

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

RÉPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ 08 MAI 1945 GUELMA

FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE, SCIENCES DE LA TERRE ET
DE L'UNIVERS

DÉPARTEMENT DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Spécialité : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Option: Biologie Moléculaire des Procaryotes

Thème

Activité antibactérienne des nanoparticules métalliques (Ag_2O , ZnO-Al , TiO_2) vis-à-vis de quelque bactérie pathogène

Présenté par : BOUMAAZA Sara

GUEBAI Dorra

ZEGHDOUDI Amira

Devant le jury composé de :

Présidente : Mr. MOUKHTARIA (MAA)

Examineur: M^{eme}. BEN HALIMA.L (MAA)

Encadreur : M^{elle}. GRAR Nedjeud (MCA)

JUIN 2013



Merci Dieu

En préambule à ce mémoire, on souhaitait adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire, ainsi qu'à la réussite de cette formidable année universitaire.

On tient à remercier sincèrement Dr. Grara Nedjeud, qui en tant qu'encadreur de ce mémoire ; s'est toujours montré à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de ce mémoire, ainsi pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'elle a bien voulu nous consacrer.

On exprime également notre gratitude envers Monsieur Mokhtari A de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire et Meme Ben halima. L de siéger au jury comme examinatrice.

Nous remerciment s'adressent également a Mr Kébieche, chef de laboratoire de la direction de la santé de la Wilaya de Guelma ; ainsi que l'ensemble de l'équipe de la DDS, pour leur accueil bienveillant et leurs conseils avisés, et cela malgré leur emploi du temps chargé





On exprime notre gratitude le médecin chef de laboratoire de bactériologie Dr Ben torki. A qui nous aidés lors des recherche effectuée avec son expérience la plus vaste.

Merci a tous les consultants et internautes rencontrés lors des recherches effectuées et qui on accepté de répondre à nos questions avec gentillesse.

On n'oublie pas nos parents pour leur soutien et leur patience.

Nous saurions adressons nos plus sincères remerciements à tous nos proches et amies, qui nous ont toujours soutenue et encouragée au cours de la réalisation de ce mémoire.

A la fin une pensée particulière est adressée à l'ensemble des enseignants du département de Biologie, qui nous ont procuré une formation honorable.

Merci à tous et à tout



Dédicaces

Nous Dédions ce modeste travail à :

Nos chers parents, pour leur endurance et leurs sacrifices sans limites

Nos frères et sœurs, en reconnaissance de leur affection toujours constante

Tous nos proches

Nos amis

Nos camarades de promotion

Tous Nos enseignants

Tous ceux qui nous ont aidés dans la réalisation de ce mémoire

Amira, Dorra et Sarra



Dédicace

*Je dédie mon travail- le fruit de parcours de cinquants –avant
tout aux personnes qui m’entouraient durant cette periode aux
uns qui me donnent l’aide psychique en commençant par
mon meilleure souvenir de ma vie mon chère papa que dieu
le bénéfice et le mettre dans ses vastes paradis et
ma chère mam que dieu la protège mon phare de mon parcours
et aussi mes frères hamza et bachir que dieu le garde
mon fiancé nadjib et toute la famille bouhamed
mes belles soeurs nawel et manel
et ma petite fleur dadou et sans oublier mes amis mes
camarades et mes proches*

dorra

Sommaire

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction générale 1

Chapitre I : Etat l'art

I-Généralités sur les nanoparticules 3

1. Définition des nanoparticules : 3

2. Les sources de nanoparticules : 3

3. Les domaines d'applications des nanoparticules: 4

II-Les infections bactériennes..... 5

1. Les infections nosocomiales..... 5

2. Facteurs favorisant l'émergence des infections
nosocomiales..... 6

3. Les bactéries pathogènes 7

3.1-*Escherichia col*..... 7

3.2-*Staphylococcus aureus* 8

3.3-*Pseudomonas aeruginosa* 9

**III-Mécanisme d'action et activité antibactérienne des
nanoparticules** : 10

1. Effet des nanoparticules sur les procaryote..... 10

2. Mécanisme de pénétration des nanoparticule. 10

3. Les nanoparticules métalliques : 11

3.1- Mécanisme d'action de Zno-Al:.....	12
3.2 - Dioxyde de titane:	12
3.2.1-Mécanismes d'action de TiO ₂	12
3.2.2-L'activité antibactérienne du Tio ₂ ..	12
3.3-Nanoparticule d'argent	12
3.3.1-Mécanismes d'action d'Ag ₂ O :.....	13
3.3.2-Résistance des microorganismes aux ions Ag ⁺ :	14
IV-La toxicité des nanoparticules :	14
1- Effets néfastes de l'argent sur l'Homme :.....	14
2-Conséquences de la dissémination de l'argent dans l'environnement :	15
<i>Chapitre II : Matériel et méthode.</i>	<i>16</i>
1-Matériel biologique :	16
2-Matériel chimique :	17
3- Méthodes :	17
3-1 Evaluation de l'activité antibactérienne des nanoparticules:	17
3.1.1-Diffusion en milieu gélosé :.....	18
3.1.1.1 : Détermination des zones d'inhibition (antibiogramme) :.....	18
3.1.2- Méthode de papier buvard :	20
3.1.3 -Méthode de diffusion en puits :	21
3.1.4 -Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).	21
3.1.5- Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)....	23

<i>Chapitre III : Résultats et discussions</i>	24
1. Résultats :	24
2. Discussion:	57
<i>Conclusions et perspectives</i> :	61

Referances bibliographique

Annexes.

