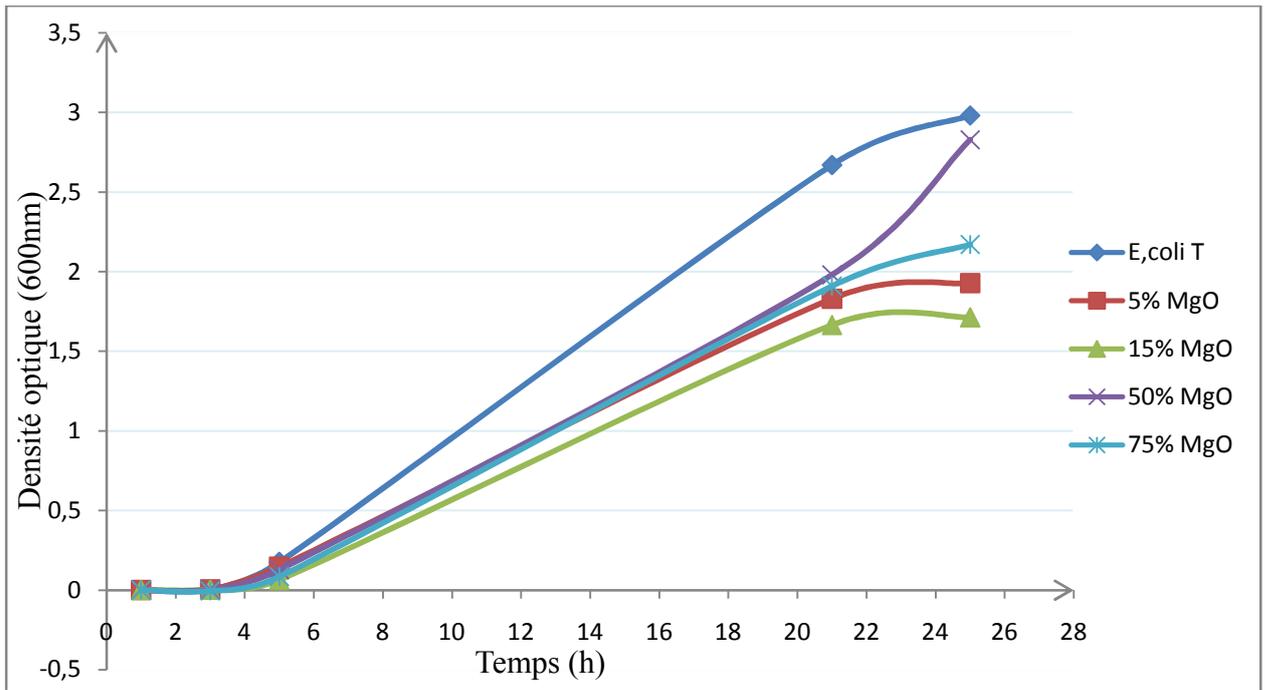


Figure 26 : Effet des NPs dopés sur la croissance d'*E.coli*.

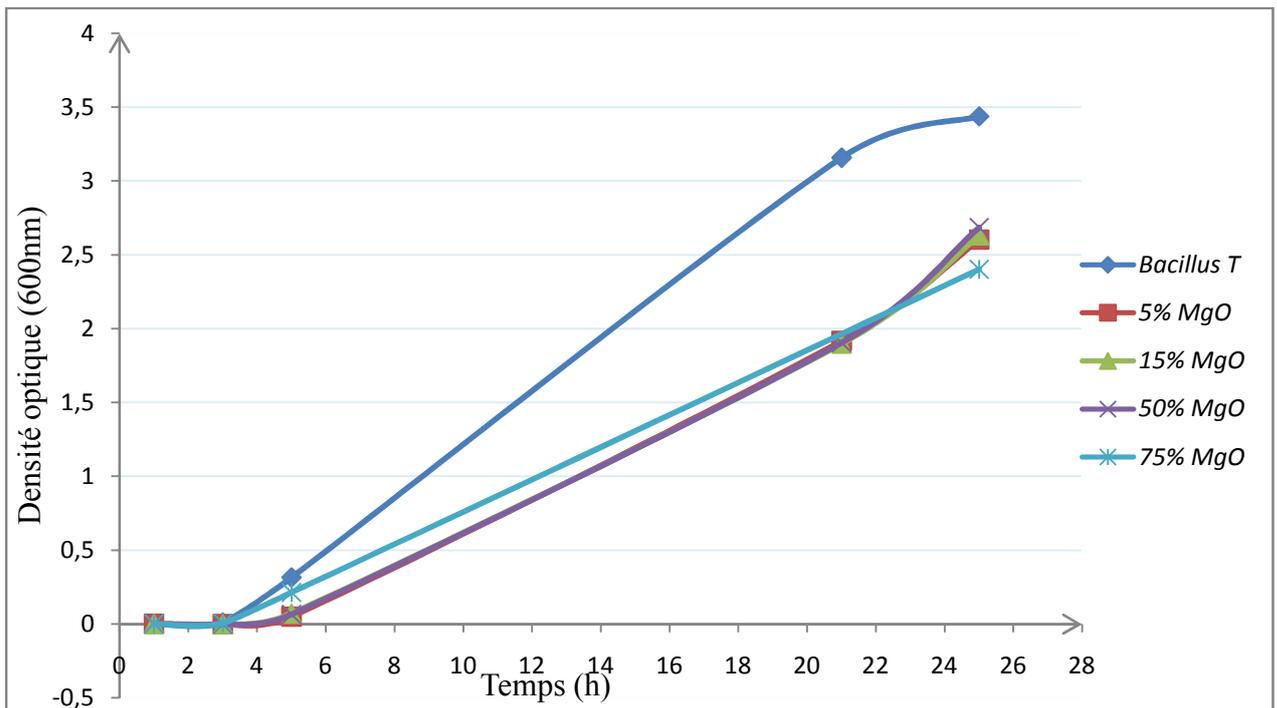


Figure 27 : Effet des NPs dopés sur la croissance de *Bacillus*.

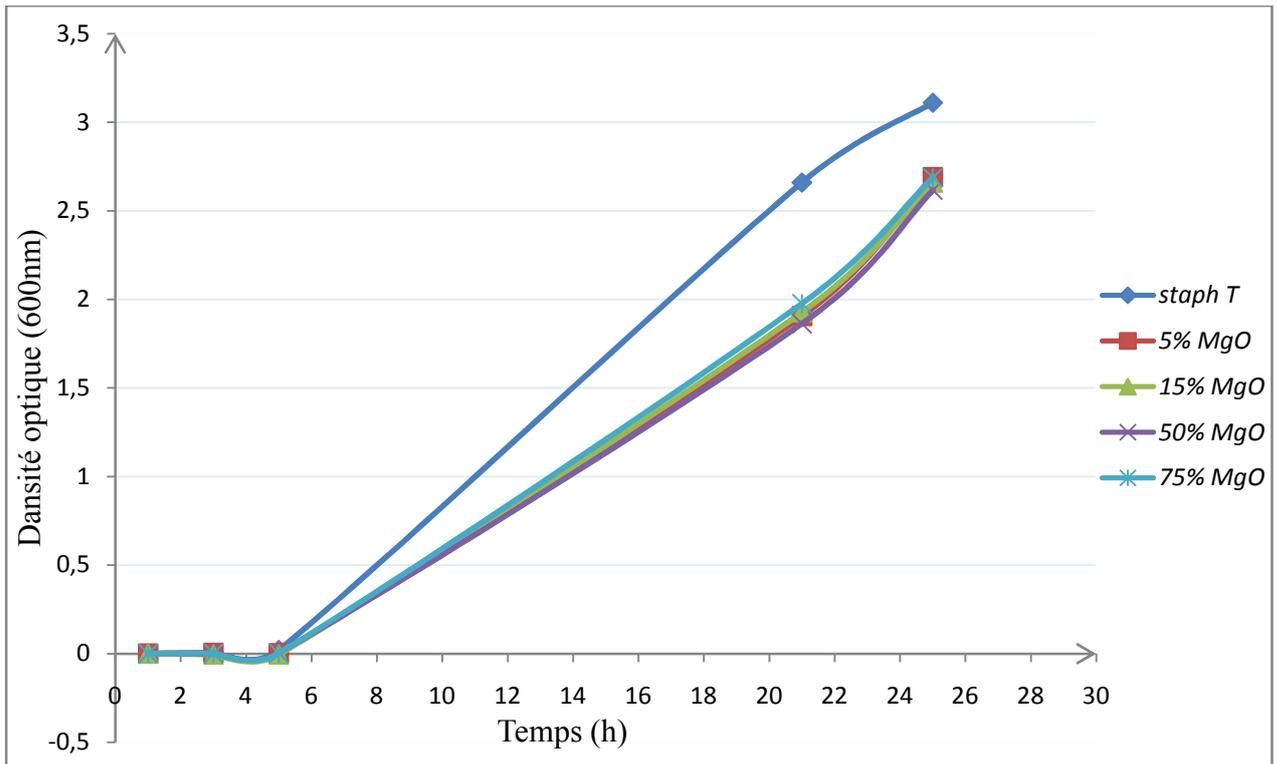


Figure 28 : Effet des NPs dopés sur la croissance de *Staphylococcus aureus*.

