



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 : *Biologie moléculaire des microorganismes*

Intitulé :

Contribution à l'étude de l'effet antibactérien de certains oxydes de métaux (ZnO, MgO)

Présenté et soutenu par : BENHAMOUDA KHADIDJA

Le : 24/06/2018

MELKI NIDAL

Jury d'évaluation :

Encadreur : *DEHIMAT Laid* (Pr - UFM Constantine).

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

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

Examinatrice: *BOUCHELUOKH Warda* (MAA - UFM Constantine).

*Année universitaire
2017 – 2018*

Remerciement

Avant toute chose, nous remercions dieu, le tout puissant, pour nous avoir donné la force et la patience.

Nous tenons à remercier de manière très particulièrement et à exprimer notre profonde reconnaissance au Professeur, DEHMAT LAD 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.

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.

Nos cordiaux remerciements vont tout particulièrement à Mr. ATTAJ 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 M. Bouchloukh Warda Docteur de l'UM 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 aux ATAF Rayen et docteur Chabi pour Leurs aide.

Un immense merci au personnel du laboratoire Mounia et yasser

Dédicace

Nous dédions ce modeste travail

A nos chers parents

A nos frères et nos sœurs :

De Nidal à Chourouk, Rokiya, Rayenne, Salah eldin

De khadidja à Amina, Akram, Abderrazak

A toute nos familles et surtout:

De Nidal à oncle Mohamed larbi et tante fatiha et tante Halima

De khadidja à oncle Hamza et tante fatiha

A tous nos amis et surtout:

De Nidal à Meriem, Soulef, Mira, Basma, Amina, Wafa

De khadidja à Widdad, Amina

A tous ceux que nous aimons.

Liste d'abréviations

$C_2H_4O_2$: acide acétique.

DRX : Diffraction des rayons X

EDS : Eau distillé stérile.

LB : Lysogeny broth ou incorrectement milieu Luria-Bertani.

MgO : Oxydes de magnésium.

MgSO₄ : Sulfate de magnésium.

NaOH : Hydroxyde sodium.

Nps : Nanoparticules.

ZnCl₂ : Chlorure de zinc.

ZnO : Oxyde de Zinc.

Liste des figures

Figure 1 : Détermination de la CMI par dilution en milieu liquide.

Figure 2 : Détermination de la CMI par dilution en milieu gélosé.

Figure 3. Des mécanismes de résistance aux antibiotiques (d'après l'Encyclopedia Britannica 2009)

Figure 4 : *Escherichia coli* sous microscope électrique à $G \times 1000$ (Avril et 2000)

Figure 5 : Aspect des colonies de *K. pneumoniae* sur milieu gélosé (Gueye, 2007)

Figure 6 : *Saphylococcus spp* sous microscope électronique (Centers for Disease Control and Prevention, 2009)

Figure 7 : Observation microscopique d'une espèce du genre *Bacillus* (Jeffrey, 2011)

Figure 8 : la structure d'un fullerène C_{60} . (Crédit : Chris Ewels)

Figure 9 : Effet de taille dans des cristaux formes de polyacènes.

Figure 10 : Oxyde de Zinc (ZnO) massif sous forme naturelle (a, b) et provenant de la synthèse hydrothermale (c).

Figure 11 : Spectre d'absorption optique du Nps MgO.

Figure 12 : le prélèvement des colonies à partir d'une culture bactérienne conservée.

Figure 13 : l'ensemencement de cinq souches par la technique du patch.

Figure 14 : Résultats de repiquages des souches

Figure 15 : L'application des nanoparticules (ou antibiotiques) sur les colonies bactériennes.

Figure 16 : Les diagrammes de diffraction (diffractogrammes) des Nps

Figure 17 : Effet observé chez *P. aeruginosa* sous aminosides à une concentration de 0.5 mg/ml

Figure 18 : Effet antibactérien du ZnO pure sur la souche de *S. aureus* à la concentration de 0.2 mg/ml

Figure 19: l'effet antibactérien du ZnO 5% MgO sur les cinq souches testées

Figure 20: l'effet antibactérien du ZnO 10 % MgO sur les cinq souches testées.

Figure 21: l'effet antibactérien du MgO 5% ZnO sur les cinq souches testées.

Figure 22: l'effet antibactérien du MgO 10% ZnO sur les cinq souches testées.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les applications des nanoparticules de ZnO et du ZnO massif.

Tableau 2 : effet antibactérien des céphalosporines, B- lactamine, macrolides, aminoside avec les concentrations 1 mg/ml ,2 mg/ml ,3 mg/ml, 4 mg/ml sur *E. coli*

Tableau 3 : effet antibactérien des céphalosporine, B- lactamine, macrolides, aminoside avec les concentrations 1 mg/ml ,2 mg/ml ,3 mg/ml, 4 mg/ml sur *S. aureus*.

Tableau 4 : effet antibactérien des céphalosporine, B- lactamine, macrolides, aminoside avec les concentrations 1 mg/ml ,2 mg/ml, 0,5 mg/ml, 0,2 mg/ml sur *P. aeruginosa*

Tableau 5 : effet antibactérien des céphalosporine, B- lactamine, macrolides, aminoside avec les concentrations 1 mg/ml ,2 mg/ml ,3 mg/ml, 4 mg/ml sur *Bacillus*

Tableau 6 : effet antibactérien des céphalosporines, B- lactamine, macrolides, aminoside avec les concentrations 1 mg/ml ,2 mg/ml ,3 mg/ml, 4 mg/ml sur *Klebsiella*

Table des matières

LISTE DES ABRÉVIATION	
LISTE DES FIGURES	
LISTE DES TABLEUX	
INTRODUCTION	
I. Synthèse bibliographique	
Chapitre 1: Les antibiotiques dans le monde médicale	
1.1. introduction	1
1.2. Définition des antibiotiques	3
1.3. Histoire de l'antibiotherapie	3
1.4. Mode d'action des antibiotiques	4
1.5. Antibiogramme	5
1.5.1. Définition	5
1.5.2 Les techniques utilisées	6
1. 5.2.1 Méthode de dilution	6
1. 5.2.1.1 En milieu liquide	6
1.5.2.1.2 En milieu solide	6
1.5.2.2 Méthodes de diffusion	7
Chapitre 2 : la résistance bactérienne aux antibiotiques	
2.1 Introduction	8
2.2 Définition de la résistance	8
2.3 L'origine de l'antibioresistance	8
2.3.1. La résistance naturelle	9

2.3.2. La résistance acquis	9
2.4 Les mécanismes de la résistance bactérienne	10
2.4.1 Modification de la cible de l'antibiotique	10
2.4.2 La destruction ou la modification de l'antibiotique par une inactivation enzymatique	11
2.4.3. Inaccessibilité à la cible	11
2.5 Les bactéries	12
2.5.1 <i>Escherichia coli</i>	12
2.5.1.1 Généralité	12
2.5.1.2 La résistance aux antibiotiques	13
2.5.2 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	13
2.5.2.1 Généralité	13
2.5.2.2 La résistance aux antibiotiques	14
2.5.3 <i>Staphylococcus aureus</i>	14
2.5.3.1. Généralité	14
2.5.3.2 La résistance aux antibiotiques	15
2.5.4 <i>Bacillus subtilis</i>	15
2.5.4.1 Généralité	15
2.5.4.2 La résistance aux antibiotiques	16
2.5.5 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16
2.5.5.1 Généralité	16
2.5.5.2 La résistance aux antibiotiques	17
Chapitre 3 : Les nanoparticules	
1 Introduction	18

2 Définition	18
3 Effet de taille	19
4 L'oxyde de Zinc	20
4.1 Généralités de l'oxyde de Zinc	20
4.2 Les nanoparticules de ZnO	21
4.2.1 Propriétés structurales	21
4.2.2 Propriétés optiques	22
4.2.3 Propriétés électriques et électroniques	23
4.2.4 Quelques applications de ZnO	24
5 L'oxyde de Magnésium	25
5.1 Généralités de l'oxyde de Magnésium	25
5.2 Caractéristiques du MgO	25
5.3 Propriétés structurales	26
5.4 Les propriétés optiques	26
II. Matériel et méthodes	
1 Matériel	
1.1 Milieu de culture	28
1.2 Souches bactériennes	28
1.3 Les nanoparticules	28
1.4 Les familles d'antibiotiques utilisées	29
1.5 Appareils	29
1.6 Solution	29
1.7 Solvants	29

2 Méthodologie	
2.1 Procédé de préparation des nanoparticules d'oxydes	30
2.2 Repiquage des souches	30
2.3 La technique des tests antibactériens	30
2.3.1 Le repiquage des souches à testées	30
2.3.2 Application des NPs et des antibiotiques sur les colonies des souches testées	32
2.4 Identification des Nps préparées	33
III. Résultats et discussions	
1 Effet des antibiotiques sur les différentes souches bactériennes	34
2 Effet des NPs sur les différentes souches bactériennes	38
3 Effet antibactérien des oxydes de métaux dopés	39
Conclusion	42
Référence bibliographique	43
Liste des annexes	48
Résumé	
Abstract	
ملخص	

Introduction

Introduction

Une des révolutions médicales du XX^{ème} siècle est la découverte des antibiotiques. Ces molécules ont apporté un immense bénéfice à l'humanité en permettant de soigner de nombreuses infections bactériennes et en faisant diminuer considérablement la mortalité qui y était associée.

Mais, malheureusement la résistance bactérienne aux antibiotiques constitue aujourd'hui l'une des plus graves menaces pesant sur la santé mondiale. Ce phénomène peut être naturel. En effet, plusieurs bactéries sont naturellement résistantes à plusieurs sortes d'antibiotiques en portant au sein de leurs chromosomes des gènes codant pour des protéines qui peuvent entraver l'action des antibiotiques. La résistance peut également être d'origine externe. Une bactérie peut évoluer grâce à divers mécanismes et devenir résistante à un antibiotique qui avait autrefois une action efficace sur elle. On dit alors que la bactérie a acquis de la résistance.

Cependant, l'usage abusif de ces médicaments et les pratiques insensées telles que l'automédication accélèrent le processus de l'acquisition de la résistance. L'homme s'avère ainsi l'une des principales raisons de la propagation de la résistance bactérienne aux antibiotiques.

Dans le cas de la résistance acquise, le phénomène apparaît habituellement quand une modification se produit dans les gènes de la bactérie ce qui lui permet de se protéger de l'antibiotique ou de carrément le neutraliser. La bactérie peut ainsi survivre au traitement et poursuivre sa multiplication. Elle transmet alors sa capacité à résister à l'antibiotique aux nouvelles cellules filles. Le risque s'accroît lorsque la résistance ne concerne pas uniquement une seule famille d'antibiotiques mais plutôt plusieurs. On parle dans ce cas là de « Multi-résistance ». Les bactéries multirésistantes aux antibiotiques sont le plus souvent des bactéries nosocomiales.

Pour lutter contre la résistance bactérienne, la découverte de nouveaux antibiotiques s'avère nécessaire. Mais la recherche est également axée sur la découverte d'autres molécules permettant par exemple d'atténuer la virulence ou de potentialiser l'effet d'antibiotiques existant.

Les nanoparticules d'oxydes métalliques (des particules de dimensions inférieures à 100 nm.) constituent l'une des éventuelles alternatives aux antibiotiques. Ces nanoparticules possèdent des propriétés électroniques, magnétiques, catalytiques, mécaniques ou encore

biologiques offrant des avantages dans des domaines très variés L'effet antimicrobien des nanoparticules est inversement proportionnel à leur taille. En effet, à l'échelle nanométrique les nanoparticules possèdent une efficacité améliorées par rapport aux mêmes matériaux de plus grande taille. Ainsi, les recherches actuelles qui s'intéressent à ce type de molécules, tournent autour de l'optimisation de leur action antibactérienne tout en minimisant leur toxicité.

Dans notre travail, nous allons nous intéresser à quelques oxydes de métaux en testant leur activité sur la croissance de souches bactériennes déjà isolées d'un environnement clinique et identifiées par certaines techniques moléculaires et biochimiques. L'objectif serait de comparer l'action de ces nanoparticules à celle des antibiotiques qui sont habituellement utilisés dans les milieux hospitaliers.

La première partie de ce travail est consacrée à une synthèse bibliographique comporte trois chapitres, d'abord les antibiotiques dans le monde médical, ensuite la résistance bactérienne acquis contre ces antibiotiques, et enfin l'utilisation des NPs comme perspective pour lutter cette antibiorésistance. La deuxième partie de ce travail détaille les matériels et les méthodes utilisées. La dernière partie de ce travail est présentée les résultats obtenus, et son discussion.et nous finirons par une conclusion.

I. Synthèse

bibliographique

Chapitre 1 :

Les antibiotiques

Chapitre1 : Les antibiotiques dans le monde médical**1.1 Introduction**

À l'origine, le mot antibiotique désigne tout produit microbien qui, à de très faibles concentrations est capable d'inhiber ou de tuer certains micro-organismes. On l'emploie maintenant dans un sens plus large qui inclut, en outre, toute substance synthétique ou semi-synthétique dotée de ces propriétés **(Singleton, 2004)**.