Résumé :

Dans cette études nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'activité antibactérienne des molécules nanométriques (Ag_2O , ZnO-Al et TiO_2) seul et en combinaison avec les antibiotiques sur bactéries à Gram différents, respectivement le *E.coli*, *P. aeruginosa* (Gram négatif) et *S.aureus* (Gram positif), en raison de leur très large implication dans les phénomènes de contamination et d'infection rencontrés dans le domaine médicale par la méthode de diffusion sur gélose, la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB).

L'activité antibactérienne de certains antibiotiques testés sur les souches *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* est augmentée avec un minimum de (1mm) et un maximum de (34mm) avec l' Ag_2O , une augmentation de (1mm et de 2 mm) est observée avec le ZnO-Al sur la souche de *S.aureus*. La méthode de diffusion en puits et par papier buvard révèle que l'activité est dose dépendants pour les souches testées avec Ag_2O .

La concentration minimale inhibitrice a été déterminée en utilisant sept concentrations des nanoparticules (Ag_2O , ZnO-Al et TiO_2) : 512, 128, 64, 32, 16, 8,0 $\mu\text{g/ml}$.

Les valeurs de CMI d' Ag_2O vis-à-vis *E.coli*, *S.aureus* et *P. aeruginosa* sont respectivement 32 $\mu\text{g/ml}$, 16 $\mu\text{g/ml}$ et 32 $\mu\text{g/ml}$, la CMI de ZnO-Al vis-à-vis *S.aureus* est de 32 $\mu\text{g/ml}$.

Les valeurs de CMB d' Ag_2O vis-à-vis *E.coli*, *S.aureus* et *P. aeruginosa* sont respectivement 512 $\mu\text{g/ml}$, 128 $\mu\text{g/ml}$ et 256 $\mu\text{g/ml}$, la CMB de ZnO-Al vis-à-vis *S.aureus* est de 32 $\mu\text{g/ml}$. Les résultats montre que l' Ag_2O exerce un effet bactéricide et effet bactériostatique sur les souches testées.

Le nombre des (UFC) de *S.aureus*, *P. aeruginos* et *E.coli* tend à diminuer d'une manière dose -dépendante en présence de différentes concentration de Ag_2O et de ZnO-Al . Aucun effet sur la viabilité cellulaire n'est observé en présence de TiO_2 .

Mots clés : Ag_2O , ZnO-Al , TiO_2 , *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, activité antibactérienne.

Abstract:

In this study we are interested to evaluate the antibacterial activity of nanometric molecules (Ag_2O , ZnO-Al and TiO_2) alone and combined with antibiotics against bacterium of different Gram, respectively; *E. coli*, *P. aeruginosa* (negatif Gram) and *S. aureus* (positif Gram), in reason of their wide implication in the contaminations phenomenon and infections meets in a medical domain by the agar method diffusion, the determination of the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC).

The antibacterial activity of certain antibiotics tested against *E. coli*, *P. aeruginosa* and *S. aureus* is increased with a minimum of (1mm) and a maximum of (34mm) with Ag_2O , an increasing of (1mm et de 2 mm) is observed with ZnO-Al against *S. aureus*. The methods of disc diffusion, and well diffusion reveal that this activity is dose-dependent for the stump tested with Ag_2O .

The minimum inhibitory concentration is determined by utilization of seven concentrations of nanoparticles (Ag_2O , ZnO-Al et TiO_2): 512, 128, 64, 32, 16, 8, 0 $\mu\text{g/ml}$.

The values of MIC of Ag_2O for *E. coli*, *S. aureus* and *P. aeruginosa* are respectively 32 $\mu\text{g/ml}$, 16 $\mu\text{g/ml}$ and 32 $\mu\text{g/ml}$.

The values of MIC of Ag_2 against *E. coli*, *S. aureus* and *P. aeruginosa* are respectively 32 $\mu\text{g/ml}$, 16 $\mu\text{g/ml}$ and 32 $\mu\text{g/ml}$. The MIC about ZnO-Al is 32 $\mu\text{g/ml}$.

The values of MBC of Ag_2O against *E. coli*, *S. aureus* and *P. aeruginosa* are respectively 512 $\mu\text{g/ml}$, 128 $\mu\text{g/ml}$ and 256 $\mu\text{g/ml}$. The MBC about ZnO-Al is 32 $\mu\text{g/ml}$. The results showed that the Ag_2O exercises a bacteriostatic effects against stump tested.

The UFC number of *S. aureus*, *P. aeruginos* et *E. coli* increase with dose-dependent manner in the présence of different concentration of Ag_2O and ZnO-Al, no effect on cellular development in the présence of TiO_2 .