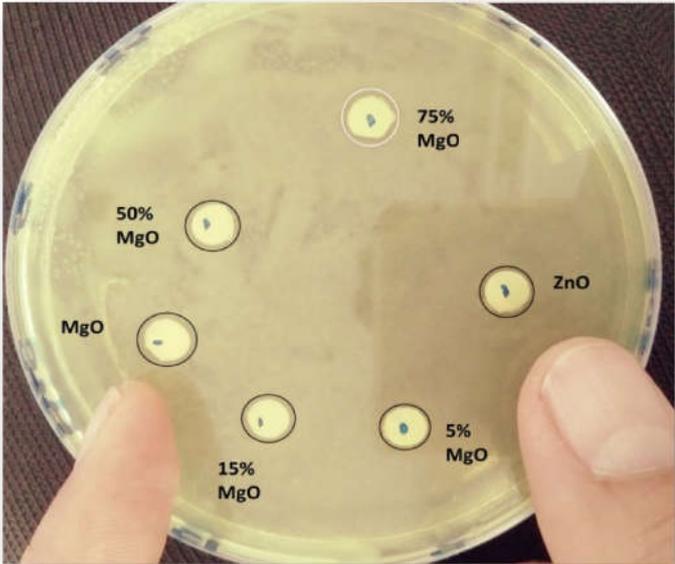
Ces graphes confirment l'activité antibactérienne de tous les pourcentages de dopage. Et se traduit par :

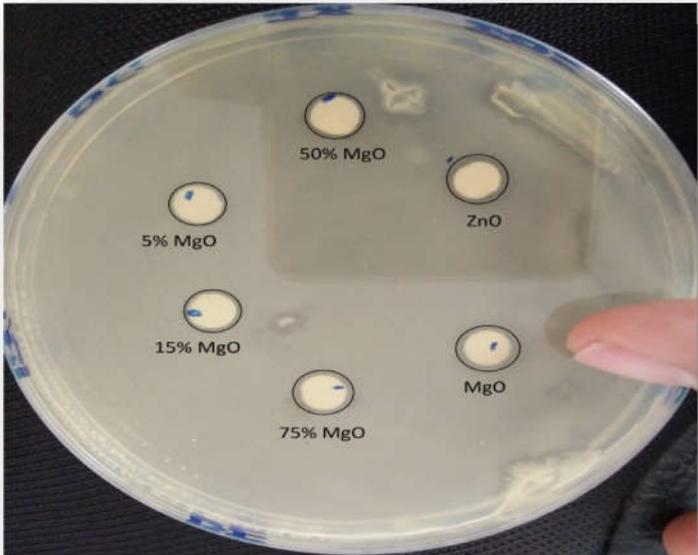
- Un effet bactéricide dans les quatre premières heures de l'expérience traduit par une D.O inférieure à celle du départ (de t_0) pour toutes les souches tests et pour la majorité des pourcentages de dopage.
- Un effet inhibiteur pour la suite de l'expérience traduit par une diminution du nombre de bactérie avec un taux moyen de : 24% pour le *Bacillus*, 12% *Staphylococcus aureus*, 28% pour *E.coli*, 6% pour *Pseudomonas aerogenosa*, 14% pour *Salmonella enterica*.

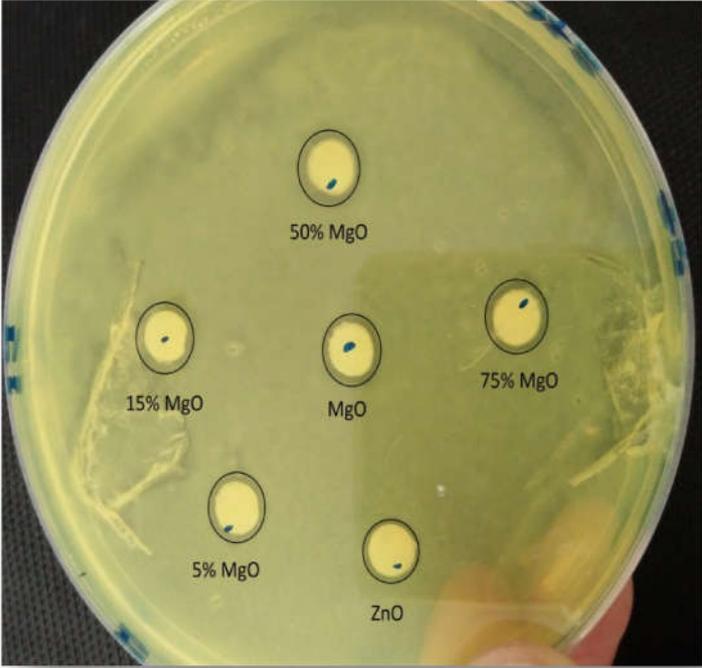
Ces graphes montrent que les nanoparticules ZnO dopé de 15% MgO ont la meilleure activité pour les Gram- avec 28% de diminution de nombre de bactérie (43% pour *E. coli*, 12% pour *Pseudomonas aeruginosa*, 20% pour *Salmonella enterica*) ; mais pour les bactéries à Gram+ l'activité est presque la même pour tout les pourcentages de dopage.

II.2. Résultats des tests de diffusion sur gélose en utilisant les disques en papier filtre

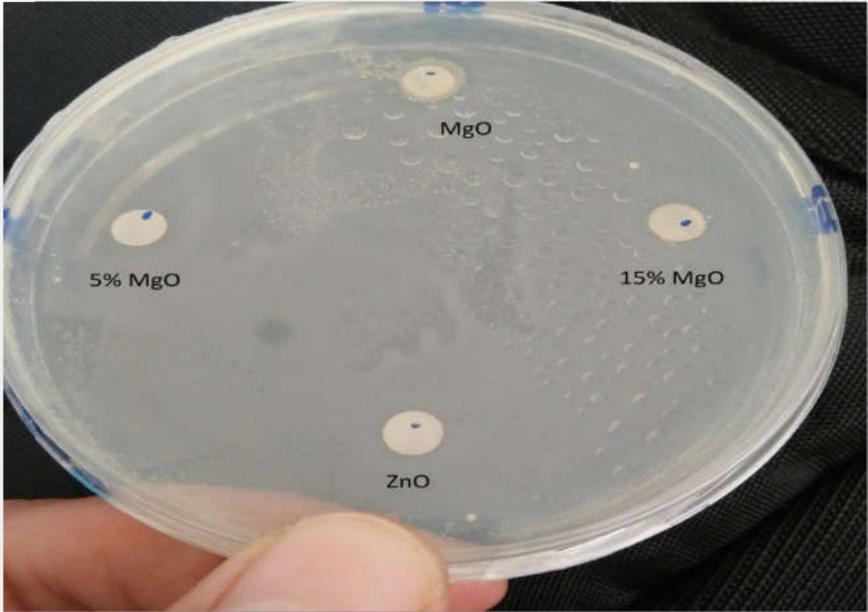
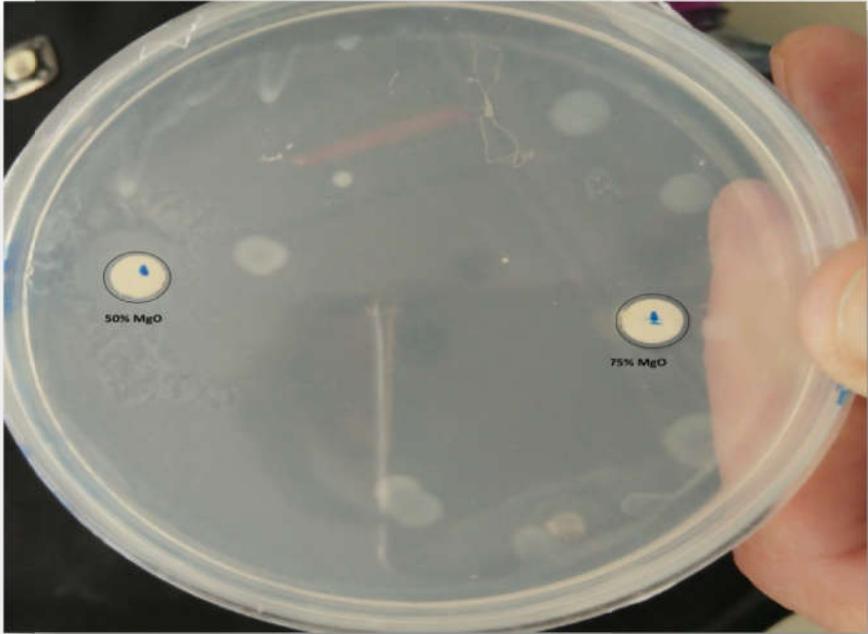
i. Tableaux des résultats de la diffusion sur gélose pour les Gram – (Tableau 8).