1.2 Définition

Un antibiotique est une substance antimicrobienne d'origine biologique, soit elle est produite par un microorganisme (champignon microscopique, bactérie) ou de synthèse chimique. Il est capable d'inhiber la multiplication ou détruire d'autres microorganismes. **(Boulaïbal, 1986)**.

1.3 Histoire de l'antibiothérapie

La découverte des agents infectieux bactériens se fit à la fin du 19^{ème} siècle et stimula la recherche de traitements appropriés. Ce n'est qu'un siècle plus tard que la découverte des antibiotiques permit de lutter efficacement contre ces infections **(Calgary and Lacroix, 2011)**.

En 1937, la première molécule antibiotique efficace lancée sur le marché fut le Septoplax® , développé après la découverte de Dogmack sur l'efficacité antibiotique de la sulfamidochrysoïdine, colorant alimentaire, fut utilisé contre les streptocoques. Mais il présentait toutefois des limites en termes de sécurité et d'efficacité **(calage and Lacroix, 2011 ; Saga. 2009. Davies Julian and Davies Drothy ,2010)**.

En 1928, Alexander FLEMMING fit une découverte surprenante : la croissance de souches de *Staphylococcus aureus* était inhibée en présence d'une moisissure bleue (du genre *Penicillium*). La pénicilline, substance produite par ces moisissures, venait d'être découverte. Elle fut commercialisée dans les années 1940. Cette molécule d'origine naturelle, très efficace, sauva la vie de nombreux soldats lors de la seconde guerre mondiale.

Les deux décennies suivantes, de nouvelles classes d'antibiotiques n'ont cessé d'être découvertes, synthétisées, et commercialisées. Les années 1950 virent apparaître des

molécules telles que la streptomycine (chef de file des aminosides), le chloramphénicol, des tétracyclines, macrolides, ou encore la vancomycine (antibiotique glycopeptidique). En 1962, le premier antibiotique de la famille des quinolones fut synthétisé : l'acide nalidixique (**Saga and Yamaguchi, 2009**).

Au fil du temps, chaque famille d'antibiotique s'agrandit, avec des molécules ayant un spectre d'action de plus en plus large, et une pharmacologie améliorée. Ces médicaments révolutionnent le monde médical et on croit alors dans les années 1980 que les infections bactériennes feront bientôt partie du passé. Mais malgré le nombre incroyable de molécules disponibles, les infections bactériennes continuent d'attaquer l'homme, et des multi-résistances émergent. Ces résistances, en plus de leur impact sur la santé publique, en menaçant la vie humaine et en engendrant des coûts énormes, ont eu des conséquences sur la recherche de nouvelles molécules antibiotiques. En effet, du fait du risque d'apparition de résistance, beaucoup de travaux sur de nouveaux antibiotiques ont été abandonnés par les laboratoires pharmaceutiques, et depuis les années 2000, très peu de nouvelles molécules ont été lancées sur le marché (**Pechere, 2004**).

1.4 Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques sont considérés comme le groupe le plus important de médicaments utilisés en médecine. À côté de leurs propriétés de lutter contre les infections bactériennes chez l'homme dues aux bactéries pathogènes, ils sont également utilisés en médecine vétérinaire (**Emmanuel, 2003**). Ils agissent à un niveau précis dans les structures bactériennes et chaque famille possède son propre site d'action.

- Action sur la paroi bactérienne : Bacitracine, Pénicilline, Céphalosporines sont tous des familles d'antibiotiques qui agissent sur les germes en croissance inhibant la dernière étape de la biosynthèse du peptidoglycane (la muréine, composant essentiel de la paroi bactérienne) (Zeba, 2005). Il est important de préciser que dans le cas de la pénicilline c'est la synthèse du peptidoglycane qui est inhibée et donc la paroi cellulaire est affaiblie. La cellule finit alors par être lysée. Ceci est dû au fait que la pénicilline agit seulement sur les cellules en croissance active (**Gerard. et al. , 2003**).

- Action sur la structure de la membrane : en désorganisant sa structure et son fonctionnement, ce qui produit de graves troubles d'échange électrolytique avec le milieu extérieur (**Flandrois et al. , 1997**).

- Action sur les ribosomes : ce qui entraine l'arrêt de la biosynthèse des protéines ou la formation de protéines mal repliées. Les aminoglycosides ou aminosides (Streptomycine, gentamycine, amikacine), empêchent la traduction de l'ARNm en se fixant sur la petite sous-unité des ribosomes (**Hermann, 2005**). Les phénicolés (chloramphénicol, thiamphénicol) bloquent la formation de la liaison peptidique sur la grosse sous-unité du ribosome bactérien. Les cyclines (tétracycline, doxycycline) bloquent l'élongation de la chaîne peptidique en se fixant sur la petite sous-unité (**Flandrois et al., 1997**). Les macrolides et les kétolides (érythromycine, azithromycine) bloquent l'élongation de la chaîne peptidique (**Nilius et Ma, 2002**). La puromycine copie l'extrémité d'un ARNt, prend sa place dans le ribosome et bloque ainsi l'élongation de la chaîne peptidique.

- Action sur la synthèse de l'ADN : certaines familles d'antibiotiques empêchent la réplication d'ADN en bloquant la progression de l'ADN polymérase.

Autre : en agissant tant qu'antimétabolites bactériens (c'est-à-dire au niveau des étapes du métabolisme intermédiaire des bactéries), en intervenant par exemple dans le métabolisme de l'acide folique (**Gerard. et al. , 2003**).

Toutes ces catégories d'antibiotiques ne peuvent agir efficacement que lorsqu'elles sont administrées à des doses bien précises. Pour pouvoir déterminer ces dernières, de nombreuses méthodes ont été développées, parmi lesquelles on cite « l'Antibiogramme ».

1.5 Antibiogramme

1.5.1 Définition

C'est la détermination des CMI d'un groupe d'antibiotiques vis-à-vis d'un germe isolé chez un patient. Ce test a pour but de prédire la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques connus dans une optique essentiellement thérapeutique. Il sert également à la surveillance épidémiologique de la résistance bactérienne et à l'identification bactérienne par la mise en évidence de résistances naturelles ou acquises (**Cavallo,2014**)

1.5.2 Les techniques utilisées

1.5.2.1 Méthodes de dilution

Les méthodes de dilution sont effectuées en milieu liquide ou en milieu solide. Elles consistent à mettre un inoculum bactérien standardisé au contact de concentrations croissantes d'antibiotiques selon une progression géométrique de raison 2.

1.5.2.1.1 En milieu liquide

L'inoculum bactérien est distribué dans une série de tubes ou de cupules contenant l'antibiotique. Après incubation, la CMI est indiquée par le tube ou la cupule qui contient la plus faible concentration d'antibiotique où il y a l'absence du trouble, dans la figure (1) la concentration 2mg/ml représente la CMI.

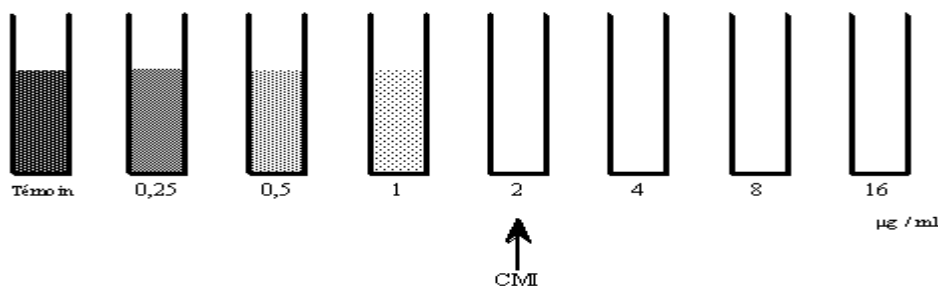


Figure 1 : Détermination de la CMI par dilution en milieu liquide.

1.5.2.1.2 En milieu solide

L'antibiotique est incorporé dans un milieu gélosé coulé en boîtes de Pétri. La surface de la gélose estensemencée avec un inoculum des souches à étudier. Après incubation pendant 24h à 37°C, la CMI de chaque souche est déterminée par l'inhibition de la croissance sur le milieu contenant la plus faible concentration d'antibiotique. La méthode est réalisée avec une gamme de concentrations en progression géométrique de raison 2, dans la figure (2) la concentration 2mg/ml représentent la CMI.

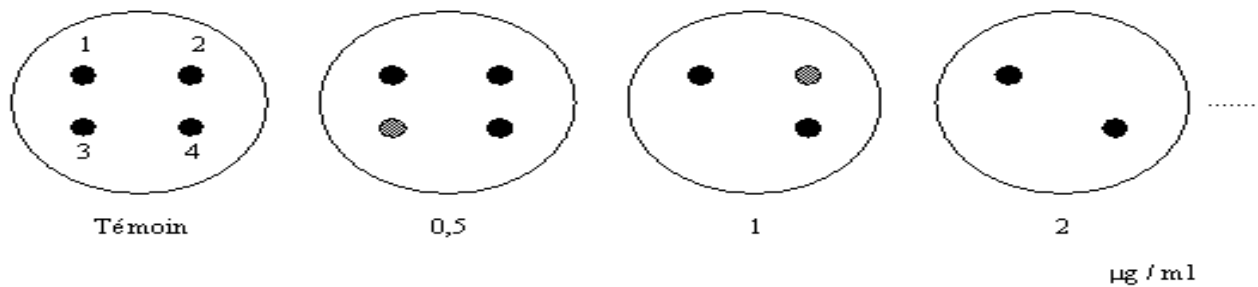


Figure 2 : Détermination de la CMI par dilution en milieu gélosé.

1.5.2.2 Méthodes de diffusion

Les méthodes de diffusion ou antibiogrammes standards sont les plus utilisées par les laboratoires de diagnostic.

D'abord on ensemence sur un milieu gélosé avec une culture pure de la souche à étudier, après on dépose à la surface des disques de papier buvard, imprégnés des antibiotiques à tester.

Dès l'application des disques, les antibiotiques diffusent de manière uniforme si bien que leurs concentrations sont inversement proportionnelles à la distance du disque. Après incubation, les disques qui s'entourent de zones d'inhibition circulaires correspondant à une absence de culture. Les diamètres des zones d'inhibition dépendent uniquement de la sensibilité du germe. (Burnichon and Texier, 2003).

Chapitre 2 :

La résistance

bactérienne aux

antibiotiques

Chapitre 2 : La résistance bactérienne aux antibiotiques**2.1 Introduction**

La résistance aux antibiotiques constitue aujourd'hui l'une des plus graves menaces pesant sur la santé mondiale. Elle atteint désormais des proportions dangereuses dans toutes les régions du monde. Chaque jour, de nouveaux mécanismes de résistance voient le jour et se propagent à l'échelle mondiale, compromettant notre capacité de traiter les maladies infectieuses les plus courantes. **(OMS, 2014-2015)**

Lorsqu'une infection ne peut plus être traitée par un antibiotique de première intention, on doit recourir à des médicaments plus coûteux. De plus, la prolongation de la maladie et du traitement, souvent dans le cadre d'une hospitalisation, accroît les dépenses de santé, ainsi que la charge financière pesant sur les familles et la société. La résistance aux antibiotiques compromet également les acquis de la médecine moderne. En l'absence des antibiotiques efficaces pour prévenir et traiter les infections, les greffes d'organes, la chimiothérapie et certaines interventions chirurgicales deviendront beaucoup plus dangereuses. **(<http://www.invs.sante.fr/Dossierthematiques/Maladies-infectieuses/Resistance-aux-anti-infectieux/Publications-de-referance>).**

Un premier rapport de l'OMS sur la résistance aux antibiotiques a dressé un tableau très complet de la résistance actuelle aux antibiotiques à travers les données provenant de 114 pays. Ce rapport a fait état de la présence d'une résistance aux antibiotiques dans toutes les régions du monde et a accordé une grande priorité à la lutte contre l'antibiorésistance. Un plan d'action pour combattre la résistance aux antibiotiques a été mis en place et a été approuvé par l'Assemblée mondiale de la Santé en mai 2015. **(OMS, 2015)**

2.2 Définition de la résistance bactérienne

Selon Ferron « une bactérie est résistante à un antibiotique lorsqu'elle supporte des concentrations inhibitrices de cet antibiotique supérieures aux concentrations que l'on peut obtenir dans l'organisme sans atteindre les doses toxiques » **(FERRON, 1994).**

2.3 L'origine de l'antibiorésistance

L'antibiorésistance considérer comme une réponse physiologique de la bactérie qui peut être naturelle ou acquise.