Key words: Ag_2O , ZnO-Al, TiO_2 , *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, antibacterial activity.

المخلص

تطرقنا في هذه الدراسة إلى دراسة النشاط المضاد للبكتيريا للجسيمات النانوية (Ag_2O , $ZnO-Al$, TiO_2) وحدها

و بتتسيقها مع مجموعة من المضادات الحيوية على مجموعة من البكتيريا مختلفة ال *Gram* على التوالي البكتيريا الزنجارية و البكتيريا القولونية (*Gram -*) والبكتيريا العنقودية الذهبية (*Gram+*) بسبب طوره بظاهرة التلوث والعدوى في المجال الصحي عن طريق ظاهرة الانتشار بالاجار و تحديد الحد الأدنى للتركيز المثبط و تحديد الحد الأدنى من تركيز مبيد البكتيريا .

النشاط المضاد للبكتيريا للمجموعة من المضادات الحيوية المجربة على البكتيريا القولونية والبكتيريا العنقودية الذهبية والبكتيريا الزنجارية ارتفع كأقل حد ب 1مم و كأكبر حد ب 24 مم مع Ag_2O كذلك نلاحظ ارتفاع ب 1مم و 2مم مع $ZnO-Al$ على البكتيريا العنقودية الذهبية . طريقة الانتشار بالقرص و كذلك الانتشار بالآبار كشفت أن هذا النشاط يعتمد على حسب الجرعة من اجل مجموعة البكتيريا المدروسة مع Ag_2O .

الحد الأدنى للتركيز المثبط تم تحديدها باستخدام تسعة تراكيز من الجسيمات النانوية Ag_2O , $ZnO-Al$, TiO_2 0 2 4 8 16 32 64 128 512 ميكروغرام/ مل.

قيم الحد الأدنى للتركيز المثبط وجها لوجه مع البكتيريا القولونية والبكتيريا العنقودية الذهبية والبكتيريا الزنجارية على التوالي 32 ميكروغرام/ مل 16 ميكروغرام/ مل 32 ميكروغرام/ مل الحد الأدنى للتركيز المثبط ل $ZnO-Al$ مع الخلايا العنقودية الذهبية هو 32 ميكروغرام/ مل .

قيم الحد من تركيز مبيد البكتيريا وجها لوجه مع البكتيريا القولونية والبكتيريا العنقودية الذهبية والبكتيريا الزنجارية على التوالي 512 ميكروغرام/ مل 128 ميكروغرام مل 256 ميكروغرام مل الحد الأدنى للتركيز المثبط ل $ZnO-Al$ مع الخلايا العنقودية الذهبية هو 32 ميكروغرام/ مل . هذه النتائج تبين أن Ag_2O يمارس تأثير بكتيري على سلالات الاختبار .

عدد مستعمرات تشكيل وحدة ل البكتيريا القولونية والبكتيريا العنقودية الذهبية والبكتيريا الزنجارية يميل إلى الانخفاض بطريقة تعتمد على الجرعة في وجود تراكيز مختلفة ل Ag_2O و $ZnO-Al$ لم نلاحظ أي تأثير على بقاء الخلية في وجود TiO_2 .

كلمات البحث ; البكتيريا القولونية -البكتيريا العنقودية الذهبية -البكتيريا الزنجارية- نشاط مضاد البكتيريا- Ag_2O - $ZnO-Al$.

TiO_2

Liste des abréviations :

ADN : Acides désoxyribonucléiques

AgO₂ : Oxyde d'argent.

AN : Acide nalidixique

ARN : Acide ribonucléiques.

ATB : Antibiotique.

C30: Cefotoxine.

CLSI: clinical and Laboratory standards Institute.

CMB : concentration minimale bactéricide.

CMI : concentration minimale inhibitrice.

CTX30 : Céfotaxime.

Cu : Cuivre

L10: Lincomycine.

MH: Muller Hinton.

NA: Amikane.

NCCLS: **National** committee for clinical laboratory standards.

P : Pénicilline.

RA30 : Rifampicine.

SiO₂ : silice.

TE : Tétracycline.

TiO₂ : Dioxyde de titane.

UFC : Unité formant colonies.

UV : Ultraviolet.

ZnO-Al : Oxyde de zinc dopé par l'aluminium.