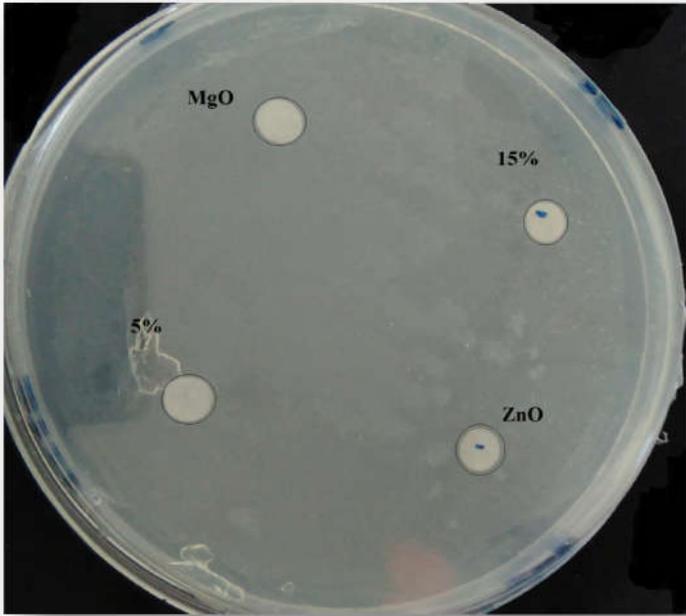
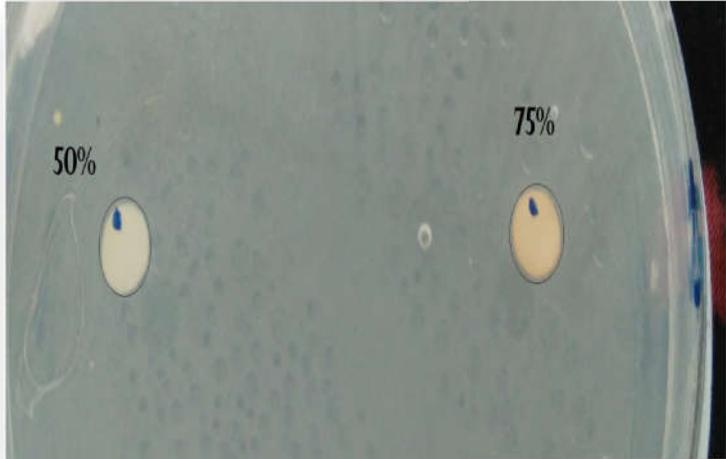
<i>Salmonella enterica</i>	Diamètre de la zone de lyse	Photo
ZnO pure	6 mm	
MgO pure	6.8 mm	
5% MgO	5.5 mm	
15% MgO	6 mm	
50% MgO	5.6 mm	
75% MgO	6.5 mm	

<i>E. coli</i>	Diamètre de la zone de lyse	Photo
ZnO	7 mm	
MgO	6.5 mm	
5% MgO	5.6 mm	
15% MgO	6 mm	
50% MgO	5.8 mm	
75% MgO	6.8 mm	

<i>P.aeruginosa</i>	Diamètre de la zone de lyse	Photo
ZnO	5.6 mm	
MgO	5.8 mm	
5% MgO	6 mm	
15% MgO	6 mm	
50% MgO	6.8 mm	
75% MgO	7 mm	

ii. Tableaux des résultats de la diffusion sur gélose pour les bactéries Gram+ (Tableau 9).

<i>Bacillus</i>	Diamètre de la zone de lyse	Photos
ZnO	6 mm	
MgO	6 mm	
5% MgO	6 mm	
15% MgO	6.5 mm	
50% MgO	5.5 mm	
75% MgO	6 mm	

<i>Staphylococcus aureus</i>	Diamètre de la zone de lyse	Photos
ZnO	6 mm	 <p>A petri dish containing a bacterial culture with four distinct zones of inhibition. The zones are labeled: 'MgO' (top center), '15%' (top right), '5%' (middle left), and 'ZnO' (bottom right). Each zone is a clear, circular area where the bacterial growth has been inhibited.</p>
MgO	5.6 mm	
5% MgO	5.4 mm	
15% MgO	6.2 mm	
50% MgO	5.8 mm	
75% MgO	6 mm	 <p>A close-up view of a petri dish showing two zones of inhibition. The zones are labeled '50%' (left) and '75%' (right). Both zones are clear, circular areas where bacterial growth is inhibited.</p>

A l'opposé de la technique de la diffusion sur gélose, les diamètres des zones d'inhibition qui dépendent uniquement de la sensibilité du germe. Ne révèlent pas une activité nette des NPs pure et dopés. Les zones d'inhibition sont très proches entre elles, malgré la disparité entre les différents mécanismes de résistances et entre souches bactériennes, à savoir les bactéries Gram + et les bactéries Gram -.

Ces résultats peuvent être expliqués par le diamètre des pores du papier filtre utilisé qui sont de l'ordre de microns alors que les NPs utilisés sont de taille inférieure à 100 nm (nous n'avons pas pu définir la taille exacte des NPs utilisés mais cette dernière est confirmée inférieure à 100 nm puisque nos solutions ont été passées par des filtres dont les pores sont inférieurs à 100 nm).

Le résultat le plus intéressant de ce test est l'effet du MgO pur sous sa forme amorphe et qui a donné une zone de lyse intéressante chez les Gram-. Ce résultat peut être expliqué par la faible énergie de liaison des molécules de MgO dans le matériau amorphe, ce qui leur permet d'avoir une amplitude d'oscillation et un degré de liberté plus grands. Par conséquent, elles peuvent interagir avec un nombre de bactéries plus important et provoquer un effet antibactérien plus intense.

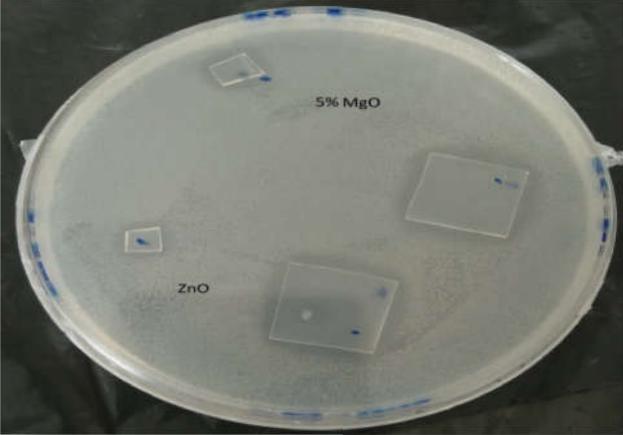
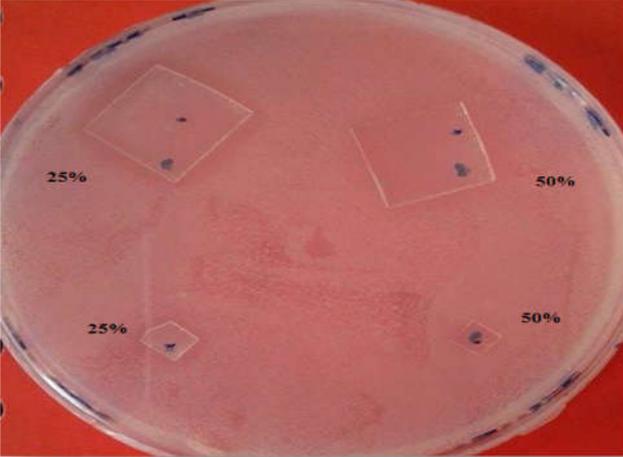
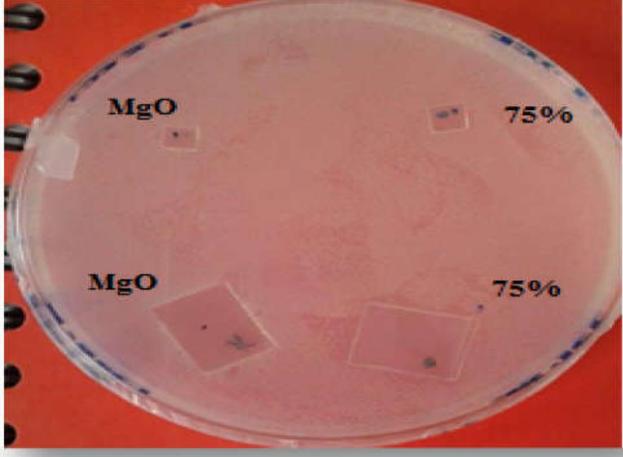
En effet, il a été montré que les effets antibactériens dépendent non seulement de la nature mais aussi des autres caractéristiques des nanoparticules comme la forme (**Pal et al., 2007**) et la taille ou l'état d'agglomération (**Huang et al., 2005; Lyon et al., 2006; Makhluaf et al., 2005**). De plus, certaines études sur des nanoparticules a priori de même forme et taille, et sur les mêmes modèles apparaissent contradictoires, ce qui laisse penser que ce sont des variations d'autres caractéristiques qui sont à l'origine de ces différences d'effets. Ainsi la différence la plus flagrante est constatée pour les nanoparticules de ZnO de l'ordre de 10-20 nm de diamètre pour lesquels un effet a été observé dès 1,7 mM sur la souche *E. coli* dans l'étude de (**Brayner et al. 2006**) alors qu'aucun effet antibactérien n'est observé jusqu'à 2 mM sur la même souche dans l'étude de (**Reddy et al. 2007**).