2.3.1 La résistance naturelle

Certaines bactéries sont naturellement résistantes à des antibiotiques car leur patrimoine génétique leur permet de se défendre grâce à plusieurs techniques. La résistance peut être due à la structure de la bactérie. Par exemple, les mycoplasmes par leur absence de paroi sont insensibles aux bêtalactamines) ou à l'impossibilité pour l'antibiotique de pénétrer dans la cellule. C'est le cas des bactéries Gram négatif qui sont insensibles à la vancomycine grâce à leur membrane externe. Ces résistances sont retrouvées dans l'ensemble des souches d'une même espèce contre une même famille d'antibiotiques et représentent donc le spectre d'activité naturel des familles et sous-familles d'antibiotiques (**Scott, 2009. Guerin-Fauble, 2010**).

Les bacilles à Gram négatif et notamment les entérobactéries dont *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* sont naturellement résistants, le plus souvent à bas niveau, aux antibiotiques hydrophobes et/ou de masse moléculaire élevée (pénicilline G, pénicilline M, macrolides, rifampicine, acide fusidique, novobiocine, vancomycine) puisque ces antibiotiques ne peuvent traverser la membrane externe de la paroi. *Klebsiella pneumoniae* est naturellement résistante à l'amoxicilline, ampicilline et à la ticarcilline, grâce à une β -lactamase chromosomique naturelle (**Pina et al. , 2000**).

Les bactéries anaérobies sont naturellement résistantes aux aminosides car le passage des aminosides à travers la membrane cytoplasmique nécessite un système de transport actif absent chez les anaérobies. Pour les mêmes raisons, les bactéries aéroanaérobies facultatives sont moins sensibles aux aminosides lorsqu'elles sont placées dans un environnement pauvre en oxygène (**Paul, 2005**).

Certaines espèces (*Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Nocardia spp.*, ...) produisent naturellement des β -lactamases (**Paul, .2005**).

2.3.2 La résistance acquise

La résistance acquise entraîne la résistance à un ou plusieurs antibiotiques auxquels la bactérie était sensible auparavant. Cette résistance peut survenir via une mutation (directement sur le chromosome bactérien) ou plus fréquemment par acquisition de matériel génétique mobile (plasmide, transposon, intégron ...) permettant dans les deux cas de contourner l'effet délétère de l'antibiotique (SCOTT, 2009. Guerinfauble, 2010).

En général, les mutations permettent aux bactéries de se doter d'une résistance à un antibiotique ou une famille d'antibiotique, alors que, via un plasmide, elles peuvent acquérir simultanément une résistance pour plusieurs antibiotiques ou plusieurs familles d'antibiotiques. Dans toute population bactérienne, il existe une faible fraction de germes (1%) ayant une tolérance phénotypique aux antibiotiques. Cette résistance adaptative est due à un phénomène épigénétique. Ces germes particuliers sont appelés « persisters » ou « dormants ». Il a été démontré que ces cellules jouent un rôle dans le caractère récalcitrant des biofilms aux antibiotiques et de la difficulté à traiter certaines maladies chroniques comme la tuberculose (Keren et al. 2004. Lewis, 2001).

Ce phénomène a atteint une telle ampleur que la seule identification bactérienne ne permet plus de prédire le comportement d'une souche isolée vis à-vis des antibiotiques (Ros, 1999. Meyer et al. 2004).

2.4 Les mécanismes de la résistance bactérienne

Il y a trois grands mécanismes permettant aux bactéries de résister à un antibiotique, et la figure (3) illustre ces différents mécanismes.

2.4.1 Modification de la cible de l'antibiotique.

Cette modification peut être soit directement due à une modification de la structure de la cible soit due à une modification de la voie de synthèse de cette cible pour lui conférer une nouvelle structure tridimensionnelle. Ce mécanisme va jouer sur différents composants cellulaires. Prenons l'exemple des macrolides qui agissent en se fixant aux ribosomes des bactéries. Pour contourner cet effet, une mutation génétique permet de synthétiser un nouveau ribosome qui ne sera pas reconnu par l'antibiotique.

Ce mécanisme est globalement utilisé contre la majorité des antibiotiques notamment chez les bactéries Gram négatif qui, en modifiant les cibles des antibiotiques, développent un haut degré de résistance.

Les antibiotiques d'une même famille ayant généralement la même cible, ce mécanisme confère aux bactéries une résistance croisée pour toutes les molécules de la même famille.

Cliniquement, cette résistance ne se traduit pas toujours par un échec thérapeutique. En effet, certaines familles d'antibiotiques conservent une efficacité car leur CMI n'est pas forcément proportionnellement augmentée. (Scott, 2009. Guerin-fauble, 2010)

2.4.2 La destruction ou la modification de l'antibiotique par une inactivation enzymatique

Cette destruction ou modification l'empêche de reconnaître sa cible. Ce mécanisme se rencontre surtout contre les bêta-lactamines, les macrolides, le chloramphénicol et les aminosides. Une résistance croisée est également possible mais moindre que pour le premier mécanisme. (Scott, 2009. Guerin-fauble, 2010)

2.4.3 Inaccessibilité à la cible

Les bactéries peuvent également rendre leurs cibles inaccessibles. Ce mécanisme consiste soit à diminuer la perméabilité membranaire à la pénétration de l'antibiotique soit à rejeter l'antibiotique par phénomène actif d'efflux.

La diminution de la perméabilité membranaire est rendue possible grâce à une mutation des gènes codant les porines membranaires, portes d'entrée des antibiotiques, réduisant leur diamètre et empêchant leur passage dans le milieu intracellulaire.

Le phénomène d'efflux est un mécanisme actif rejetant directement les antibiotiques à l'aide de pompes membranaires spécifiques (Scott, 2009. Guerin-fauble, 2010).

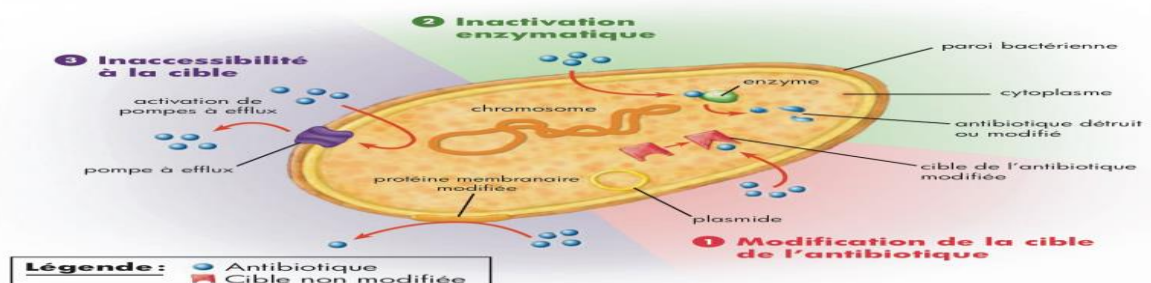


Figure 3. Des mécanismes de résistance aux antibiotiques (d'après l'Encyclopedia Britannica 2009)

2.5 Les bactéries

Les bactéries sont des microorganismes unicellulaires. Elles sont capables de se reproduire de façon autonome. La taille des bactéries varie de 1 à 10 µm, et elles pèsent de l'ordre de 10-12 grammes. Elles sont présentes partout, on connaît quelques 8 000 espèces mais on estime qu'il en existerait 100 à 1000 fois plus (Cottinet ,2013).

Dans notre mémoire nous nous sommes intéressées à cinq souches bactériennes qu'ils ont acquis des résistances aux antibiotiques largement utilisées, il s'agit de :

- *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*.

2.5.1 *Escherichia coli*

2.5.1.1 Généralité

Le genre *Escherichia* comprend plusieurs espèces, dont seule *E.coli* (colibacille) est potentiellement pathogène pour l'homme (figure 4). C'est l'espèce bactérienne la plus étudiée par les fundamentalistes pour des travaux de physiologie et de génétique (Avril et al., 2000).

Elle représente l'espèce dominante de la flore intestinale aérobie, où elle participe à la barrière intestinale en arrêtant la croissance d'espèces bactériennes nuisibles. La colonisation du tube digestif commence dès les premières heures après la naissance et le rythme de division d'*E.coli* lui permet de garder pendant toute la vie de l'individu sa place dominante dans la flore (une division toute les 20 min à 37°C et en conditions favorables). La présence de cette bactérie dans le sol, l'eau ou les aliments témoigne d'une contamination fécale et suggère la possibilité que d'autres bactéries ou virus d'origine digestive s'y trouvent. On considère que sa présence rend l'eau ou les aliments impropres à l'utilisation ou à la consommation.(Aril et al., 1987 ; Cristian et al., 2008).



Figure 4 : *Escherichia coli* sous microscope électrique à $G \times 1000$ (Avril et 2000)

2.5.1.2 La résistance aux antibiotiques

Les mécanismes de résistance déployés par les entérobactéries, y compris *E. coli*, à l'encontre des β -lactamines sont de quatre ordres, parfois plus ou moins associés : défaut de pénétration par imperméabilité de la paroi bactérienne, excrétion de la molécule antibiotique, défaut d'affinité pour la cible (PLP), mais la production d'enzymes inactivatrices, les β -lactamases, est le principal mécanisme (Bonnet, 2006).

2.5.2 *Klebsiella pneumoniae*

2.5.2.1 Généralité

Le genre *Klebsiella* a été nommé par Trevisan en 1887 pour honorer Klebs Edwin, un microbiologiste Allemand du 19^{ème} siècle. L'espèce type est *Klebsiella pneumoniae* connue autrefois sous le nom de pneumobacille de Friedlander. Ce dernier avait décrit cette bactérie dans les poumons d'un patient décédé d'une pneumonie (Freney et al., 2000).

K. pneumoniae est une espèce ubiquitaire, et fréquemment isolée dans l'environnement à partir d'échantillons de sol, d'eaux de surface, d'eaux usées, de végétaux, et de muqueuses des mammifères, en particulier de la flore fécale (figure 5). Chez l'homme, cette espèce végète sur la peau, les muqueuses, les voies respiratoires supérieures (Baerwolf et al., 2002).

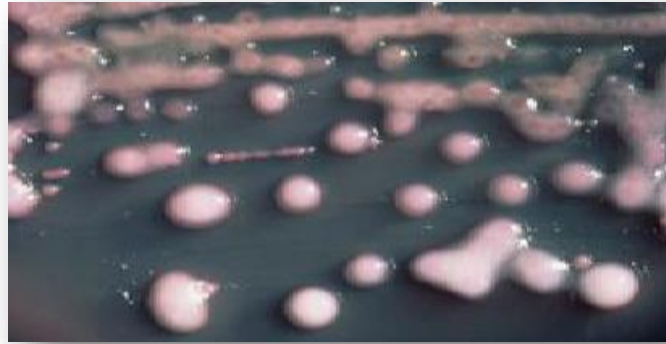


Figure 5 : Aspect des colonies de *K. pneumoniae* sur milieu gélosé (Gueye, 2007)

2.5.2.2 La résistance aux antibiotiques

K. pneumoniae possède naturellement un gène codant pour une pénicillinase chromosomique qui lui confère une résistance à bas niveau aux pénicillines (amino-, carboxy- et uréido- pénicillines). Cette pénicillinase est sensible à l'action des inhibiteurs (acide clavulanique, tazobactam). Ainsi, le phénotype sauvage de *K. pneumoniae* est sensible aux associations amoxicilline (ou ticarcilline) + acide clavulanique et pipéracilline + tazobactam ainsi qu'à l'ensemble des céphalosporines. Elle est également sensible aux céfamycines, à l'aztréonam et aux carbapénèmes (Courvalin et al., 2006).

Concernant les autres antibiotiques, *K. pneumoniae* est sensible aux aminosides, aux fluoroquinolones, à la fosfomycine et au cotrimoxazole.

2.5.3 *Staphylococcus aureus*

2.5.3.1. Généralité

S. aureus est un pathogène humain majeur qui a été mis en évidence en 1881 par Alexander Ogston.

Les bactéries du genre *Staphylococcus* sont ubiquitaires, peu exigeantes et capables de vivre dans de nombreux sites, essentiellement en saprophyte de l'environnement extérieur, mais aussi en commensal des épithéliums cutanés et muqueux des hommes et des animaux. (wertheim et al., 2005).

L'homme est le principal réservoir naturel de *Staphylococcus*, il présente un portage sain, spécifiquement au niveau des cavités nasales. Chez l'homme, les staphylocoques en particulier les espèces *S. aureus* (figure 6) et *S. epidermidis* font partie de la flore résidente cutanée de nombreux individus qui sont des « porteurs asymptomatiques » (Wylie and Nowicki, 2005).