Liste de tableaux

N°	Tableaux	page
01	Les différents domaines d'application des nanoparticules	4
02	Liste des souches bactériennes utilisées.	18
03	Valeurs critique des diamètres des zones d'inhibitions.	20
04	Diamètres des zones d'inhibition de <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Ag ₂ O,ZnO-Al et TiO ₂)	25
05	Diamètres des zones d'inhibition d'AgO ₂ vis-à-vis <i>Escherichia coli</i> et <i>Escherichia coli</i> (ATCC).	33
06	Diamètres des zones d'inhibition d'AgO ₂ vis-à-vis <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25).	38
07	Diamètres des zones d'inhibition d'AgO ₂ vis-à-vis <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC)	35
08	Diamètres des zones d'inhibition d'Ag ₂ O vis-à-vis <i>Escherichia coli</i> et <i>Escherichia coli</i> (ATCC)	38
09	Diamètres des zones d'inhibition d'Ag ₂ O vis-à-vis <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC).	39
10	Diamètres des zones d'inhibition d'Ag ₂ O vis-à-vis <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC)	40
11	Diamètres des zones d'inhibition de ZnO-Al vis-à-vis <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC).	42
12	Les valeurs de CMI de Ag ₂ O, ZnO-Al, et TiO ₂ . (<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i>)	44
13	Détermination de CMB des nanoparticules (Ag ₂ O,ZnO-Al ,TiO ₂)	46
14	Unité formant colonies (UFC) d' <i>E .coli</i> en présence d'Ag ₂ O et en fonction du temps	48

15	Unité formant colonies (UFC) de <i>S.aureus</i> en présence d'Ag ₂ O et en fonction du temps	49
16	Unité formant colonies (UFC) de <i>P.aeruginosa</i> en présence d'Ag ₂ O et en fonction du temps	50
17	Unité formant colonies (UFC) d' <i>E.coli</i> en présence de ZnO-Al et en fonction du temps	51
18	Unité formant colonies (UFC) de <i>S.aereus</i> en présence de ZnO-Al et en fonction du temps	52
19	Unité formant colonies (UFC) de <i>P.aeruginosa</i> en présence de ZnO-Al et en fonction du temps	53
20	Unité formant colonies (UFC) de <i>E.coli</i> en présence de TiO ₂ et en fonction du temps	54
21	Unité formant colonies (UFC) de <i>S.aereus</i> en présence de TiO ₂ et en fonction du temps	55
22	Unité formant colonies (UFC) de <i>P.aeruginosa</i> en présence de TiO ₂ et en fonction du temps	56

Liste de figures

N°	Titres des Figures	Pages
01	Structure de nanoparticules	3
02	<i>Escherichia coli</i>	7
03	<i>Staphylococcus aureus</i>	8
04	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9
05	Hypothèses concernant la pénétration des nanoparticules dans les bactéries	11
06	Site d'action des ions sur les cellules bactériennes	13
07	les nanoparticules d'Ag ₂ O, TiO ₂ , ZnO-Al	14
08	la méthode de diffusion sur milieu gélose	20
09	La méthode de puits	21
10	Concentration minimale inhibitrice	22
11	Diamètres des zones d'inhibitions d' <i>Escherichia coli</i>	26
12	Antibiogramme d' <i>Escherichia coli</i> et <i>Escherichia coli</i> ATCC	27
13	Diamètres des zones d'inhibitions de <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC)	28
14	Antibiogramme de <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC)	29
15	Diamètres des zones d'inhibitions de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC	30
16	Antibiogramme de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC	31
17	Diamètres de zones d'inhibition de <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i> vis-à-vis Ag ₂ O (diffusion sur disque)	36

18	Diamètres de zones d'inhibition de <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i> vis-à-vis Ag ₂ O (diffusion en puits)	41
19	Determination de CMI d' <i>E.coli</i> vis-à-vis d'Ag ₂ O	43
20	Determination de CMI d' <i>E.coli</i> vis-à-vis d'Ag ₂ O	44
21	Determination de CMI de <i>Staphylococcus aureus</i> vis-à-vis d'Ag ₂ O	45
22	Determination de CMI de <i>P.aeruginosa</i> vis-à-vis d'Ag ₂ O	45
23	Determination de CMI de <i>Staphylococcus aureus</i> vis-à-vis de ZnO-Al	46
24	Unité formant colonies (UFC) d' <i>E .coli</i> en présence d'Ag ₂ O et en fonction du temps	48
25	Unité formant colonies (UFC) de <i>S.aureus</i> en présence d'Ag ₂ O et en fonction du temps	49
26	Unité formant colonies (UFC) de <i>P.aeruginosa</i> en présence d'Ag ₂ O et en fonction du temps	50
27	Unité formant colonies (UFC) d' <i>E.coli</i> en présence de ZnO-Al et en fonction du temps	51
28	Unité formant colonies (UFC) de <i>S.aereus</i> en présence de ZnO-Al et en fonction du temps	52
29	Unité formant colonies (UFC) de <i>P.aeruginosa</i> en présence de ZnO-Al et en fonction du temps	53
30	Unité formant colonies (UFC) de <i>E.coli</i> en présence de TiO ₂ et en fonction du temps	54
31	Unité formant colonies (UFC) de <i>S.aereus</i> en présence de TiO ₂ et en fonction du temps	55
32	Unité formant colonies (UFC) de <i>P.aeruginosa</i> en présence de TiO ₂ et en fonction du temps	56

Activité antibactérienne des nanoparticules métalliques (Ag_2O , ZnO-Al , TiO_2) vis à vis de quelques bactéries pathogènes.