II.3. Résultats des tests de diffusion sur gélose en utilisant les lames de verre couvertes de couches minces de NPs

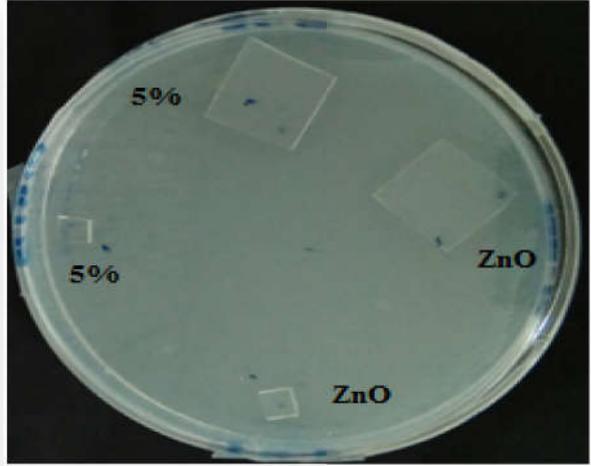
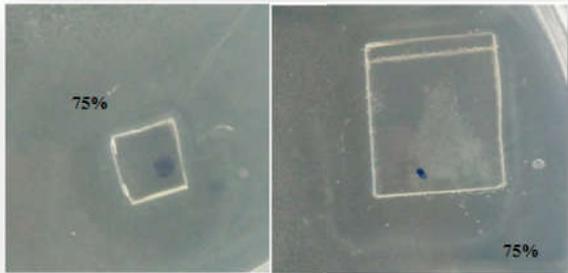
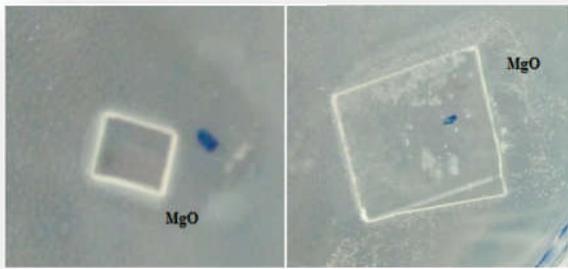
Contrairement aux résultats de la diffusion sur gélose en utilisant des disques de papier filtre imbibés des solutions des NPs les lames couvertes de couche mince donnent des résultats clairs et significatifs comme le montre ces tableaux :

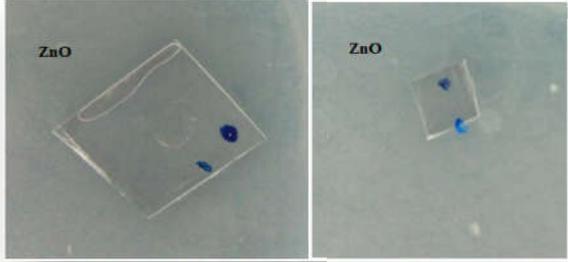
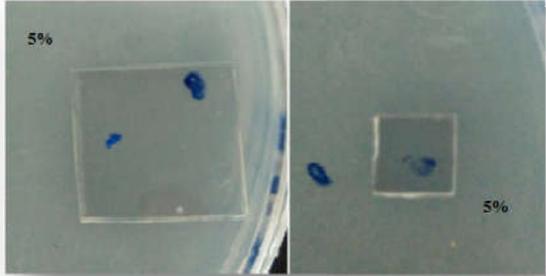
i. Résultats du test antibactérien des couches minces (Gram⁺) (Tableau 10).

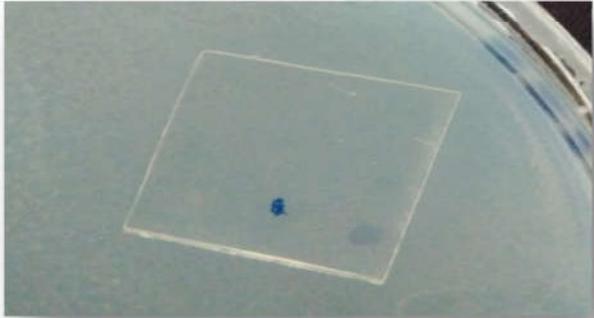
<i>Bacillus</i>	Longueur du carré de verre	Diamètre de la zone de lyse	Photos
ZnO	16 mm	29 mm	
	05 mm	15.5 mm	
5% MgO	15 mm	25.5 mm	
	05 mm	9.5 mm	
25% MgO	15 mm	26.5 mm	
	05 mm	14 mm	
50% MgO	15 mm	23.5 mm	
	05 mm	10.5 mm	
75% MgO	13.5 mm	17 mm	
	05 mm	Inh.	
MgO	13 mm	Inh.	
	05 mm	Inh	

<i>Staphylococcus aureus</i>	Longueur du carré de verre	Diamètre de la zone de lyse	Photos
ZnO	14.5 mm 4.5 mm	18.5 mm 7.5 mm	
5% MgO	14 mm 5 mm	19 mm 9 mm	
25% MgO	15 mm 5 mm	21 mm 8 mm	
50% MgO	15 mm 4.5 mm	16 mm 5 mm	
75% MgO	15 mm 05 mm	Inh. Inh.	
MgO	14.5 mm 05 mm	Inh. Inh.	

ii. Résultat du test d'activité antibactérienne pour les Gram – (Tableau 11).

<i>Salmonella enterica</i>	Longueur du carré de verre	Diamètre de la zone de lyse	Photos
ZnO	15 mm 5 mm	18 mm 7.5 mm	
5% MgO	15 mm 05 mm	17 mm 6.5 mm	
75% MgO	15mm 05 mm	16 mm 9.5 mm	
MgO	15 mm 05 mm	Crois. Inh.	

<i>E.coli</i>	Longueur du carré de verre	Diamètre de la zone de lyse	Photos
ZnO	15 mm 05 mm	16.5 mm 6 mm	
5% MgO	15 mm 05 mm	16 mm 06 mm	
25% MgO	15 mm 05 mm	Inh. Inh.	
50% MgO	15 mm 05 mm	Inh. Inh.	
75% MgO	15 mm 05 mm	Inh. Inh.	
MgO	15 mm 05 mm	Inh. Inh.	

<i>P.aeruginosa</i>	Longueur du carré de verre	Diamètre de la zone de lyse	Photo
ZnO	15 mm 05 mm	Inh. Inh.	
25% MgO	15 mm 05 mm	Inh. Inh.	
50% MgO	15 mm 05 mm	Inh. Inh.	
75% MgO	15 mm 05 mm	Inh. Inh.	
MgO	15 mm 05 mm	Inh. Inh.	

A/ Les bactéries à Gram- : pour la majorité des lames de verre couvertes de couche mince il y avait une inhibition de la croissance sans zone de lyse bien claire et les meilleurs résultats étaient pour le ZnO pure avec une zone d'inhibition de 16.5mm et 18mm pour le grand carré de verre, 6mm et 7.5mm pour le petit carré respectivement pour *E. coli* et *Salmonella enterica*.

B/ Les bactéries à Gram + : à l'exception des lames du MgO pure, 75% MgO, tous les autres pourcentages de dopage ont donné des zones d'inhibitions claires et significatives de l'excellente activité antibactérienne surtout pour les lames du ZnO dopé 25% MgO avec des zones de lyse de 26.5 mm pour le grand carré, 14 mm pour le petit carré ; pour le *Bacillus* et 21 mm et 8mm pour le *Staphylococcus aureus*.

Ces résultats confirment ce qui est dit dans la littérature que l'activité antibactérienne apparaît généralement beaucoup plus prononcée pour des souches à Gram positif que pour les souches à Gram négatif et ceci quelle que soit la nanoparticule (**Adams et al., 2006; Huang et al., 2005; Kim et al., 2007; Makhluf et al., 2005; Reddy et al., 2007; Sondi and Salopek-Sondi, 2004 ;Tsao et al., 2002; Yoon et al., 2007**).

Ainsi les différences observées entre les deux types de bactéries et donc les deux types de paroi laissent penser que l'interaction avec la paroi joue un rôle dans la toxicité.

Le bon résultat de ce pourcentage peut être justifié par l'épaisseur de la couche mince de ce dernier qui est de 404,037nm ce qui augmente systématiquement la surface de contact de ses NPs avec les bactéries ; cette surface est une des caractéristiques importantes dans l'activité antibactérienne des NPs ajoutant à cela la taille des cristallites qui est de 24,89659 nm.