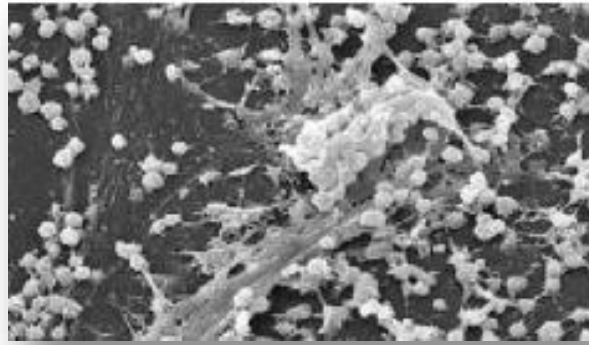


Figure 6 : *Staphylococcus spp* sous microscope électronique (centers for Disease Control and Prevention, 2009)

2.5.3.2 La 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).

2.5.4. *Bacillus subtilis*

2.5.4.1 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 and 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 (figure 7). On en trouve dans les sols qui représentent 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).

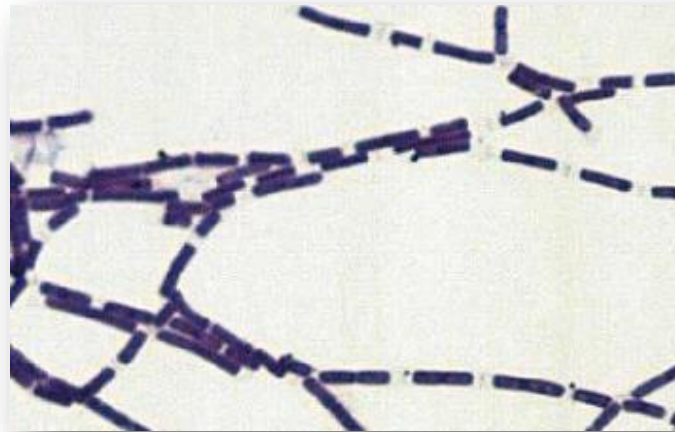


Figure 7 : Observation microscopique d'une espèce du genre *Bacillus* (Jeffrey, 2011)

2.5.4.2 La résistance aux antibiotiques

B. subtilis est l'une des bactéries qui ont la capacité de former par enkystement, des spores métaboliquement inactives et qui peuvent survivre sous cette forme plusieurs millions d'années (Nicholson et al., 2000).

Les spores résistent efficacement à de nombreuses perturbations environnementales comme des traitements thermiques à plus de 140 °C, à des pressions de plus de 4 GPa, à un manque de nutriments, et également à la plupart des agents antimicrobiens (Nicholson et al., 2000; Driks, 2002; Nicholson et al., 2002; Errington, 2003).

2.5.5 *Pseudomonas aeruginosa*

2.5.5.1 Généralité

L'espèce *P. aeruginosa* est ubiquitaire dans l'environnement et peut être commensale du tube digestif. Dans l'environnement, elle est trouvée dans le sol, dans l'eau, à la surface des plantes et des animaux.

En milieu hospitalier, *P. aeruginosa* est parfois retrouvé dans les solutions aseptiques et sur les instruments tels que les cathéters, les sondes, ou dans les canalisations. (**Wolfgang K. et al. 2003**).

2.5.5.2 La 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 résistant 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**).

Chapitre 3 :
Les
nanoparticules

Chapitre 3 : Les nanoparticules

1. Introduction

Les matériaux ayant une échelle nanométrique peuvent acquérir des propriétés (physiques, chimiques, mécaniques...) différentes de celles observées pour les mêmes matériaux à des échelles supérieures, et pouvant présenter un intérêt particulier notamment d'un point de vue industriel. L'approche des nanotechnologies est liée à l'exploitation de ces propriétés nouvelles afin de répondre à certains enjeux majeurs du XXI^{ème} siècle, tels que la lutte contre la pollution de l'eau et du sol, le stockage de l'énergie, la prévention des maladies infectieuses.

Le développement des nanomatériaux et leur emploi sont en croissance depuis une dizaine d'années. Les propriétés physico-chimiques de ces matériaux permettent leur utilisation pour des applications variées, comme la fabrication de produits alimentaires ou cosmétiques, le développement d'outils pour l'électronique ou encore les sciences biomédicales. Parmi ces matériaux, les Nps de métaux et d'oxydes métalliques suscitent de plus en plus d'intérêt. Ainsi, les Nps d'argent (Ag), de cuivre (Cu) et d'oxyde de cuivre (CuO) sont fréquemment utilisées pour leurs caractères bactéricides, tandis que les propriétés paramagnétiques des Nps d'oxyde de fer (Fe₂O₃) permettent leur utilisation dans le domaine de l'imagerie médicale. Les particules de dioxyde de titane (TiO₂) et d'oxyde de zinc (ZnO) trouvent quant à elles une application dans la fabrication d'écrans solaires, du fait notamment de leurs propriétés d'absorption des rayons UV.

Cependant, l'utilisation croissante de ce type de matériaux soulève aujourd'hui des questions de santé publique car les interactions des Nps avec les systèmes biologiques, et leur toxicité potentielle, sont à l'heure actuelle mal connues, le risque sanitaire associé reste de ce fait difficile à évaluer, et aussi l'utilisation industrielle des Nps entraîne également la production de déchets dont la libération dans l'environnement pourrait s'avérer difficile à contrôler, et dont les conséquences sont pour l'instant mal connues. (Triboulet, 2006)

2. Définition

Les nanoparticules sont des objets relativement fréquents. Il existe en effet différentes sources de production des nanoparticules : les sources naturelles (incendies, éruptions volcaniques ...), les sources accidentelles (feux de bois, gaz d'échappement de véhicule,

freinage,...) et les sources industrielles (nanoparticules manufacturées intentionnellement par l'homme).

Selon l'échelle le terme de nanoparticule est défini comme une particule a au moins une des 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 Nps les plus célèbres sont les fullerènes, Ils sont constitués seulement de 60 ou 70 atomes de carbone (Figure 8). Leur très petite taille donne aux nanoparticules des surfaces spécifiques très importantes.

Cette définition par échelle ne suffit pas à décrire tous les aspects des nanoparticules. En effet, leur réactivité est également fortement liée à leur composition qui peut être très variée. On distingue par exemple les nanoparticules organiques (constituées majoritairement de polymères), des métalliques (ex : nanoparticules d'or ou d'argent), d'oxydes métalliques (ex : Fe₂O₃, TiO₂) ou encore des composites (ex : quantum dots CdSe- ZnS). (**Ophélie Z. ,2008**).



Figure 8 : la structure d'un fullerène nC60. (Crédit : Chris Ewels)

3. Effet de taille

La principale caractéristique des nano objets est que leurs propriétés physiques dépend de leur taille. Cette dépendance en taille des nano objets fait leur intérêt, et elle est mise à profit dans les applications. La taille étant un paramètre que l'on peut contrôler en faisant varier les paramètres de synthèse. Cela permet de balayer une propriété physique dans une certaine gamme et l'adopter aux besoins. La figure (9) montre les niveaux occupés d'une série de molécules de polyacènes On remarque que lorsque le nombre d'unité augmente le gap diminue et la densité d'état augmente. Les effets quantiques dus à la taille dérive du

changement de l'interaction électron-électron proportionnelle à la délocalisation des fonctions d'ondes des orbitales moléculaires (G. Scholes and G. Rumbels, 2006).

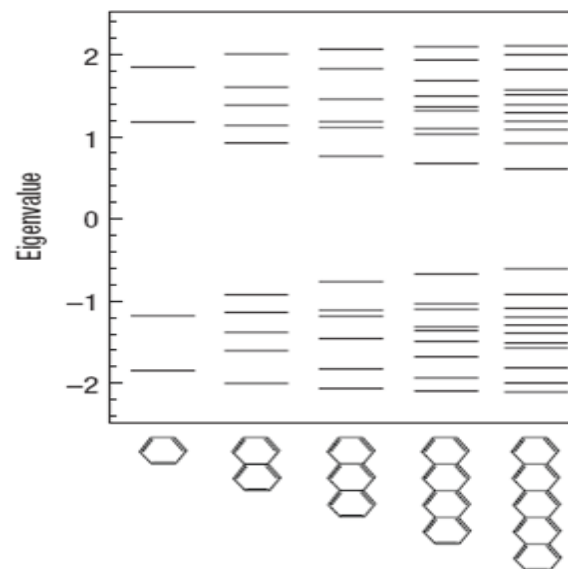


Figure 9 : Effet de taille dans des cristaux formes de polyacènes.

4. L'oxyde de Zinc

4.1 Généralités de l'oxyde de Zinc

L'oxyde de Zinc est un composé chimique de formule ZnO réalisé à partir de 80.36% de zinc et 9.66% d'oxygène. Il a une masse molaire de 81.38g/mol et une température de fusion 1975°C, sa masse volumique 5.6g/cm³.

L'oxyde de zinc est un matériau qui existe sous forme naturelle sous le nom de "Zincite", mais il peut aussi être synthétisé artificiellement sous forme massive (figure 10).

L'oxyde de zinc, se présente à l'état solide sous l'aspect d'une poudre inodore de couleur blanc cassé à jaune pâle. En tant que oxyde, il présente certains avantages comme le fait d'être ni combustible ni explosif en cas d'incendie, ou bien d'être relativement inerte vis-à-vis de l'organisme humain

L'oxyde de zinc (ZnO) est un semi-conducteur à large bande interdite directe. Il est transparent dans le visible et dans le proche infrarouge avec une énergie de liaison d'exciton de 60meV. C'est un matériau qui attire l'attention des chercheurs en raison de ses d'excellentes propriétés. Son efficacité dans divers domaines d'applications tel que les capteurs de gaz, les cellules solaires à hétérojonction, les systèmes utilisant le processus

photocatalytique, les diodes électroluminescentes (LED), les systèmes à laser, les électrodes transparentes. Il présente l'avantage de pouvoir être élaboré par diverses techniques sous forme de films minces ou sous forme de nanocristaux de poudres soit par pulvérisation magnétron RF, évaporation par faisceau d'électrons, évaporation réactive, dépôt par laser pulsé (PLD), sol-gel, le dépôt chimique en phase vapeur (CVD), la pyrolyse par pulvérisation et la méthode hydrothermale (Ghomri R. , 2017)

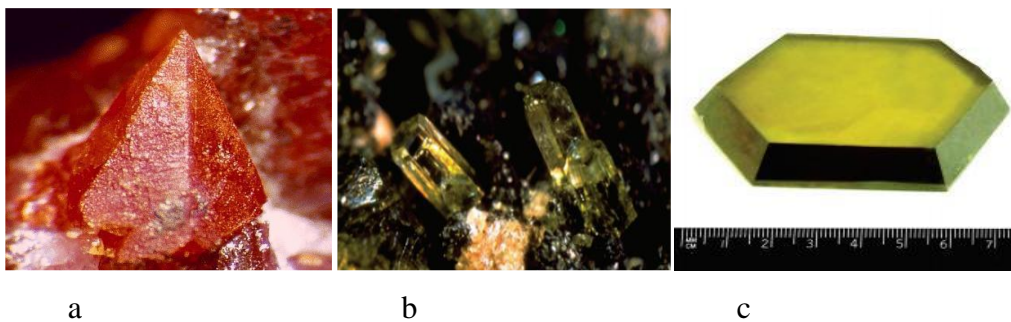


Figure 10 : Oxyde de Zinc (ZnO) massif sous forme naturelle (a, b) et provenant de la synthèse hydrothermal (c).

4.2 Les nanoparticules de ZnO

4.2.1 Propriétés structurales

Lorsque la taille d'un matériau atteint les dimensions nanométriques, les propriétés physiques changent considérablement sous l'effet du confinement quantique induit par la diminution de taille.

Le ZnO constitue probablement la famille des nanostructures la plus riche de tous les matériaux.

Outre les couches minces 2D, les nano piliers 1D et autres nanoparticules 0D, il existe un grand nombre de nanostructures de ZnO exotiques comme les nano rubans ,les nano tétrapodes, les nano roses des sables, nano hélices, etc... Ces structures peuvent être obtenues par voie physique grâce à différentes méthodes de synthèse telles la MOCVD, la MBE, la CVD etc..., Quelques exemples de nanostructures de ZnO sont présentés sur la figure (1.9) il

est intéressant de constater que la plupart de ces nanostructures sont fortement anisotropes. Cette anisotropie est due à la présence de plan de charge selon les direction (0001) et $(001\bar{1})$, respectivement chargés négativement et positivement. L'existence des tels plans est déstabilisante pour l'édifice considéré à cause du fort moment dipolaire qu'ils induisent.

Afin de minimiser leur énergie les nanostructures vont chercher à ne pas présenter de tels plans, ce qui a pour effet une croissance anisotrope selon l'axe c pouvant mener à des structures en hélices ou en piliers Ce type de mécanisme est le même que celui mis en jeu lors de la croissance de nano cristaux de NaCl qui ne présentent que des plans libres (100) neutres. Ces plans de charges peuvent se stabiliser selon divers mécanismes impliquant une reconstruction de surface ou l'adsorption d'une molécule telle CO ou H. (Wang N, 2008).