Introduction

Introduction générale

Les nanotechnologies désignent la science qui consiste à concevoir, produire et exploiter des structures et des appareils ayant une ou plusieurs composantes d'environ 100 millièmes de millimètre (100 nanomètres) ou moins. Elles sont également utilisées dans les produits cosmétiques et les crèmes solaires, dans le textile, dans des revêtements, dans certaines technologies alimentaires et énergétiques, ainsi que dans certains produits médicaux et pharmaceutiques (**Angélique, 2008**).

Ces dernières années, une stratégie largement répandue pour prévenir la contamination microbienne a consisté à tuer les microorganismes (espèces pathogènes, flore d'altération) entrant directement en contact avec la surface réceptrice ou s'approchant d'elle. Les bactéries et les champignons sont connus pour être à l'origine de problèmes de santé publique dans divers domaines tels que l'industrie agro-alimentaire ou le domaine biomédical et chirurgical avec des pertes économiques non négligeables et qui ont développé une grande résistance contre les médicaments. La nécessité de lutter contre la colonisation des surfaces dans ces secteurs stratégiques justifie l'intérêt croissant pour le domaine de recherche dédié à l'amélioration de l'hygiène des surfaces (Mtimet,2011 ; Ravishankar,2011).

L'utilisation massive d'agents antibiotiques, s'avèrent souvent inefficaces du fait de la résistance accrue des microorganismes sous forme de biofilms, et même néfastes pour l'environnement et la santé humaine (émergence de souches microbiennes multirésistantes) (Saulou,2009).

Un intérêt croissant pour l'utilisation des inhibiteurs de résistances aux antibiotiques pour la combinaison thérapeutique, De nombreux éléments métalliques présentent une activité antimicrobienne sur les bactéries et sur les levures (Mtimet,2011).

Un grand nombre de nanoparticules a un effet antibactérien sur différentes souches bactériennes. Cet effet est plus ou moins prononcé en fonction de la nature et des caractéristiques des nanoparticules. Ainsi les nanoparticules métalliques d'Ag et de

Cu présentent une forte activité bactéricide dès de faibles concentrations, ces effets antibactériens dépendent non seulement de la nature mais aussi des autres caractéristiques des nanoparticules comme la forme et la taille ou l'état d'agglomération (Angélique, 2008).

L'objectif de ce travail vise à étudiée l'activité antibactérienne des nanoparticules métalliques (ZnO-Al, Ag₂O, TiO₂) sur trois souches bactériennes de Gram différents, *Staphylococcus aureus* (G⁺) , *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* (G⁻) , la raison réside principalement dans le fait que ces bactéries sont les principale responsables des infections enregistrées en milieu hospitalier et sont optées comme indicateur standard, car ce sont les souches les plus agressives et dans certains car elles sont même extrêmement résistantes aux antibiotiques (Thati et al .,2010).

Dans le présent travail, sera tout d'abord présenté un état de l'art donnant une vue générale sur tous qui concernent les nanoparticules et les bactéries les plus couramment étudiées car à l'origine de l'essentiel des infections bactériennes. Après avoir présenté les objectifs et la démarche retenue pour l'étude, matériel et méthodes utilisés seront décrits. Les résultats obtenus seront ensuite détaillés et discutés. Pour finir, une conclusion générale pour l'étude sera présentée.

I. Généralités sur les nanoparticules

1. Définition des nanoparticules

Une nanoparticule est un assemblage d'atome dont au moins une des dimensions est dans le domaine nanométrique ($1 \text{ nm} = 10^9 \text{ m}$). Là encore, la définition n'est pas arrêtée. La plupart des nanoparticules sont des agrégats de petites molécules ou d'atomes. La limite admise est inférieure à 100 nm car c'est en général l'ordre de grandeur des longueurs caractéristiques des processus physico-chimiques. En dessous de ces valeurs, les propriétés changent à cause des effets de confinement ou parce que la surface joue un rôle prépondérant (Djeghboub, 2010).

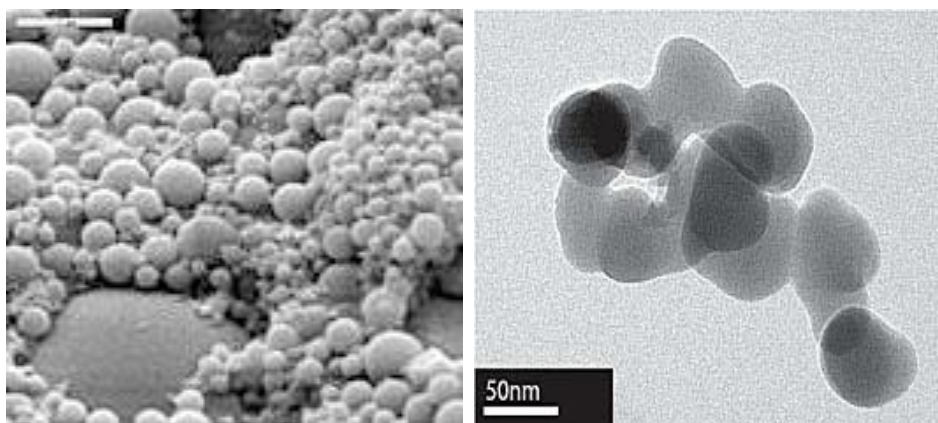


Figure 01: structure de nanoparticules [1]

Dans le mot nano particule le terme **nano** veut dire (1×10^{-9}) mètre, les nano particules sont constituées par pas plus de 10^6 atomes, leurs propriétés sont différentes à celles des mêmes atomes liées entre eux pour former des matériaux massifs (Benariba, 2008).