Conclusion

Conclusion

L'activité antibactérienne des NPs ZnMgO mixtes sous deux formes nano-fluide et couche mince ont été étudiés et comparés à ceux des NPs ZnO et MgO pure et à celui d'un antibiotique (Amoxicilline). A cette fin les poudres du nano-fluide ont été préparées par le biais d'une technique de précipitation et les couches minces ont été déposées par la technique de pyrolyse de pulvérisation ; les NPs produits ont été investis par les techniques de diffraction R-X et la fluorescence R-X.

L'activité antibactérienne a été testée sur cinq souches bactériennes de Gram différent (*Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus sp*) par deux méthodes qui étaient la mesure de la D.O. des souches tests et le suivi leurs croissances sous l'effet des NPs ZnO et MgO et leurs mixtures et la méthode de la diffusion sur gélose ; ces deux méthodes ont donné de bon résultats pour la majorité des souches tests et les NPs ZnMgO mixtes ont révélés des effets de synergie des composants pures avec un meilleur effet et une activité supérieure a celle du ZnO pure surtout pour la plage de dopage de 15 à 25% MgO avec une sélectivité aux bactéries Gram+.

Ces résultats nous ouvrent la perspective d'aller plus loin à fin de déterminer le meilleur pourcentage de dopage, de calculé sa CMI et CMB, étudier puis déterminer le mécanisme d'action de ce NPs dopé sur les bactéries tout en espérons contribuer à résoudre même une minime partie de notre problématique posée qui était la contamination et la résistance bactérienne aux antibiotiques.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

Adams, L. K., Lyon, D. Y., and Alvarez, P. J. J. (2006). Comparative eco-toxicity of nanoscale TiO₂, SiO₂, and ZnO water suspensions. *Water Res*, 40(19) :3527– 3532.

Avril J.L., Denis F., Dabernat H., Monteil H. (2000). Bactériologie clinique. 2^{ème} édition Marketing, paris. Pages 148-280.

Avril JL, Dabernat H, Denis F, Monteil H. (2000). *Pseudomonas* Burkholderia. Bactériologie clinique. 3^{ème} édition. Ellipses; p.294-311.

(Anonyme 1, 2003). Bactériologies, Université pierre et marie curie : service de bactériologie, 31p. (www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/bacterio.pdf)

(Anonyme 2, 2004). Caractérisation moléculaire des *Escherichia coli* O111 et diversité des souches isolées en France. Unité Biodiversité Bactéries Pathogènes Emergentes, 1p.

B

Ben messaoud Kawthar, O. K. (2005), l'otite moyenne chronique ; Diplôme supérieur en Microbiologie université de Kasdi Merbah Ouargla PP 18-32.

Benelmadjat, H. (2007). Elaboration et caractérisation des composites dopes par des agrégats nanométriques de semi conducteurs, Thèse de l'Université Mentouri-Constantine (2007) pp. 3-14.

Benharrabts, F. (2007). Etude des nanostructures laser a base de ZnO/MgZnO. Mémoire de magister : Physique. Université d'Oran, 19p.

Benjamin, D. (2010). Etude de la prise en charge ambulatoire des infections cutanées communautaires à *Staphylocoque* doré. Thèse pour le Doctorat : En Medecine. Paris : Université Denis Diderot, 14p.

Bentzmann S, Plésiat P. (2011). *Pseudomonas aeruginosa* : une virulence complexe. Revue francophone des laboratoires. 2011 (435): 73-81.

Bergey's manual (2012).

Bergmans,D.C., Bonten,M.J., van Tiel,F.H., Gaillard,C.A., van der Geest,S., Wilting,R.M. et al. (1998). Cross-colonisation with *Pseudomonas aeruginosa* of patients in an intensive care unit. *Thorax* 53: 1053-1058.

Biokar Diagnostics, Guide d'utilisation des milieux - LED Techno. (page consultée le mai 2015). (www.ledtechno.be/.../BIOKAR-Diagnostics-Guide-d-utilisation-des-milieux-v05201520).

Brayner, R., Ferrari-Iliou, R., Brivois, N., Djediat, S., Benedetti, M. F., and Fiévet, F. (2006). Toxicological impact studies based on *Escherichia coli* bacteria in ultrafine ZnO nanoparticles colloidal medium. *Nano Lett*, 6(4) :866–870.

Bonhomme, R. (2003). Étude de la contamination des milieux internes de l'œuf par *Salmonella* sérotype enteritidis. Thèse de doctorat vétérinaire. LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE CRÉTEIL, 20p.

C

Carpentier JP, Morillon M, Petrognani R, Cavallo JD. (2003). Infections à bacille pyocyanique - EMIPremium.. *Encycl Méd Chir.* (8-025-B-50): 23.

Cauillaud, F., Smith, A & Baumard, J-F. (1992). *Jour. Of Europ. Ceram. Societ.* 9. 477-452.

Charles, K. (1980). Introduction a la physique de l'état solide, Dunod (3 ème édition).

Chauveau, J-M., Morhain, C., Vinter, B., Deparis, C., Tang, X., Lo, B., Teisseire-Doninelli, M., Vennégues, P., Laugt, S., Neu, G. Centre de Recherche sur l'Hétéro-Epitaxie et ses Applications, Centre National de la Recherche Scientifique (CRHEA/CNRS).

Couderc, C. (2015). Impact des antibiotiques sur l'histoire naturelle de la colonisation par *Staphylococcus aureus*. Thèse de doctorat: Epidémiologie. Université pierre et marie curie, 19p

D

David, J. (2009). Attribution des cas de salmonelloses humaines aux différentes filières de production animale en France : Adaptabilité et robustesse du modèle bayésien d'attribution par typage microbiologique. Thèse de doctorat : Biologie et agronomie. Université Européenne de Bretagne, 15p.

Decoster, A.(2003). *Bacillus*. (anne.decoster.free.fr/bgp/bacillus.htm).

Decoster, A.(2003). *Pseudomonase* et autres BGNF, FLM, p.2. (anne.decoster.free.fr/btelecharbpolypseudo05.pdf).

Demay, F. (2009). *Bacilles* Gram (+) Aérobie stricts ou aéro-anaérobies Genre *Bacillus* – BTS BioAnalyses & Contrôles. (fdanieau.free.fr/cours/bts/A1/microbiologie/TP/Gram+GenreBacillus.pdf).

Ducamp-Sanguesa, C.; Herrera-Urbina, R.; Figlarz, M. J. Solid State Chem. (1992), 22100, 272-278.

Dumitrescu O, Dauwalder O, Boisset S, Reverdy M-É, Tristan A, Vandenesch F. (2010). Résistance aux antibiotiques chez *Staphylococcus aureus* : Les points-clés en 2010. médecine/sciences ; 26: 943–9.

Dziekan G, Hahn A, Thune K, et al. (2000). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a teaching hospital: investigation of nosocomial transmission using a matched case-control study. J Hosp ; 46 :263-70

E

El Haddad, L. (2014). Utilisation des bactériophages pour le contrôle de *Staphylococcus aureus* dans les produits laitiers. Thèse de doctorat : en microbiologie. Québec, Canada : Université Laval, 1p.

Elmeskini, M.K (2011). Etude épidémiologique des infections à *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse de doctorat : pharmacie. Rabat : université mohammed v Faculte de medcine et de pharmacie, 4-5p.

F

Fang, J. et al. (2007). Effect of a fullerene water suspension on bacterial phospholipids and membrane phase behavior. Environ. Sci. Technol. 41, 2636–2642

Freter, R., H. Brickner, J. Fekete, M. M. Vickerman, and K. E. Carey. (1983). Survival and implantation of *Escherichia coli* in the intestinal tract. Infect Immun 39:686-703.

G

Garba, S. A. (2012). Caractérisation phénotypique et genetique des *Escherichia coli* isoles des cas d colibacillooses aviaires au senegal. Thèse de doctorat : en medcine veterinaire. Dakar : Université cheikh anta diop, 22-34p.

Garcia, J. L., Bensoussan, M., Bianchi, A., & Mandel, M. (1982). Taxonomie numérique de *Bacillus thermophiles* isolés de sols de rizière de l'Afrique de l'Ouest. Annales de Microbiologie de l'Instittll Pasteur (Paris) A, 133, 471-488.

Gheraout-Benchouk, S. (2013). Prévalence du protège nasal de *Staphylococcus aureus* : Son rôle dans l'infection du site opératoire. Thèse pour obtention du doctorat : En sciences Médicales. Tlemcen : Université aboubekr belkaid, 21p.

Grimont, P.A.D. and F.-X. Weill, (2007). Formules antigéniques des sérovars de *Salmonella* - 9ème édition. Centre Collaborateur OMS de Référence et de Recherche sur les *Salmonella* - Organisation Mondiale de la Santé, Institut Pasteur. p. 167.