4.2.2 Propriétés optiques

Les propriétés d'émission des Nps de ZnO dépendent fortement de la méthode de synthèse employée. Car, ces propriétés sont associées à des défauts de surface. Récemment, on a mis au point une nouvelle méthode de synthèse par voie organométallique pour la préparation à température ambiante des nanoparticules de ZnO cristallines de taille et de forme contrôlées lorsque la taille des particules de ZnO diminue fortement un décalage aussi bien de l'absorption que de l'émission vers la haute énergie est observé. C'est ce qui peut expliquer l'observation d'une émission soit jaune, soit bleu ou encore blanche, correspondant à la superposition des deux premières.

Les propriétés optiques peuvent être largement modifiées par la nano structuration. Cependant compte tenu de la faible extension spatiale de l'exciton (2,3 nm), les modifications dues aux effets quantiques des tailles ne sont accessibles qu'à des tailles inférieures à 10 nm. Les propriétés de luminescence liées aux défauts vont elles aussi être influencées indirectement par la nano structuration.

En effet, certains défauts cristallins, et particulièrement ceux dont l'extension spatiale est de l'ordre de plusieurs nanomètres, comme les dislocations ou les défauts d'empilements, seront logiquement influencés par la nano structuration. à l'inverse, la part importante de surface disponible sur les échantillons nanostructures constitue un réservoir des défauts dont le nombre et le type dépendent de la qualité de la surface considérée. L'influence de la nano structuration sur les défauts constitue donc un subtil équilibre entre la création de défauts en

surface et la passivation des défauts étendus en volume dont le résultat n'est pas connu à l'avance. (Tolbert S, 1994)

Pour ces Propriétés les Nps de ZnO sont notamment utilisées dans les produits cosmétiques (crèmes solaires) car ils représentent une bonne protection contre les UV tout en ayant l'avantage d'être transparents (car les nanoparticules ont des dimensions inférieures aux longueurs d'onde de la lumière visible 400-700 nm). L'exposition aux nanoparticules est donc déjà bien réelle. (Ophélie ,2008).

4.2.3 Propriétés électriques et électroniques:

L'Oxyde de Zinc (ZnO) est un semi-conducteur à large bande interdite directe ($E_g = 3,37\text{eV}$ à température ambiante), ce qui correspond à une transition dans le proche UV. Comme la plupart des autres filières de semi-conducteurs à large bande interdite, ZnO a d'abord été étudié dans les années 70 avant d'être délaissé en microélectronique. L'étude et la croissance de ce matériau reviennent en force depuis 2-3 ans en raison de ses propriétés fondamentales attractives, des progrès techniques réalisés en matière de synthèse et des premiers résultats indiquant la possibilité de convertir la conductivité de ce semiconducteur du type n vers le type p (Z. Fan et al., 2004, Y. Zhang et al., 2005) (Le ZnO présente une conductivité électrique naturelle de type n qui est due à la présence des atomes de zinc interstitiels . (Tayeb Brouri. 2011)) . Les domaines d'intérêt pour les alliages à base de ZnO et les hétérostructures associées sont l'optoélectronique, l'électronique de spin et la microélectronique appliquée à la détection de gaz (M.H. Huang et al., 2001). Les propriétés électroniques de ces Nps sont profondément modifiées et dépendent de la taille, de la forme et de l'état de surface des nanocristaux. L'intérêt est, bien sûr, de contrôler ces paramètres pour ajuster à volonté ces propriétés.

Le dopage ou les défauts intrinsèques jouent un rôle très important dans les caractéristiques du semi-conducteurs. Ils peuvent modifier considérablement leurs propriétés pour obtenir des matériaux à paramètres ajustés pour les applications particulières en modifiant simplement les caractéristiques du dopant (type, nature, température, concentration, technique de dopage, etc.). (Mouhli and K . Taraft . 2010).

4.2.4 Quelques applications de ZnO

Tableau 1: Les applications des nanoparticules de ZnO et du ZnO massif.

Les nanoparticules de ZnO	Les applications de ZnO massif
<ul style="list-style-type: none">➤ La protection de dispositifs électroniques.➤ Additif des produits alimentaires .➤ Additif lors du Fabrication du béton.➤ Céramique.➤ Protection contre les rayons ultraviolets.➤ Couches sensibles de capteurs de gaz à base de.➤ Réacteurs photo catalytiques.➤ La protection de dispositifs électroniques.➤ Crèmes solaires.➤ Caoutchouc et des cigarettes.	<ul style="list-style-type: none">➤ Diodes électroluminescentes (LED).➤ Des traceurs biologiques.➤ Sondes de gaz.➤ Capteurs à gaz conducteurs.➤ Diodes lasers UV.➤ Des piles solaires.➤ Cellules photovoltaïques.➤ Des traceurs biologiques.➤ L'alimentation du bétail.➤ Peintures.➤ L'industrie pharmaceutique.➤ Cellules photovoltaïques.➤ Dispositifs à onde acoustique de surface.

5. L'oxyde de Magnésium

5.1 Généralités de l'oxyde de Magnésium

L'oxyde de Magnésium (MgO) est un oxyde polyvalent selon ses larges applications, telles que : lacatalyse, 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^{40, 41}; 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 possédant des structures uniformes. Le MgO nanostructuré est également d'un grand intérêt en raison de ses diverses propriétés, qui proviennent de sa structure spécifique. (Allal, 2010).

5.2 Caractéristiques du MgO

Les caractéristiques de matériau MgO comprennent:

- Haute température capacité.
- Bas conductivité électrique.
- conductivité thermique élevée.
- Bonne résistance à la corrosion.
- infrarouge transparent.

MgO est considéré comme un forte, léger oxyde réfractaire, légèrement de base dans les propriétés chimiques. À propos de 84% de celui-ci trouve une utilisation dans thermique et électriques insulating matériaux, y compris les briques réfractaires, tandis que l'autre 16% est utilisé comme un agent neutralisant dans le produit chimique et l'industrie pharmaceutique. Il conclut également une petite utilisation en tant que le liant en ciment et comme un adsorbant pour le traitement des eaux. (Attaf, 2017)

5.3 Propriétés structurales

L'oxyde de Magnésium MgO se cristallise dans les conditions ambiantes (pression et température) dans la structure cubique à face centrée (cfc)

Les propriétés structurales de l'oxyde de Magnésium ont été étudiées dans les trois structures ou phases sous les quelles il peut exister, la structure Rock-Salt, la structure CsCl et la structure Zinc-Blind. La variation de l'énergie totale par rapport au volume concernant les trois structures Rock-Salt, CsCl et Zinc-Blind de l'oxyde de Magnésium (MgO) pour chaque méthode (FP-LAPW et Pseudo-Potentiel) avec les deux approches (LDA et GGA) . (**Allal, 2010**)

Lors de DRX de Nps MgO calciné à 400°C. la présence des pics de diffraction plus étroits à cette température plus élevée qu'il confirme la formation de MgO nanopoudres.

5.4 Les propriétés optiques

Les Nps MgO ont été enregistrée par spectre d'absorption dans l'UVvisible dans la longueur d'onde gamme de 200- 500nm et sont présentés dans la Figure (11). Il présente absorption à 212nm. Cette absorption est considérablement plus élevé que celui de l'essentiel MgO en raison de vrac excitonique transitions pour les monocristaux de MgO(163nm). L'absorption à 212nm accrédités auprès de coordination de surface d'oxyde d'ions, la grande longueur d'onde de la surface exciton associé à indiquant une faible coordination. En effet potentiel électrostatique d'un O²⁻ ion en MgO progressivement diminué en tant que la coordination diminution, et sur tout le processus besoins moins d'énergie. Le groupe écart de Nps MgO est calculée sur la base de l'équation $\alpha=A (hv$ par exemple). L'évalué bande optique écart de l'énergie de MgO nanoparticule est de 5. 25eV.

Les Nps MgO est un large et directe écart semi- conducteur. Cette observé bande écart de valeur est rouge déplacé à partir de la valeur standard de vrac par exemple (7. 65eV). Le décalage vers le rouge de la bande lacunes exposer l'effet de la morphologie de cristaux ayant différents actif principal facettes et d'intervention divers énergie d'excitation et ainsi avoir différentes directe bande lacunes, et peut être en raison de quantique effet de taille.(**Bindhu et al, 2015**)

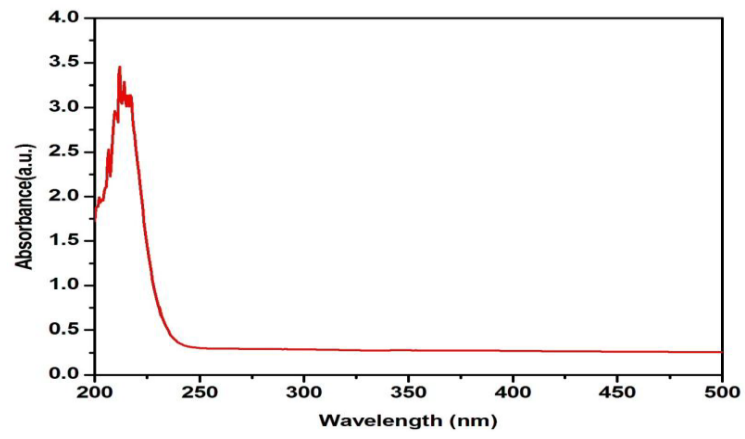


Figure 11 : Spectre d'absorption optique du Nps MgO.

II. Matériels et méthodes

Ce travail a été réalisé au niveau du Laboratoire n° 14 de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, département de Microbiologie, Université des Frères Mentouri Constantine 1.

1. Matériels

1.1. Milieu de culture

Nous avons utilisé le milieu LB solide (annexe 1), c'est un milieu riche, sa composition permet de favoriser la croissance des espèces bactériennes en culture.

1.2. Souches bactériennes

Nous avons testé des souches bactériennes pathogènes et responsables des infections nosocomiales, décrites pour avoir acquis des résistances à certaines familles d'antibiotiques largement utilisées. Ces souches ont été fournies par le service de bactériologie du CHU Constantine. Toutes les souches ont été cultivées sur milieu LB, liquide pour les enrichissements et solide pour les différents tests ainsi que pour la conservation. La conservation à court terme a été faite à 4°C.

Les souches en l'occurrence appartiennent aux espèces :

- *Staphylococcus aureus*.
- *Bacillus subtilis*.
- *Escherichia coli*.
- *Pseudomonas aeruginosa*.
- *Klebsiella pneumoniae*.

1.3 Les nanoparticules (Nps)

Dans ce travail, on a préparé les nanoparticules d'oxyde de Zinc pur (ZnO), d'oxyde de Magnésium pur (MgO) ainsi que leurs mélanges binaires avec différentes concentrations atomiques de Zn et Mg.

- Le ZnO : pure et dopé par le MgO (5%, 10%, 50%).
- Le MgO : pure et dopé par le ZnO (5%, 10%, 50%).

Il existe plusieurs méthodes de synthèse physiques et chimiques, cependant, la voie chimique est plus utilisée du fait qu'elle permet un meilleur contrôle de la forme et la taille à l'échelle nanométrique. Parmi ces méthodes chimiques ; la co-précipitation dans un bain chimique a été adoptée dans ce travail.

1.4 Les antibiotiques

Nous avons testé l'effet antibactérien de quatre antibiotiques appartenant aux familles:

- Céphalosporines (Annexe 2).
- B- lactamines (Annexe 3).
- Macrolides (Annexe 4).
- Aminosides (Annexe 5).

1.5 Appareils

La réalisation de ce travail a nécessité l'utilisation de l'appareillage suivant :

- Autoclave.
- Vortex.
- Un four électrique, une centrifugeuse pour la préparation des poudres de NPs.
- Balance.
- Étuve à 30°C.
- Bain marie.

1.6 Solutions

Nous avons utilisé :

- Eau distillée pour la préparation du milieu de culture.
- Eau distillée stérile pour la préparation des dilutions des Nps et d'antibiotiques.

1.7 Solvants

- Le chlorure de zinc ($ZnCl_2$), le sulfate de magnésium ($MgSO_4$), l'acide acétique ($C_2H_4O_2$) et une base ($NaOH$) ont été utilisés pour la précipitation des poudres de ZnO et MgO.

2. Méthodologie

2.1 Procédé de préparation des nanoparticules d'oxydes :

Il s'agit de choisir les sources chimiques adéquates (chlorure, acétate ou sulfate) pour la synthèse, le solvant et les conditions opératoires telles que la température, le pH et la molarité de chacune des sources à co-précipiter. Dans le cas de la première série ZnO-MgO. La source de zinc est l'acétate hydraté ($\text{ZnCH}_3\text{COOH}, 2\text{H}_2\text{O}$) tandis que la source de Magnésium est le sulfate (MgSO_4). Le bain chimique est composé d'eau ultra pure comme solvant dans lequel on rajoute un mélange $[\text{xZnO} + (1-\text{x})\text{MgO}]$ avec x variant entre 0 et 1. La préparation est réalisée dans un bain porté à température de 50°C qui est agité magnétiquement. Le pH nécessaire à la précipitation est ajusté à l'aide de NaOH. Une fois la co-précipitation du composé d'oxydes est obtenue, elle est séparée par filtrage ou par centrifugation. Le gel récolté est ensuite chauffé puis traité thermiquement à différentes températures de recuit qui dépendent du mélange de chaque composé car leurs énergies de formations sont différentes.