On distingue les nanopoudres correspondant à des nanoparticules plus ou moins sphériques et les nanotubes qui sont des fibres dont le rapport longueur sur diamètre est supérieur à 3. Du point de vue de la taille, les nanoparticules se situent sur l'échelle du monde vivant entre l'hélice d'ADN (3,4 nm) et un virus (100 nm). Elles peuvent être constituées de métaux ou d'oxydes métalliques (nanoparticules inorganiques comme celles d'argent ou de dioxyde de titane) ou encore de carbone (nanoparticules organiques). Leur forme (tubulaire, sphérique, lamellaire, fibreuse) et leurs propriétés de surface (brute ou modifiée chimiquement)

peuvent fortement varier. En suspension, elles peuvent d'autre part se présenter sous la forme de particules isolées ou d'agrégats, selon les conditions (Angélique, 2008).

2. Les sources de nanoparticules

On distingue trois types de nanoparticules en fonction de leur provenance :

➤ *les nanoparticules d'origine naturelle :*

Résultant essentiellement des phénomènes de nucléation, de condensation des gaz et vapeurs dans l'atmosphère (Angélique, 2008).

➤ *les nanoparticules d'origine anthropogénique non-intentionnelle :*

Issues des procédés chauds tels que le soudage ou encore de la combustion des moteurs (Angélique, 2008).

➤ *les nanoparticules d'origine anthropogénique intentionnelle ou nanoparticules manufacturées :*

Tels que les métaux, semi-conducteurs, oxydes métalliques, carbone (Angélique, 2008).

3. Les domaines des applications des nanoparticules

Tableau .01 : les différents domaines d'application des nanoparticules (Greena et al., 2011).

Domaine	Exemple d'application
Automobile et aéronautique	matériaux plus légers et plus résistants, peintures anti-rayures, anticorrosion.
Chimie et matériaux	pigments, poudres céramiques, inhibiteurs de corrosion, vitres anti-salissures, textiles, revêtements antibactériens,
Pharmacie, biomédical	<ul style="list-style-type: none"> - médicaments et agents actifs - Des pansements dits « argentiques » contiennent des nanoparticules d'argent colloïdales, adsorbées sur leur surface - les crèmes, leurs applications et retraits quotidiens sont moins douloureux pour le patient. - Des cathéters urinaires, vasculaires et péritonéaux été fabriqués à partir de polymères imprégnés d'argent sous forme métallique ou oxydée.....ect

	- Des masques chirurgicaux contenant des nanoparticules d'argent
Cosmétiques	-Crèmes solaires, pâtes dentifrice (abrasif) maquillage (meilleur tenue)
Environnement et énergie	-filtration eau de mer, analyseurs chimiques, pesticides et fertilisants plus efficace - Cellules photovoltaïques, batteries, fenêtres
Défense	détecteurs d'agents chimiques, systèmes de surveillance miniaturisés, système de guidage, textiles auto-réparateurs
agro-alimentaire et le traitement de l'eau	- matériaux de contact ou d'enrobage, additifs, auxiliaires de production ,biodétecteurs - Des équipements en argent sont utilisés pour la manipulation d'huiles essentielles, de sirops et de jus de fruits - Des boites plastiques pour le stockage de denrées alimentaires - des systèmes de filtration de l'air
Autres applications : hygiène et désinfection	- Vêtements et textiles : Fibres et fils, Chaussettes, tenue de sport, baskets, Serviettes de toilette, sac de couchage, matelas - Hygiène des personnes : Produits cosmétiques Spray pour chaussures, Sièges des toilettes publiques - Technologies : Ordinateurs, Combines téléphoniques, calculatrice, clavier d'ordinateurs - Désinfection des Surfaces Peintures murales, revêtements de sol, Revêtement de surfaces d'acier inoxydable pour équipements médicaux.

II. Les infections bactériennes

1. Les infections nosocomiales

Les infections sont des infections contractées dans un établissement de santé. Une infection est considérée nosocomiale si elle était absente au moment de l'admission du patient dans l'établissement de santé. Lorsque l'état infectieux du patient à l'admission est inconnu,

l'infection est généralement considérée comme nosocomiale si elle apparaît après un délai d'au moins 48 h d'hospitalisation ou un délai supérieur à la période d'incubation de l'infection. Améliorer les programmes de contrôle hygiène et infection sont révélés très fructueux pour réduire les taux d'infections nosocomiales (Singh et *al.*, 2012).