Grundmann H, Aires-de-Sousa M, Boyce J, Tiemersma E. (2006). Emergence and resurgence of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a public-health threat. Lancet 2006; 368: 874–85.

H

Hafiane,A., and Ravaoarino,M. (2008) [Various typing methods of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from cystic fibrosis patients]. *Med Mal Infect* 38: 238-247.

Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley et S.T. Williams (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. pp: 518-537. 9th Edn., Williams and Wilkins, Baltimore.

Huang, L., Li, D.-Q., Lin, Y.-J., Wei, M., Evans, D. G., and Duan, X. (2005). Controllable preparation of Nano-MgO and investigation of its bactericidal properties. *J Inorg Biochem*, 99(5) :986–993.

Husson MO, Harf-Monteil C, Monteil H. (2007). *Pseudomonas-Burkholderia-Ralstonia-Pandoraea*. In: Freney J, Renaud F, Leclercq R, Riegel P. *Précis de bactériologie clinique*. 2ème édition. Paris: ESKA; p. 1121-48.

I

ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods) (1996). *Salmonellae*. In: ICMSF (Ed.), *Microorganisms in Foods 5. Characteristics of Microbial Pathogens*. Blackie Academic & Professional: London, 217-264.

J

Jeon, H, Kim, D. J, Kim, S. J and Kim, J. H. (2013). *Fuel Processing Technology*, 116, 325-331.

Jolivet, J.P. (1994). *De la solution à l'oxyde*. InterEditions et CNRS Ed, EDP Science. Paris, 383-387.

K

Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL. (2004). *Pathogenic Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol*. 2:123-40.

Kaper, J. B., J. P. Nataro, and H. L. T. Mobley. (2004). *Pathogenic Escherichia coli*. *Nat. Rev. Microbiol*. 2:123-140.

Khebbeb M.N. (2015). Evaluation d'une toxicité induite par des nanoparticules (ZnO) sur deux modèles biologiques unicellulaires (*Saccharomyces cerevisiae* et *Paramecium* sp. Thèse de doctorat : Toxicologie. Annaba : Université badji mokhtar. 18p.

Kloos W.E. and Veron M. (1990). Bactériologie Médicale «*Staphylococcus* et *Micrococcus*» J.Fleurette 2ème édition. Flammarion Médecine-Sciences, Paris. 773-794.

Korsak N, Clinquart A, Daube G (2004). *Salmonella* spp. dans les denrées alimentaires d'origine animale : un reel probleme de sante publique. Ann. Méd. Vét., 148, 174-193.

Kurlenda, J. et M. Grinholc. (2012). Alternative therapies in *Staphylococcus aureus* diseases. Acta Biochim. Pol. 59:171-184.

L

Le Minor L, & Genus III (1984). *Salmonella*, In: Krieg N., Holt, J. (Eds.) Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (volume 1), Williams and Wilkins: Baltimore 427-458.

Levine, M. (1987). *Escherichia coli* that cause diarrhea : enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic, and enteroadherent. Journal of infectious Diseases 155:377-389.

Lilet, C ; Bourdon, J ; Toma, B ; Marchal, N et Balbastre, C. (1983) ; Bactériologie médicale et vétérinaire- systématique bactérienne ; Edition DOIN. PP 150-190.

Loison. P. (2013). Etude de la spore de *Bacillus subtilis* : caractérisation des structures impliquées dans sa résistance. Thèse de doctorat : Microbiologie. AgroSup – Dijon : Université de Bourgogne. 1p.

M

Makhluf, S., Dror, R., Nitzan, Y., Abramovich, Y., Jelinek, R., and A, G. (2005). Microwave assisted synthesis of nanocrystalline MgO and its use as a bacteriocide. Adv Function Mat, 15 :1708–1715.

Matsui, M. (1989). The Journal of chemical physics, 91, 489-494.

Mazon, C., Muci, J., Sa-Neto, Ortiz-Conde, A and Garcia, F.J. (1991). CH2953 8/91/10000-1156. IEEE.

Mercier, D.; Lévy, J. C. S.; Viau, G.; Fiévet-Vincent, F.; Fiévet, F.; Toneguzzo, P.; Acher, O. Phys. Rev. B. (2000), 62, 532-537.

Minchella,A., Molinari,L., Alonso,S., Bouziges,N., Sotto,A., and Lavigne,J.P. (2010) [Evolution of antimicrobial resistance against *Pseudomonas aeruginosa* in a French university hospital between 2002 and 2006]. Pathol Biol (Paris) 58: 1-6.

N

Nachet, N (2015). Synthèse de nanoparticules d'oxyde de magnésium application en oxydation en phase liquide. Mémoire Master : chimie. Tlemcen.

Nagappa, B and Chandrappa,G. T. (2007). Microporous and Mesoporous Materials, 106, 212-218

Natsume, Y., Sakata, H. (2002). Materials Chemistry & Physics, 78, 170.

Nauciel C; Vilde J-L. (2005). Bactériologie médicale. Edition Masson.

Nazina, T. N., Tourova, T. P., Poltarau, A. B., Novikova, E. V., Grigoryan, A. A., Ivanova, A. E., & Ivanov, M. V. (2001). Taxonomic study of aerobic *thermophilic bacilli*: descriptions of *Geobacillus subterraneus* gen. nov., sp. nov. and *Geobacillus uzenensis* sp. nov. from petroleum reservoirs and transfer of *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus thermocatenulatus*, *Bacillus thermoleovorans*, *Bacillus kaustophilus*, *Bacillus thermodenitrificans* to *Geobacillus* as the new combinations *G. stearothermophilus*, *G. th.* International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 51(2), 433-446.

Ngo Van, G. (2011). Nanoparticules hybrides oxydes metaliques/polymeres : Synthèse et caractérisation. Thèse pour l'obtention du grade de docteur : En Chimie et Physico-Chimie des Polymères. Université du Sud Toulon-Var. 6p.

Niesen, T.P and deGraine, M.R. (2002). Solid State Ionics, 151, 61.

O

OBSERVATION CLINIQUE B15-OBS 07 [en ligne], consulté en novembre 2012.
<http://desbiol.univ-paris5.fr/B15-obs07/index.html>.

OSMAN M. (2011). L'examen cytot bactériologique de pus .Mém : de fin d'étude en vue d'obtention d'un diplôme d'état. Université Stif.

Otto, M. (2012). MRSA virulence and spread. Cell. Microbiol. 14: 1513-1521.

Ouraipryvan, P. Sreethawong, T and Chavadej, S. (2009). Materials Letters, 63, 1862-1865.

P

Pal, S., Tak, Y. K., and Song, J. M. (2007). Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle ? a study of the gramnegative bacterium escherichia coli. Appl Environ Microbiol, 73(6) :1712–1720.

Peulon, S., Lincot, D., Electrchem, J. (1998). Soc, 145, 864.

Pohl, P. (1993). Les souches pathogènes d'*Escherichia coli*, histoire et classification. Annales de médecine vétérinaire 137:325-333.

Pool K. (2004). Efflux-mediated multiresistance in Gram-negative bacteria. Clin Microbiol Infect. 2004 Jan;10(1):12-26.

Poul, L.; Ammar, S.; Jouini, N.; Fievet, F.; Villain, F. (2001). Solid State Sci. 3, 31-36.

Prescott Harley, K. (2003) ; Microbiologie, Edition française Paris, PP 1053.1054.1055.1056.

Prescott L.M, Harley J.P, Klein D. (2010). Microbiologie. 2ème Edition Française de Boeck Université.

R

Ramoul, A. (2013). Sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire des bactéries responsables d'infections respiratoires basses. Thèse En vue de l'obtention d'un Diplôme de Doctorat : En microbiologie. Annaba : Université badji mokhtar, 16p.

Reddy, K. M., Feris, K., Bell, J., Wingett, D. G., Hanley, C., and Punnoose, A. (2007). Selective toxicity of zinc oxide nanoparticles to prokaryotic and eukaryotic systems. Appl Phys Lett, 90(213902) :2139021–2139023.

Ricaud, M. Witschger,O.(2012). Les nanomatériaux : Définitions, risques toxicologiques, caractérisation de l'exposition professionnelle et mesures de prévention. INRS : ED 6050.4p.

Robert, D. (2013). *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) : généralités, antibiotiques actifs, résistances acquises, et implication en pathologie communautaire illustrée par l'exemple des infections acquises au cours de la pratique sportive. Thèse pour le diplôme d'état de docteur : Pharmacie. Université angers, 22p.

Robles, M., Taguena-Martinez, J., del Rio, J. A. (1977). Thin solid films 293, 320-326.

Russo, T. A., and J. R. Johnson. (2000). Proposal for a new inclusive designation for extraintestinal pathogenic isolates of *Escherichia coli*: ExPEC. J. Infect. Dis. 181:1753-4.