2.2 Repiquage des souches

Dans des conditions stériles :

- Prélever une colonie isolée et représentative de la souche souhaitée à l'aide d'un cure-dent stérile ou d'une anse de platine.
- Etaler en stries sur une nouvelle boîte de milieu de culture contenant du LB-Agar.
- Incuber à 37°C pendant 24 H.
- Conserver les boîtes de pétriensemencées à 4°C.

2.3 La technique des tests antibactériens

2.3.1 Le repiquage des souches à testées

- Dans une boîte de Pétri qui contient le milieu LB-Agar, prendre la colonie à tester à l'aide d'un cure-dent stérile (figure 12).



Figure 12 : le prélèvement des colonies à partir d'une culture bactérienne conservé.

- Ensemencer en forme de petits patches les cinq souches sur la même boîte de Pétri (figure 13).



Figure 13 : l'ensemencement de cinq souches en forme de petits patches.

- Incubation dans l'étuve à 37°C pendant 24 H. dans la figure(14) résultats d'incubation.
- Un témoin négatif (boîte de LB-Agar vierge) et un témoin positif (Une souche du laboratoire) ont été réalisés.

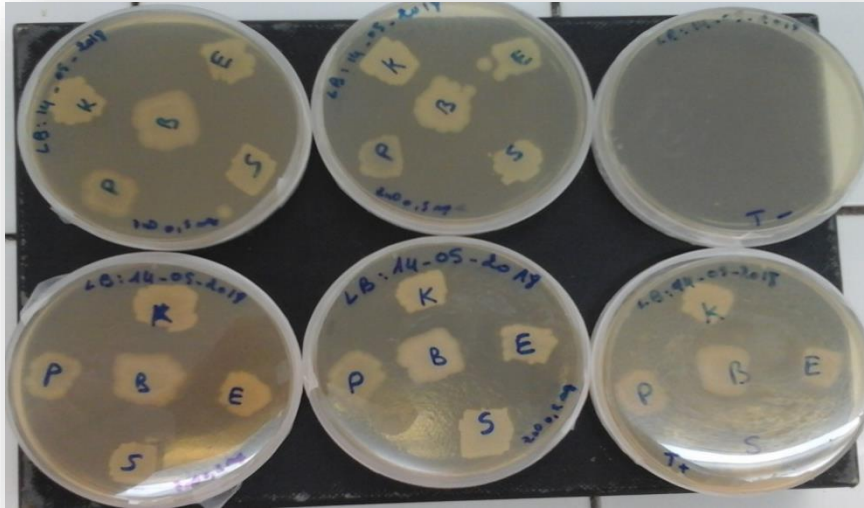


Figure 14 : Résultats de repiquages des souches.

2.3.2 Application des NPs et des antibiotiques sur les colonies des souches testées

- Prendre à l'aide d'une micropipette 20 μ I des NPs (ou d'antibiotiques) et déposer verticalement sur chaque patch de la bactérie à tester (figure 15).



Figure 15 : L'application des nanoparticules (ou antibiotiques) sur les colonies bactériennes.

- Incubation des boîtes préparées 24H à 37°C.

2.4 Identification des Nps préparées

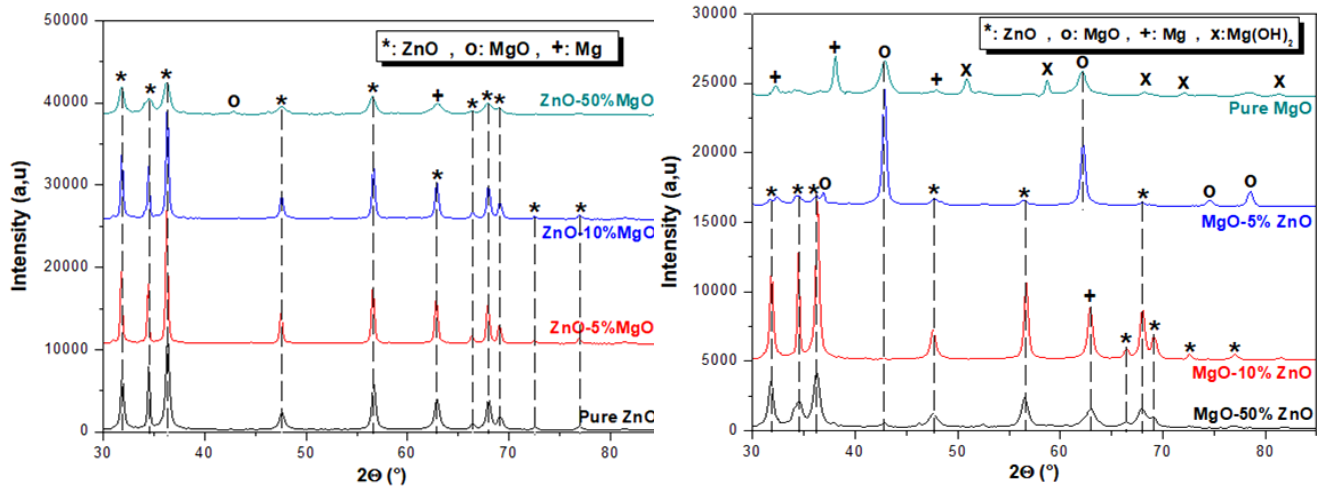


Figure 16 : Les diagrammes de diffraction (diffractogrammes) des Nps préparées

Les diffractogrammes obtenus (Courbes $I=f(2\theta)$) par analyse de la diffraction du rayonnement X (DRX) sur les diverses poudres d'oxydes préparées montrent clairement que les matériaux préparés sont cristallins. Ces graphes sont alors traités par association avec une base de données de référence grâce à un logiciel. Afin d'identifier ces matériaux, il suffit de trouver des superpositions entre les pics des diffractogrammes pour chaque échantillon et ceux enregistrés dans la base de données (figure 16).

L'analyse des graphes obtenus nous a permis d'indexer tous les matériaux préparés lors de ce travail. Pour les échantillons « ZnO pur » et « ZnO dopé MgO », on voit nettement qu'il s'agit uniquement de la phase '**ZnO**' (**Oxyde de Zinc**), par contre, en augmentant la concentration de MgO dans les échantillons, on distingue la co-présence de trois nouvelles phases à base de Mg comme la phase '**Mg**' (**Magnesium**) atomique, '**Mg(OH)₂**' (**Hydroxide de Magnesium**) et notamment la phase '**MgO**' (**Oxyde de Magnesium**).

III. Résultats et discussion

Aussi révolutionnaire que l'était la découverte des antibiotiques dans les années 50, aussi catastrophique est l'état actuel des résistances bactériennes vis-à-vis de ces molécules divines. En 2008, l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) a fait de la résistance bactérienne aux antibiotiques, le sujet de sa journée internationale. Cette journée avait comme slogan : « Retour à l'ère avant les antibiotiques ». Depuis, les efforts des chercheurs partout dans le monde se sont consolidés. Non seulement dans l'espoir de découvrir de nouvelles molécules antibiotiques mais surtout pour en développer de nouvelles alternatives.

L'une des pistes qui est jusqu'à présent pas très exploitée est celle des « Nanoparticules d'oxyde de métaux ». En effet, les métaux sont utilisés pour leur effet antibactérien depuis l'antiquité (les exemples du cuivre et de l'argent sont les plus cités). La présence de l'oxygène en compagnie de ces métaux favorise souvent leur effet.

Dans cette optique, l'objectif de notre travail était alors de tester l'effet antibactérien de certains oxydes de métaux : le ZnO et le MgO ainsi que leurs mélanges. Ce choix n'était pas aléatoire, ces deux éléments sont les principaux cofacteurs enzymatiques indispensables à la quasi-totalité des réactions biochimiques. Leur présence alors ne représente aucun danger pour l'être humain dans d'éventuelles utilisations clinique et surtout, ils sont reconnus par la cellule bactérienne ce qui diminue considérablement le risque d'être rejeté par la cellule via la sélectivité de sa membrane cytoplasmique.

Pour aborder notre sujet, nous avons commencé par choisir 5 souches bactériennes connues pour leur résistance aux familles d'antibiotiques les plus utilisées (antibiotiques à large spectre d'action). Il s'agit là de : *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* et *K. pneumoniae*. Pour tester l'effet antibactérien des deux oxydes de métaux : ZnO et MgO ainsi que leurs mélanges respectifs, des concentrations de 2, 1, 0.5 et 0.2 mg/ml ont été réalisées pour chaque solution et déposés sur les colonies des souches de test.

Une comparaison a été par la suite établie avec l'effet de 4 antibiotiques appartenant à la famille des B- lactamines, des céphalosporines, des aminosides et des macrolides en utilisant les mêmes concentrations pour chacun des antibiotiques. Cette comparaison nous permet de voir si l'on acquit un meilleur effet antibactérien en utilisant les oxydes des métaux par rapport à ce que les antibiotiques donnent comme résultat.

1. Effet des antibiotiques sur les différentes souches bactériennes

Résultats et discussion

Dans nos tests réalisés sur la souche d'*E. coli*, cette dernière a présenté une véritable résistance à l'encontre de tous les antibiotiques testés. Le seul effet remarqué était celui obtenu avec les céphalosporines à une dose de 0.2 mg/ml. Ce résultat a été bien attendu notamment avec les B-lactamines pour lesquelles, *E. coli* est naturellement résistante (**Bonnet, 2006**).

Un autre effet mais cette fois-ci très considérable, a été observé chez la souche de *P. aeruginosa* et ce avec les aminosides à une dose de 0.5 mg/ml. Ce qui confirme ce qui a déjà été cité dans la partie bibliographique concernant la résistance de cette espèce bactérienne aux B-lactamines et aux céphalosporines (**Pool, 2004**).

Pour le reste des souches testées, aucun effet n'a été remarqué. Les espèces appartenant aux genres *Bacillus*, *Klebsiella* et *Staphylococcus* sont connues pour leur très grande résistance. Les tableaux et les figures suivantes récapitulent les résultats obtenus de ce premier test.

Tableau 2 : effet antibactérien des céphalosporines, B- lactamine, macrolides, aminoside avec les concentrations 1 mg/ml ,2 mg/ml ,3 mg/ml, 4 mg/ml sur *E. coli*

Antibiotiques Concentration	céphalosporine	B- lactamine	macrolide	aminoside
2mg/ml	Pas d'effet	Pas d'effet	Effet faible	Pas d'effet
1mg/ml	Pas d'effet	Pas d'effet	Pas d'effet	Pas d'effet
0,5mg/ml	Effet moyen	Effet moyen	Effet moyen	Effet moyen
0,2mg/ml	Effet fort	Effet moyen	Effet moyen	Effet moyen

Tableau 3 : effet antibactérien des céphalosporine, *B-* lactamine, macrolides, aminoside avec les concentrations 1 mg/ml ,2 mg/ml ,3 mg/ml, 4 mg/ml sur *S. aureus*.

Antibiotiques Concentration	céphalosporine	<i>B-</i> lactamine	macrolide	aminoside
2mg/ml	Pas d'effet	Pas d'effet	Pas d'effet	Effet moyen
1mg/ml	Pas d'effet	Effet faible	Effet faible	Effet faible
0,5mg/ml	Effet faible	Effet faible	Pas d'effet	Effet faible
0,2mg/ml	Effet faible	Effet faible	Effet faible	Effet faible

Tableau 4 : effet antibactérien des céphalosporine, *B-* lactamine, macrolides, aminoside avec les concentrations 1 mg/ml ,2 mg/ml, 0,5 mg/ml, 0,2 mg/ml sur *P. aeruginosa*

Antibiotiques Concentration	céphalosporine	<i>B-</i> lactamine	macrolide	aminoside
2mg/ml	Effet faible	Effet faible	Effet faible	Effet moyen
1mg/ml	Effet faible	Effet faible	Effet faible	Effet faible
0,5mg/ml	Effet fort	Effet moyen	Effet faible	Effet fort
0,2mg/ml	Effet faible	Effet faible	Effet moyen	Effet moyen

Tableau 5 : effet antibactérien des céphalosporine, *B-* lactamine, macrolides, aminoside avec les concentrations 1 mg/ml ,2 mg/ml ,3 mg/ml, 4 mg/ml sur *Bacillus*

Antibiotiques Concentration	céphalosporine	<i>B-</i> lactamine	macrolides	aminoside
2mg/ml	Pas d'effet	Pas d'effet	Effet faible	Pas d'effet
1mg/ml	Pas d'effet	Pas d'effet	Pas d'effet	Pas d'effet
0,5mg/ml	Pas d'effet	Pas d'effet	Pas d'effet	Pas d'effet
0,2mg/ml	Pas d'effet	Pas d'effet	Pas d'effet	Pas d'effet

Tableau 6 : effet antibactérien des céphalosporines, *B-* lactamine, macrolides, aminoside avec les concentrations 1 mg/ml ,2 mg/ml ,3 mg/ml, 4 mg/ml sur *Klebsiella*

Antibiotiques Concentration	céphalosporine	<i>B-</i> lactamine	macrolides	aminoside
2mg/ml	Pas d'effet	Pas d'effet	Pas d'effet	Effet moyen
1mg/ml	Pas d'effet	Pas d'effet	Pas d'effet	Pas d'effet
0,5mg/ml	Effet moyen	Pas d'effet	Effet faible	Pas d'effet
0,2mg/ml	Effet faible	Effet moyen	Pas d'effet	Effet faible



Figure 17 : Effet observé chez *P. aeruginosa* sous aminosides à une concentration de 0.5 mg/ml

2. Effet des NPs sur les différentes souches bactériennes

Dans une deuxième expérience, les oxydes de métaux ZnO et MgO ainsi que leur mélange (50/50%) ont été appliqué sur les souches de test afin d'observer leur effet antibactérien. Pour ce, les mêmes concentrations déjà utilisées avec les antibiotiques ont été adoptées.