Il existe plusieurs types d'infections nosocomiales relevant de modes de transmission différents :

- les infections d'origine "endogène" : le malade s'infecte avec ses propres micro-organismes à la faveur d'un acte invasif et/ou en raison d'une fragilité particulière.
- les infections d'origine "exogène" : les micro-organismes ont pour origine les autres malades (transmissions croisées entre malades ou par les mains ou matériels des personnels), les personnels ou la contamination de l'environnement hospitalier (eau air, équipements, surface, alimentation....) (Moine et *al.*, 2000 ; Singh et *al.*, 2012).

Un large éventail de bactéries, les champignons et les virus pathogènes sont responsables de ces infections. Bon nombre de ces organismes sont également partie de la flore commensale qui coexiste dans un équilibre naturel du corps humain. Une multiplication rapide et incontrôlée de ces microbes pathogènes peut compromettre sérieusement la santé et hygiène de vie. Une méthode possible pour réduire la fréquence et la propagation des infections nosocomiales est l'utilisation des antimicrobiens textiles. En termes de transmission, textiles jouent un rôle crucial dans la chaîne d'infection par des micro-organismes pathogènes. Textiles de toutes les variétés sont considérés comme très compétents à porteurs de bactéries et de servir comme un réservoir pour la transmission de l'infection (Singh et *al.*, 2012).

2. Facteurs favorisant l'émergence des infections nosocomiales

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), plusieurs facteurs participent aujourd'hui à l'augmentation de l'incidence des infections nosocomiales : l'urbanisation croissante, la pollution, les modifications de l'environnement, l'évolution démographique amenant une proportion croissante de personnes âgées qui nécessitent des soins hospitaliers, l'épidémie du SIDA qui a fortement accru la population de sujets immunodéprimés (Rossignol, 2007).

3. Les bactéries pathogènes

3.1. *Escherichia coli*

Escherichia coli est un bacille à Gram négatif. C'est un hôte commun de la microflore commensale intestinale de l'homme et des animaux à sang chaud (mammifères et oiseaux). C'est une de bactérie de « référence » pour la recherche, habituellement peu pathogène et d'une manipulation simple. Elle se reproduit toutes les 20 min *in vitro* et toutes les 3-5 h *in vivo* dans les conditions optimales de croissance. Le ralentissement observé *in vivo* est dû à une phase de latence plus longue liée au milieu nutritif. (Jitti ,2009).

Habitat

Escherichia coli est un commensal du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux. Il représente à lui seul la plus grande partie de la flore bactérienne aérobie de l'intestin (espèce aérobie dominante) à raison de 10⁸ par gramme de fèces (flore totale : 10¹¹ à 10¹² bactéries par gramme) (jitti, 2009).

Morphologie

Ce sont des bacilles à Gram négatif, qui peuvent être mobiles ou immobile, parfois capsulés. Typiquement elle se présente sous la forme de bâtonnets de 2-4 µm de longueur (Jitti ,2009).



Figure 02 : *Escherichia coli* (Manfredini et al.,2003) .

3.2. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus est une cocci à Gram positif. C'est une bactérie pyogène et toxinogène, responsable de nombreuses infections communautaires et nosocomiales qui représente donc un problème de santé publique important. Elle provoque de nombreuses infections suppuratives dues à la multiplication de la bactérie et des infections toxiques liées à la diffusion de toxines spécifiques. Si elle pénètre dans le corps, elle peut causer des infections cutanées légères, telles que des furoncles ou des anthrax, ou des infections plus graves, comme des pneumonies ou des bactériémies (Manfredini et *al.*, 2003).

✚ Habitat

Staphylococcus aureus est un commensal de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux (rhino-pharynx, intestin). On le trouve sur la muqueuse nasale d'un tiers environ des sujets normaux. Éliminé dans le milieu extérieur, cette bactérie peut survivre longtemps dans l'environnement (Manfredini et *al.*, 2003).

✚ Morphologie

Staphylococcus aureus se présente sous l'aspect de cocci Gram positif isolés, en diplocoques ou groupés en amas polyédriques évoquant l'aspect en grappe de raisin (EL Haddad, 2010).



Figure 03 : *Staphylococcus aureus* (Manfredini et *al.*, 2003).

3.3. *Pseudomonas aeruginosa*

Les *Pseudomonas* sont des bactéries aérobies strictes, oxydase positif, mobiles, produisant souvent des pigments diffusibles et naturellement résistants à de très nombreux antibiotiques. Saprophytes, on les trouve essentiellement dans l'eau. Ils peuvent contaminer des solutés pour perfusion, des solutions antiseptiques, des préparations médicamenteuses liquides.

Ces espèces jouent un rôle important dans les infections nosocomiales et sont volontiers multirésistantes aux antibiotiques (résistance naturelle et acquise), ce qui en rend le traitement difficile. *Pseudomonas aeruginosa* exprime son potentiel pathogène lorsqu'il est introduit dans des zones aux défenses immunitaires diminuées (Jitti ,2009).

+ Habitat

Le bacille pyocyanique peut vivre librement dans les milieux humides naturels dans le tube digestif de l'homme et des animaux (Jitti ,2009).