S

Sajid M., Ilyas M., Basheer C., Tariq M., Daud M., Baig N. & Shehzad F. (2015). Impact of nanoparticles on human and environment: review of toxicity factors, exposures, control strategies, and future prospects. Environ. Sci. Pollut. Res. 22:4122–4143.

Salangsang JA, Harrison LH, Brooks MM, Shutt KA, Saul MI, Muto CA. (2010). Patient-associated risk factors for acquisition of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a tertiary care hospital. Infect Control Hosp Epidemiol ; 31:1139-47.

Scaria J, Palaniappan R, Chiu D, Ann Phan J, Ponnala L, McDonough P, Grohon Y, Porwollik S, McClelland M, Chiou C, Chu C, Chang Y-F. (2008). Microarray for molecular typing of *Salmonella enteric* serovars, Molecular and Cellular Probes, 22p, 238-243.

SCVMPH (Scientific Committee on Veterinary Measures Relating to Public Health) (2003). Opinion of the SCVMPH on Salmonella in Foodstuffs.

Silue, N (2005). Thermorésistance de trois serotypes de salmonella dans l'oeuf et les gesiers de poulets (Online). Mémoire : DEA Biotechnologies. Université Cocody d'Abidjan, Navoun SILUE.html.

Simon-Beckers, A. (2008). Effets biologiques de nanoparticules manufacturées : Influence de leurs caractéristiques. Thèse pour obtenir le grade de Docteur : Toxicologie humaine et environnementale. L'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (Agro Paris Tech), 8-9.47.48p.

Sondi, I. and Salopek-Sondi, B. (2004). Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for Gramnegative bacteria. *J. Colloid Interface Sci.* 275, 177–182.

Stauffer, E. (2003). *Science& Justice* 43, 29-40.

T

Taga, Y. (2001). Recent progress of nanotechnologies of thin films for industrial applications, *Materials Science and Engineering C15* (2001) 231-235.

Talon,D., Capellier,G., Boillot,A., and Michel-Briand,Y. (1995). Use of pulsed-field gel electrophoresis as an epidemiologic tool during an outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* lung infections in an intensive care unit. *Intensive Care Med* 21: 996-1002.

Tranchant, J. (2007). Etude de couches minces déposées par pulvérisation magnétron post-ionisée pour l'ingénierie de contraintes – cas du MoCr et de Nano-canaux de carbone, Thèse de l'Université de Nantes, pp. 16.

Tsao, N., Luh, T.-Y., Chou, C.-K., Chang, T.-Y., Wu, J.-J., Liu, C.-C., and Lei, H.-Y. (2002). In vitro action of carboxyfullerene. *J Antimicrob Chemother*, 49(4) :641– 649.

U

U Ozgur, Ya. I. Alivov, C. Liu, A. Teke, M. A. Reshchikow, S. Dogan, V. Avrutin, S.-J. Cho, et H.Morkoç. J. Appl. (2005). *Phys. Rev* 98, 041301.

V

Vaufrey, D. (2003). Thèse de doctorat, UMR CNRS 5512; (2003).

Vidic, J. (2013). Nanoparticules pour des applications antibactériennes, antifongiques et antivirales. Article / Réf : NM4060 v1.

Vincenot, F., M. Saleh et G. Prévost. (2008). Les facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus*. Rev. Fr. Labo. 407: 61-69.

W

Wuled Lenggoro, I., Hata, T., Iskander, F., Lunden, M. M and K.Okuyama. (2000). Journal of Material Research, 15 (3), 733-743.

Y

Yoon, K.-Y., Byeon, J. H., Park, J.-H., and Hwang, J. (2007). Susceptibility constants of *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* to silver and copper nanoparticles. Sci Total Environ, 373(2-3) :572–575.

You Essoh, C. (2013). Étude épidémiologique de souches de *Pseudomonas aeruginosa* responsables d'infections et de leurs bactériophages pour une approche thérapeutique. Thèse n cotutelle internationale. Paris-sud: Université paris-sud XI, 15.

Z

Zeyons, O. (2008). Etudes des interactions physicochimiques et biologiques entre des nanoparticules manufacturées et des bactéries de l'environnement. Thèse de doctorat : Physicochimie. France : l'université Paris VI - Pierre et Marie Curie, 21p.

Znaidi, L. (2010) Mater. Sci. Eng. B., 174, 1830.

Annexe

Annexe 01 : Milieux de culture

I. Gélose nutritive

Composition :

Peptone.....	5g
Extrait de viande.....	1g
Extrait de levure.....	2g
Chlorure de sodium.....	5g
Agar.....	15g

pH=7.4 a 25 C°.

Préparation : 28g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave : 15 minutes à 120°C.

II. Bouillon nutritive

Composition :

Peptone.....	5g
Extrait de viande.....	1g
Extrait de levure.....	2g
Chlorure de sodium.....	5g

pH =7.4 a 25 C°.

Préparation : 28g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave : 15 minutes à 120°C.

III. Muller-Hinton

Composition :

Peptone de caséine.....	17.5g
Viande de bœuf	300ml
Amidon de maïs	1.5g
Agar.....	17.0g

pH =7.4 a 25 C°.

Préparation : 38g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave : 15 minutes à 120°C.

Annexe 02 : Comptage des cellules

Pour une cellule de Malassez : chaque grand rectangle mesure 0.25mm de longueur et 0.2 mm de largeur ; l'épaisseur entre lame et lamelle est de 0.2mm ; le volume d'un grand rectangle = $0.01\text{mm}^3 = 0.00001 \text{ ml}$, soit (10^{-5})

$$\text{Nbr de germes/ml} = \frac{\text{n moyen}}{\text{volume d'un grand rectangle de la cellule de comptage (en ml)}}$$

Le nombre moyen de cellules par rectangle à partir de la dilution 10^{-2}

Tableau : résultat du comptage par la cellule de Malassez pour étudié l'effet de ZnO et MgO.

<i>Salmonella enterica</i>	<i>Pseudomonas areuginosa</i>	<i>E.coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus</i>
10 cellules	11 cellules	9 cellules	10 cellules	15 cellules

Tableau : résultat du comptage par la cellule de Malassez compte pour étudier l'effet de différent pourcentage de dopage.

<i>Salmonella enterica</i>	<i>Pseudomonas areuginosa</i>	<i>E.coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus</i>
11 cellules	15 cellules	3 cellules	11 cellules	13 cellules

Les résultats obtenus en éléments par ml c.à.d. UFC/ml

Tableau : Le nombre des cellules en UFC/ml pour étudié l'effet de ZnO et MgO.

<i>Salmonella enterica</i>	<i>Pseudomonas areuginosa</i>	<i>E.coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus</i>
$1.1 \cdot 10^6$	$1.5 \cdot 10^6$	$0.3 \cdot 10^6$	$1.4 \cdot 10^6$	$1.3 \cdot 10^6$

Tableau : Le nombre des cellules en UFC/ml pour étudié l'effet de différent pourcentage de dopage.

<i>Salmonella enterica</i>	<i>Pseudomonas areuginosa</i>	<i>E.coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus</i>
$1.7 \cdot 10^5$	$1.7 \cdot 10^7$	$1.4 \cdot 10^5$	$1.3 \cdot 10^5$	$3.4 \cdot 10^6$

Annexe 03 : Tableaux des mesures de la Densité optique

	T=0h	T=1h	T=2h	T=4h	T=20h	T=24h
Témoin <i>Salmonella enterica</i>	0.001	0.067	0.199	0.475	1.056	1.158
ZnO	0.001	0.056	0.129	0.247	0.876	1.049
MgO	0.001	0.058	0.141	0.329	0.906	1.072
ATB	0.001	0.058	0.060	0.052	1.044	1.184

	T= 0h	T= 2h	T= 4h	T= 20h	T= 24h
Témoin <i>Salmonella enterica</i>	0.002	0.006	0.175	2.752	3.232
5% MgO	0.002	0.001	0.061	1.951	2.855
15% MgO	0.002	0	0.017	1.901	2.561
50% MgO	0.002	0.004	0.077	1.925	2.777
75% MgO	0.002	0.006	0.078	1.949	2.852

	T=0h	T=1h	T=2h	T=4h	T=20h	T=24h
Témoin <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0.001	0.130	0.192	0.441	1.154	1.259
ZnO	0.001	0.058	0.085	0.057	0.894	0.934
MgO	0.001	0.054	0.102	0.296	0.939	1.094
ATB	0.001	0.064	0.051	0.052	1.309	1.373

	T= 0h	T= 2h	T= 4h	T= 20h	T= 24h
Témoin <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0.002	0.003	0.123	2.659	3.179
5% MgO	0.002	0	0.045	2.663	3.013
15% MgO	0.002	-0.018	0.016	2.371	2.821
50% MgO	0.002	0.001	0.076	2.676	3.106
75% MgO	0.002	-0.018	0.039	2.774	3.154

	T=0h	T=1h	T=2h	T=4h	T=20h	T=24h
Témoin E.coli	0.001	0.332	0.417	0.502	1.072	1.167
ZnO	0.001	0.088	0.278	0.321	0.792	0.881
MgO	0.001	0.048	0.22	0.247	0.775	0.847
ATB	0.001	0.052	0.046	0.033	1.153	1.277