Il a été observé que les oxydes de métaux purs sont beaucoup plus efficace que le mélange et ce sur toutes les souches testées. D'autre part, les souches de *P. aeruginosa* et de *S. aureus* ont été sensible aussi bien au ZnO qu'au MgO purs alors que la souche d'*E. coli* n'a montré de sensibilité que vis-à-vis du MgO. L'effet obtenu sur *S. aureus* est d'une importance majeure. En effet, cette bactérie s'est montrée résistante vis-à-vis des antibiotiques testés. En plus, l'effet antibactérien des ZnO et MgO est observé à très faible dose : 0.2 mg/ml (**Figure 18**).

Comme pour les antibiotiques, les souches des genres *Bacillus* et *Klebsiella* se sont encore une fois montrées résistantes.



Figure 18 : Effet antibactérien du ZnO pure sur la souche de *S. aureus* à la concentration de 0.2 mg/ml

3. Effet antibactérien des oxydes de métaux dopés

Dans une troisième expérience, nous avons joué sur la concentration de présence de l'un des oxydes de métaux avec l'autre pour voir si ça améliore, ça diminue voire ça annule l'effet déjà observé. Nous avons appelé cette expérience : expérience de « Dopage ». Ainsi, les mélanges suivant ont été constitués : ZnO-5% MgO/ ZnO-10% MgO/ MgO-5% ZnO et MgO-10% ZnO. Les résultats obtenus sont récapitulés dans les figures suivantes :

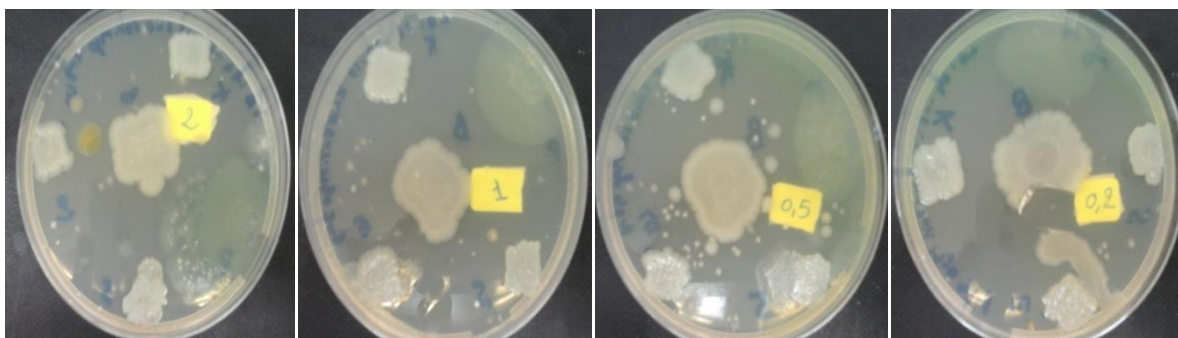


Figure 19: l'effet antibactérien du ZnO 5% MgO sur les cinq souches testées

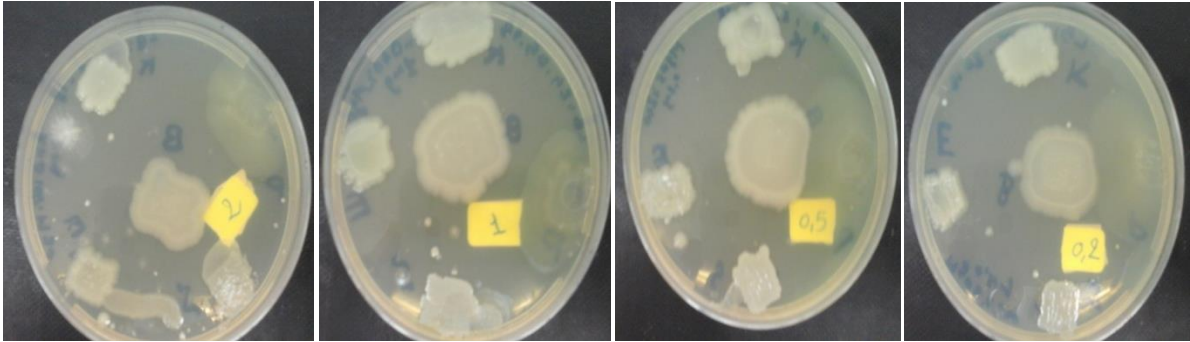


Figure 20: l'effet antibactérien du ZnO 10 % MgO sur les cinq souches testées.

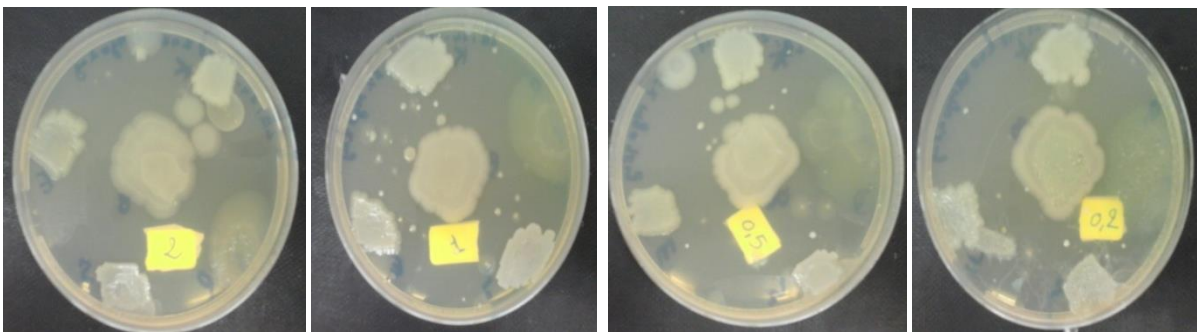


Figure 21: l'effet antibactérien du MgO 5% ZnO sur les cinq souches testées.

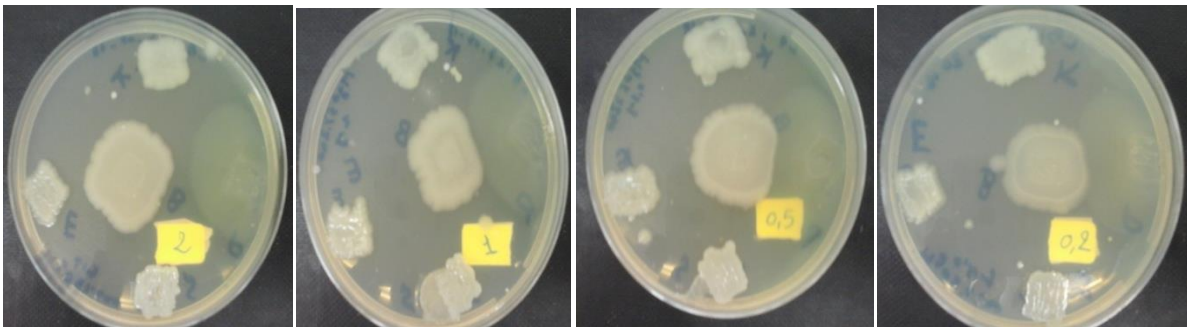


Figure 22: l'effet antibactérien du MgO 10% ZnO sur les cinq souches testées.

Comme le montre les images, les deux souches des espèces *B. subtilis* et *K. pneumoniae* se comportent toujours de la même manière quelque soit la concentration des solutions métalliques.

Chez *E. coli*, un nouvel effet antibactérien apparaît avec le MgO-5% ZnO à une concentration de 2 mg/ml alors qu'à cette concentration aucun effet n'a été observé avec le MgO pure. Il se pourrait qu'à faible concentration le ZnO pourrait booster l'effet du MgO.

D'une manière surprenante, l'effet observé chez *S. aureus* en présence du ZnO et du MgO pure a été annulé aussi bien avec le dopage 5% que 10% et dans les deux sens et dans toutes les concentrations. Cette observation est très importante car elle nous révèle un effet antagoniste des deux molécules métalliques lorsqu'elles sont associées et spécifiquement sur cette espèce bactérienne, chose qui n'a pas été observée avec les autres bactéries testées. Il est donc recommander de ne pas associer les deux molécules d'oxydes de métaux dans la lutte contre le Staphylocoque.

La souche *P. aeruginosa* s'est montrée très sensible vis-à-vis des deux types de dopage et à toutes les concentrations.

D'une manière globale, ces résultats sont très encourageants et très prometteurs. Les souches de *Staphylococcus* et de *Pseudomonas* qui se montraient résistantes avec pratiquement tous les antibiotiques testés, deviennent sensible et de manière considérable vis-à-vis des MgO et des ZnO purs et dopés et ce à très faible concentrations (même à 0.2 mg/ml). Ceci semble être une piste très importantes à tester sur d'autres souches des mêmes espèces qui pourraient être plus résistantes. D'autres oxydes de métaux (CaO à titre d'exemple) pourraient être appliqués sur les souches hyper-résistantes de *Bacillus* et de *Klebsiella* dans l'espoir d'en trouver un effet antibactérien.

Les mécanismes d'action de ces oxydes de métaux sur les bactéries en générale ne sont pas encore élucidés. Il serait très intéressant de pouvoir les étudier pour mieux améliorer leurs effets.

Enfin, d'autres tests sur de nouvelles espèces et avec de nouvelles concentrations seraient d'un grand apport scientifique pour ce domaine important de la recherche et de la vie humaine.

Conclusion

Conclusion

L'activité antibactérienne des NPs (ZnO et MgO) sous leurs formes pure et dopé (en solution) a été comparée à celle de quatre antibiotiques appartenant aux familles : céphalosporine, B- lactamine, macrolides et aminoside. Les NPs ZnO et MgO purs et dopés ainsi que les antibiotiques ont été utilisés à différentes concentrations (2 mg/ml, 1 mg/ml , 0,5 mg/ml et 0,2 mg/ml). Les NPs ont été préparés par la technique de précipitation et leurs produits ont été investis par la technique de DRX .

L'activité antibactérienne à été testée sur cinq souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylocoques aureus*), par l'application directe des NPS ZnO et MgO purs et dopés ou des antibiotiques sur les colonies de ces souches. Cette méthode nous a permis d'observer l'effet de chacune des molécules testées. Les NPs se sont avérés très efficaces sur certaines souches bactériennes et à très faible concentration (0,2 mg/ml). Contrairement à ce qui était attendu, les antibiotiques se sont montrés moins efficaces sur les mêmes concentrations. Ce résultat est d'une importance majeure. En effet, il ouvre une nouvelle brèche dans la possibilité d'utiliser ces NPs pour remplacer certains antibiotiques surtout que leur efficacité à faible dose diminue leur éventuel effet toxique à long terme dans le cas d'une administration humaine.

Ce travail pourrait alors être un nouveau pas dans la découverte de nouvelles alternatives dans la lutte contre la résistance bactérienne et contribuer ainsi à résoudre cette véritable menace universelle.

Références bibliographiques

A

AVRIL JL, DABERNAT H DENIS F , MONTEIL H. (1987). La bactériologie clinique 2ème édition section IV.

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

B

Baerwolf S, Geffers C, Behnke M. 2002. Correlation between transmissions and the nosocomial infection rate in five different intensive care units in a German university hospital. SHEA 216.

Boulahbal, F (1986). Microbiologie clinique. Alger : Office des publications universitaires . 170p .

Bonnet, R. (2006) B-lactamines et entérobactéries. In: Courvalin, P., Leclercq, R., Bingen, E. AntibioGramme. Paris. ESKA : 2ème édition 15: 141-62.

Bindhu ,M . (2015). Structural morphological and optical properties of MgO nanoparticles for antibacterial applications . <http://de.doi.org/10.1076/j.maleta.2015.12.020>.