	T= 0h	T= 2h	T= 4h	T= 20h	T= 24h
Témoin E.coli	0.001	0.004	0.176	2.67	2.981
5% MgO	0.001	0.005	0.147	1.83	1.928
15% MgO	0.001	0.002	0.064	1.666	1.714
50% MgO	0.001	0.004	0.128	1.981	2.829
75% MgO	0.001	-0.005	0.085	1.91	2.171

	T=0h	T=1h	T=2h	T=4h	T=20h	T=24h
Témoin <i>Staphylococcus aureus</i>	0.001	0.090	0.083	0.166	1.093	1.121
ZnO	0.001	0.079	0.073	0.082	0.994	0.955
MgO	0.001	0.041	0.033	0.074	0.99	1.047
ATB	0.001	0.062	0.046	0.050	1.053	1.167

	T= 0h	T= 2h	T= 4h	T= 20h	T= 24h
Témoin <i>Staphylococcus aureus</i>	0.001	0.004	0.021	2.66	3.11
5% MgO	0.001	0.004	0.002	1.907	2.69
15% MgO	0.001	-0.004	-0.004	1.927	2.66
50% MgO	0.001	0.001	0.004	1.862	2.617
75% MgO	0.001	0.002	0.002	1.976	2.687

	T=0h	T=1h	T=2h	T=4h	T=20h	T=24h
Témoin <i>Bacillus</i>	0.001	0.070	0.226	0.45	1.015	1.117
ZnO	0.001	0.057	0.147	0.270	0.856	0.849
MgO	0.001	0.053	0.172	0.364	0.776	0.746
ATB	0.001	0.058	0.059	0.036	1.135	1.293

	T= 0h	T= 2h	T= 4h	T= 20h	T= 24h
Témoin <i>Bacillus sp</i>	0.002	0.009	0.315	3.158	3.438
5% MgO	0.002	0	0.05	1.917	2.602
15% MgO	0.002	-0.001	0.071	1.898	2.63
50% MgO	0.002	0	0.065	1.905	2.685
75% MgO	0.002	0.006	0.214	1.906	2.401

NB : lors de la lecture sur le spectrophotomètre toutes les valeurs supérieures à un la suspension correspondante fera l'objet d'une dilution décimale puis une relecture de la valeur de sa D.O.

Résumé

Ce travail a eu pour objectif d'étudier l'activité antibactérienne de deux oxydes métalliques qui sont le ZnO et le MgO et leurs mixtures. Ces matériaux, sous leurs formes de couches minces et de NPs, ont été testés sur une série de cinq bactéries différentes, ce qui nous a permis d'évaluer l'effet des nanoparticules ZnO dopé MgO et de confirmer leur efficacité.

Pour ce faire, l'activité a été évaluée pour les deux formes : des NPs en suspension dans de l'eau distillée et en couche mince déposée sur le verre, ces deux formes sont obtenues en utilisant respectivement la méthode de co-précipitation chimique et la pulvérisation pyrolytique. La formation des deux oxydes est confirmée par la diffraction R-X et la fluorescence au R-X.

Cette évaluation de l'activité a été effectuée par des mesures de la densité optique dans le suivi de la croissance bactérienne pour les NPs en solution et par le test de diffusion sur gélose pour les deux formes du matériau ; Les résultats avec les deux méthodes ont révélé d'une part, l'effet inhibiteur durable des NPs pure et dopé et, d'autre part, de très bonnes activités antibactériennes des couches minces sur les bactéries Gram+.

Les tests antibactériens ont été réalisés sur quatre souches de référence qui sont *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica*, *E.coli*, *Staphylococcus aureus* et une souche clinique qui est le *Bacillus sp.* Certaines bactéries ont été sensibles (*Bacillus sp* et *E.coli*) d'autres peu résistantes surtout le *Pseudomonas aeruginosa*. A l'issue de ce travail il ressort que l'activité antibactérienne est meilleur pour ZnO dopé MgO dans une plage de 15 à 25 % MgO.

Mot clé : Les nanoparticules d'oxydes métalliques, Activité antibactérienne, ZnMgO, *E. coli*, *Bacillus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*.

الملخص

ان الهدف من هذا العمل هو دراسة النشاط الضد بكتيري لمركبين معدنيين مؤكسدين ZnO و MgO و طبيعتها التي تكون بشكل طبقات رقيقة و على شكل جزيئات نانومترية , حيث تم اختبارهم على خمسة عزلات بكتيرية مختلفة. مما سمح لنا بتقييم التأثير للجزيئات النانومترية لكل من ZnO و MgO و تأكيد فعاليتها.

لهذا فان تقدير النشاط الضد البكتيري للجزيئات النانومترية بشكل محاليل في الماء المقطر أو على هيئة طبقة رقيقة محملة على الزجاج , تم الحصول عليهما بطريقة الترسيب الكيميائي المرافق و الرش البيروليتي. حيث تم تكوين المركبين المؤكسدين عن طريق التجزئة ب (R-X) و الفلورية $(R-X)^2$.

ان التقييم للنشاط الضد بكتيري تم عن طريق قياس الكثافة الضوئية بتتبع تأثير الجزيئات النانومترية على النمو البكتيري على أوساط غذائية سائلة (Bouillon nutritif) أو صلبة (Gélose nutritive) او عن طريق الانتشار لكلا النوعين من المواد.

أظهرت نتائج كلتا الطريقتين من جهة الأثر التثبيطي المستمر للجزيئات النانومترية النقية ومن جهة أخرى نشاطية ضد بكتيرية جد حسنة للطبقات الرقيقة مع البكتيريا موجبة الجرام.

ان الاختبارات الضد بكتيرية المطبقة على العزلات البكتيرية الأربعة القياسية *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus sp* , *Salmonella enterica*, *E.coli*, *Staphylococcus aureus* بينت حساسية كل من (*Bacillus sp* , *E.coli*) , أما البعض الاخر فكان أقل مقاومة وخاصة *Pseudomonas aeruginosa*.

مع نهاية هذا البحث نستخلص أن النشاط الضد بكتيري كان جيد مع ZnO, MgO و قدر بمدى يتراوح من 15% الى 25% مع الجزيئات النانومترية لـ MgO

الكلمات المفتاحية : الجزيئات النانومترية المعدنية المؤكسدة , الطبقة الرقيقة , النشاط ضد بكتيري *ZnMgO*, *E. coli* , *Bacillus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'EFFET DES NANOMATÉRIAUX SUR LES BACTÉRIES

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Microbiologie Générale et biologie Moléculaire des microorganismes.

Résumé

Ce travail a eu pour objectif d'étudier l'activité antibactérienne de deux oxydes métalliques qui sont le ZnO et le MgO et leurs mixtures. Ces matériaux, sous leurs formes de couches minces et de NPs, ont été testés sur une série de cinq bactéries différentes, ce qui nous a permis d'évaluer l'effet des nanoparticules ZnO dopé MgO et de confirmer leur efficacité.

Pour ce faire, l'activité a été évaluée pour les deux formes : des NPs en suspension dans de l'eau distillée et en couche mince déposée sur le verre, ces deux formes sont obtenues en utilisant respectivement la méthode de co-précipitation chimique et la pulvérisation pyrolytique. La formation des deux oxydes est confirmée par la diffraction R-X et la fluorescence au R-X.

Cette évaluation de l'activité a été effectuée par des mesures de la densité optique dans le suivi de la croissance bactérienne pour les NPs en solution et par le test de diffusion sur gélose pour les deux formes du matériau ; Les résultats avec les deux méthodes ont révélé d'une part, l'effet inhibiteur durable des NPs pure et dopé et, d'autre part, de très bonnes activités antibactériennes des couches minces sur les bactéries Gram+.

Les tests antibactériens ont été réalisés sur quatre souches de référence qui sont *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica*, *E.coli*, *Staphylococcus aureus* et une souche clinique qui est le *Bacillus sp*. Certaines bactéries ont été sensibles (*Bacillus sp* et *E.coli*) d'autres peu résistantes surtout le *Pseudomonas aeruginosa*. A l'issue de ce travail il ressort que l'activité antibactérienne est meilleur pour ZnO dopé MgO dans une plage de 15 à 25 % MgO.

Mots clés : Les nanoparticules d'oxydes métalliques, Activité antibactérienne, ZnMgO, *E. coli*, *Bacillus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*.

Laboratoire de recherche : Laboratoire de Microbiologie N° 11.

Jury d'évaluation :

Encadreur : DEHIMAT L'aid (Pr - UFM Constantine),
Co-encadreur : ATTAF Nadhir (Pr - UFM Constantine),
Président du jury : ARABET Dallel (Dr - UFM Constantine),
Examinatrice: ALMI Hiba (Dr - UFM Constantine).

Date de soutenance : 11/06/2017