C

Cottinet, D.(2013). Diversité phénotypique et adaptation chez *Escherichia coli* étudiées en microfluidique digitale. Paris: l'université pierre et Marie curie , 164 p.

Courvalin, P., R. Leclercq, and E. Bingen. 2006. AntibioGramme. 2: 142-162, 227-246, 263-277.

Centre National de Référence des légionnelles. Glossaire des souches endémiques [en ligne]. Disponible sur http://nte-serveur.univ-lyon1.fr/hc12004/CNR_legionelles/ [consulté le 30 Août 2013].

Cavallo Jean-Didier. Lecture interprétative de l'antibiogramme [En ligne]. Disponible sur <http://www.infectiologie.com/site/medias/enseignement/du-lyon/2014-DUCIV-Lyon-Cavallo-02.pdf> (Consulté le 13/05/2018).

D

Davies Julian, Davies Dorothy. (Sept. 2010). Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. *Microbiology and Molecular Review*. 74(3). 417-433.

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

E

Emmanuel, E. (2003). Evaluation des risques sanitaires et ecotoxicologiques liés aux effluents hospitaliers. L'institut national des sciences appliquées de LYON pour l'obtenir de grade de docteur. Formation doctorale: science et technique du déchet école doctoral de chimie de Lyon.pp. 59-60.

Errington, J. (2003). "Regulation of endospore formation in *Bacillus subtilis*." *Nature Reviews Microbiology* 1(2): 117-26.

F

Flandrois,J.C., Courco, L., Lemeland, J.F., Ramuc, M., Sirot, J. et Souny, C.J., (1997). *Bactériologie médicale*. Pesses Universitaire de Lyon. ISBN : 2729705678.

Freney J, R. F., Hansen W, and Bollet TC. 2000. *Précis de bactériologie clinique*.

G

Gerard, I et al. (2003). *Introduction à la microbiologie*, pp.608-612.

Gueye O.2007. Utilisation des méthodes biométrique dans l'identification de quelques bacilles à Gram négatif .P 22,24-28.

H

Hermann, T. (2005). Drugs targeting the ribosome. *Corrent opinion in microbiologie*. 15, 335-366.

J

Jahir A. K., Ruchika P. (2011).A study on partial purification and characterization of extracellular amylases from *Bacillus subtilis*.*Pelagia Research Library*. 2 (3):509-519.

M

Meyer, A., Deïania, J., Bernard, A., (2004). Résistance aux agents antimicrobiens. In Cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés. 2ème ed. Doin. Biosciences et techniques collection dirigée par Fagarella J et Calos A .

N

Nilius, A.M., et Ma, Z., (2002). Ketolides: the future of microlides? Current Opinion in pharmacology. 2 : 1-8.

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 thermocatenuatus*, *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.

Ô

Ogston A. Report upon Micro-Organisms in Surgical Diseases. Br Med J 1881;1:369.b2–375.

Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Premier rapport de l'OMS sur la résistance aux antibiotiques: une menace grave d'ampleur mondiale 2014. Disponible sur : (<http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2014/amr-report/fr/>).

P

Paul, S. (2005). Bactériologie. 6ed. Dunod. Paris. 515 p.

Pina, P et al. (2000). Sensibilité des Entérobactéries aux antibiotiques en Unités de soins intensifs. J Path Biol. 48: 485-489.

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

R

Ros, A. (1999). La résistance bactérienne ou le naufrage des antibiotiques. VIIIème assemblée annuelle des CLIN du sud-est. Lyon. 28 octobre.

S

Singleton, P. (2004). Bactériologie. Paris : Dunod . 542p .

Saga Tomoo, Yamaguchi Keizo. (Avril 2009). History Of Antimicrobial Agents and Resistant Bacteria. Japon Medical Association Journal. 52(2).103-108.

Scholes, G, Rumbels. *Nature Materials* **5**, 683 (2006).

T

Tolbert , S. H. et A livisatos , A . P, Size dependence of a first order Solid-Solid phase transition ,The wurtzite to rock salt transformation in CdSe nano crystals , Science, 265(5170), pp. 373–376, 1994.

W

Wertheim HFL, Melles DC, Vos MC, van Leeuwen W, van Belkum A, Verbrugh HA, et al. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect Dis.* 2005;5(12):751–62.

Wolfgang, M. C., B. R. Kulasekara, et al. (2003). "Conservation of genome content and virulence determinants among clinical and environmental isolates of *Pseudomonas aeruginosa*." *Proc Natl Acad Sci U S A* 100(14): 8484-8489.

Wang , N , Cai , Y , et Zhang , R , Growth of nanowires , *Materials Science and Engineering : R : Reports* ,60(1-6), pp. 1–51, 2008.

Z

Zeyons , O . (2008).Étude des interactions physicochimiques et biologiques entre des nanoparticules manufacturées des bactéries de l'environnement. Thèse de doctorat.

Annexes

Listes des annexes

Annexe 1 : le milieu LB

Le milieu de culture **LB** (Pour *lysogeny broth* ou incorrectement milieu Luria-Bertani) est un milieu de culture nutritif, servant initialement à la culture bactérienne. Il a été d'abord développé par Bertani, qui le nomma *lysogeny broth* (bouillon lysogène) dans sa première publication².

pour la préparation de 1 litre de LB :

- 10 g de peptone
- 5 g d'extrait de levures
- 10 g de NaCl

Annexe 2 : Céphalosporines

Les céphalosporines inhibent l'élaboration de la paroi bactérienne, en interférant avec la synthèse du peptidoglycane ou muréine, par un mécanisme d'inhibition compétitif des transpeptidases extra-cytoplasmiques

Annexe 3 : B-lactamines

L'action antibactérienne des pénicillines provient de leur liaison aux Protéines de Liaison aux Pénicillines (PLP) et surtout, de l'inhibition des activités de transpeptidases impliquées dans la synthèse de la paroi bactérienne.

Annexe 4 : Macrolides

Les macrolides (des bactériostatiques) à chaîne 14 ou 16 carbones altèrent la synthèse des protéines bactériennes en se fixant sur les ribosomes (sous-unité 50S) et en bloquant ainsi cette synthèse par encombrement stérique.

Annexe 5 : Aminosides

Les aminosides se lient à la sous-unité 30S des ribosomes des bactéries et interfèrent avec la traduction des ARN messagers en protéines. Plus précisément, la plupart des aminoglycosides se fixent à l'ARN ribosomique 16S, au niveau du site de décodage (site A). Cette fixation ne bloque pas la traduction, mais induit des erreurs dans le décodage des codons effectués par le ribosome.

Résumé

Le travail présenté a eu pour objectif d'étudier l'activité antibactérienne de deux nanoparticules d'oxydes métalliques qui sont ZnO et MgO et leurs dopages.

Pour ce faire, l'activité a été évaluée pour les NPs en suspension dans de l'eau distillée stérile. La formation des deux oxydes est confirmée par diffraction DRX.

Les tests de l'activité antibactérienne ont été réalisés sur cinq souches qui sont : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aerogenosa*, *Bacillus subtilis* et *Klebsiella pneumoniae*. Les résultats de l'activité antibactérienne ont été évalués par référence à quatre familles d'antibiotiques : céphalosporines, B-lactamine, macrolide, aminoside.

Cette évaluation de l'activité a été effectuée par l'observation de la zone d'inhibition sur les colonies bactérienne. Les résultats ont montré de très bonnes activités antibactériennes des NPs : ZnO et MgO et leurs dopages, particulièrement pour MgO 10%, ZnO et MgO 5%, ZnO qui se sont montrés plus efficaces que tous les antibiotiques et ont donné un halot d'inhibition considérable et ce à très faible dose (0,2 mg/ml).

A l'issue de ce travail il ressort que l'activité antibactériennes est meilleure pour MgO dopé ZnO : MgO 10% ZnO et MgO 5% ZnO.

Mots clé : Les nanoparticules d'oxydes métalliques, activités antibactérienne, ZnO MgO, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aerogenosa*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*.

Abstract

Work show goal was to the study of activity antibacteriennes two of the nanoparticles metal oxides that zinc oxide MgO and on the doping, and that are used in a comment that have been applied directly

To boost to this, activity assessment for NPs suspended in distilled sterile water. Training of two of the oxides confirmation by diffraction R- X.

Tests activity antibacteriennes has been made on the five strains that are: Escherichia coli, Staphylococcus aureus, pseudo- aerogenosa, Bacillus thin, Klebsiella pneumoniae. the results of activity antibacteriennes has been evaluated by reference to four families of antibiotics: cephalosporins, B- lactam, macrolide, aminoglycoside.

This assessment of activity carried out by the control inhibition of area on the spots. The results showed very good activities antibacteriennes of NPs: zinc oxide and MgO and on the doping, but on all on the MgO 10% zinc oxide and MgO 5% zinc oxide, which gave the activity upper area decomposition of well Note.

At the end of this work seems that activity antibacteriennes of the best MgO doped zinc oxide: MgO 10% zinc oxide and MgO 5% zinc oxide.

Keywords: nanoparticles oxides metal, activities antibacteriens, zinc oxide MgO, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, pseudo- aerogenosa, Bacillus thin, Klebsiella pneumoniae.

ملخص

ملخص

إن هدف من هذا العمل هو دراسة النشاط الضد بكتيري لمركبين معدنيين مؤكسدين MgO و ZnO ومزيجهما حيث استخدمت في شكل محاليل وتطبيقها مباشرة على البكتيريا.

لهذا فإن تقدير النشاط البكتيري الجزيئات النانومترية بشكل محاليل في الماء المقطر المعقم ، حيث تم تكوين المركبين المؤكسدين عن طريق التجزئة ب R-X.

حيث تم اختبار النشاط الضد البكتيري على خمس عزلات بكتيرية مختلفة (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *pseudomonas aerogenosa*, *Bacillus subtilis*, *klebsiella pneumoniae*.)

نتائج هذا النشاط الضد البكتيري تم مقارنتها مع أربعة عائلات من مضادات حيوية (B- Céphalosporines, lactamine, macrolide, aminoglycoside)

هذا التقييم للنشاط الضد البكتيري تم بمراقبة تثبيط منطقة على بقع .

أظهرت نتائج النشاط الضد البكتيري جيد للجزيئات النانومترية MgO و ZnO ومزيجهما خاصة MgO 10% ZnO و MgO 5 % ZnO وكذلك MgO 10% ZnO و MgO 5% ZnO حيث النشاط الضد البكتيري عالي و منطقة تثبيط على البقع واضحة.

في نهاية هذا البحث نستخلص أن النشاط الضد البكتيري كان جيدا بنسبة ل ZnO و MgO وخاصة مزيجهما MgO 10 % ZnO. و MgO 5 % ZnO.

الكلمات المفتاحية : الجزيئات النانومترية , المعدنية المؤكسدة , النشاط البكتيري , ZnO, MgO

Staphylococcus aureus. *Bacillus sp*. *Escherichia coli*. *Pseudomonas aerugenosa*.
klebsiella pneumoniae.

ETUDE DE L'EFFET ANTIBACTÉRIEN DE CERTAINS OXYDES DE MÉTAUX (ZnO , MgO)

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en **Biologie moléculaire des microorganismes.**

Résumé

Le travail présenté a eu pour objectif d'étudier l'activité antibactérienne de deux nanoparticules d'oxydes métalliques qui sont ZnO et MgO et leurs dopages.

Pour ce faire, l'activité a été évaluée pour les NPs en suspension dans de l'eau distillée stérile. La formation des deux oxydes est confirmée par diffraction DRX.

Les tests de l'activité antibactérienne ont été réalisés sur cinq souches qui sont : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* et *Klebsiella pneumoniae*. Les résultats de l'activité antibactérienne ont été évalués par référence à quatre familles d'antibiotiques : céphalosporines, B-lactamine, macrolide, aminoside. Cette évaluation de l'activité a été effectuée par l'observation de la zone d'inhibition sur les colonies bactérienne. Les résultats ont montré de très bonnes activités antibactériennes des NPs : ZnO et MgO et leurs dopages, particulièrement pour MgO 10%, ZnO et MgO 5%, ZnO qui se sont montrés plus efficaces que tous les antibiotiques et ont donné un halot d'inhibition considérable et ce à très faible dose (0,2 mg/ml).

A l'issue de ce travail il ressort que l'activité antibactériennes est meilleure pour MgO dopé ZnO : MgO 10% ZnO et MgO 5% ZnO.

Mots clés : nanoparticules d'oxydes métalliques, Activité antibactérienne, ZnO, MgO , *E.*

coli, *Bacillus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonie*, *Staphylococcus aureus*.

Laboratoire de recherche : Laboratoire de Microbiologie N° 14.

Jury d'évaluation :

Encadreur : DEHIMAT Laid (Pr - UFM Constantine)

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

Président du jury : ARABET Dallel (MCB - UFM Constantine)

Examinatrice : BOUCHLOUKH Warda (MAA - UFM Constantine)

Date de soutenance : 24/06/2018