+ Morphologie

Pyocyanique est un bacille Gram négatif, très mobile, monotriche parfois entouré d'une substance muqueuse périllacillaire (Jitti ,2009).

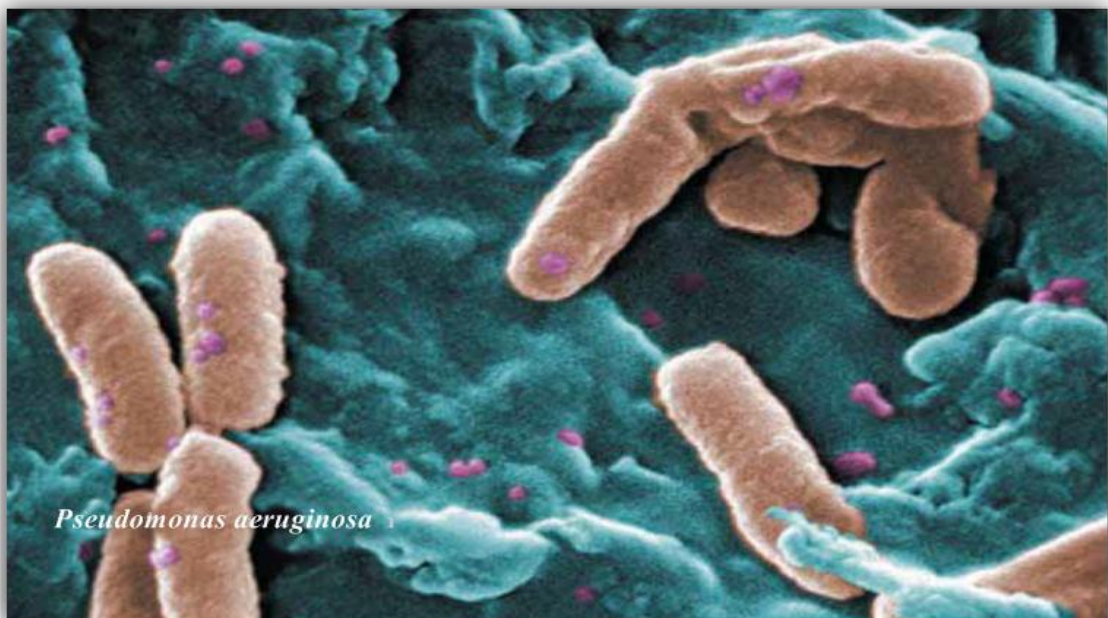


Figure 04 : *Pseudomonas aeruginosa* (Manfredini et al.,2003).

III. Mécanisme d'action et activité antibactérienne des nanoparticules

1. Effet des nanoparticules sur les procaryotes

Un grand nombre de nanoparticules a un effet antibactérien sur différentes souches bactériennes. Cet effet est plus ou moins prononcé en fonction de la nature et des caractéristiques des nanoparticules. Ainsi les nanoparticules métalliques d'Ag et de Cu présentent une forte activité bactéricide dès de faibles concentrations, tandis que dans la plupart des études, les effets apparaissent plus faibles ou à de plus fortes concentrations pour les oxydes métalliques. Par exemple sur les mêmes modèles bactériens, une activité antibactérienne est constatée dès quelques $\mu\text{g/ml}$ pour les nanoparticules d'Ag et de Cu tandis qu'elle n'apparaît qu'à 1 mg/ml pour les nanoparticules de TiO_2 ou SiO_2 . Les effets antibactériens dépendent non seulement de la nature mais aussi des autres caractéristiques des nanoparticules comme la forme et la taille ou l'état d'agglomération (Angélique, 2008).

2. Mécanisme de pénétration des nanoparticules

Le mécanisme de pénétration des nanoparticules reste à élucider. En effet l'interaction de particules physiques avec la paroi bactérienne n'a été que très peu étudiée et donc leur pénétration dans la paroi bactérienne peu observée. De ce fait, aucune étude poussée n'a encore été menée pour essayer de comprendre comment des particules de plusieurs nm voir dizaines de (nm) arrivent à pénétrer une paroi rigide. Plusieurs hypothèses peuvent cependant être formulées :- La première hypothèse: serait un passage par des porines non spécifiques de la paroi, mais les plus grosses porines ayant un diamètre de 2 (nm), cette explication semble peu probable. La deuxième hypothèse que nous proposons imagine que les particules sont capables d'exercer une pression mécanique sur la paroi, en raison d'une différence de concentration en osmolytes de part et d'autre de la membrane, et donc de traverser celle-ci en forçant un passage. Cependant, une mesure de l'osmolalité des suspensions de nanoparticules a été réalisée et montre qu'elle est très faible. Ainsi les nanoparticules n'exercent aucune pression hyperosmotique et ne peuvent donc passer en force la membrane de cette manière. La troisième hypothèse serait qu'une particule en contact avec la membrane pourrait produire des ERO et ainsi provoquer des dommages membranaires. Dans le pire des cas des trous dans la membrane seraient formés et permettraient la pénétration des nanoparticules dans le périplasme ou le cytoplasme (Angélique, 2008).

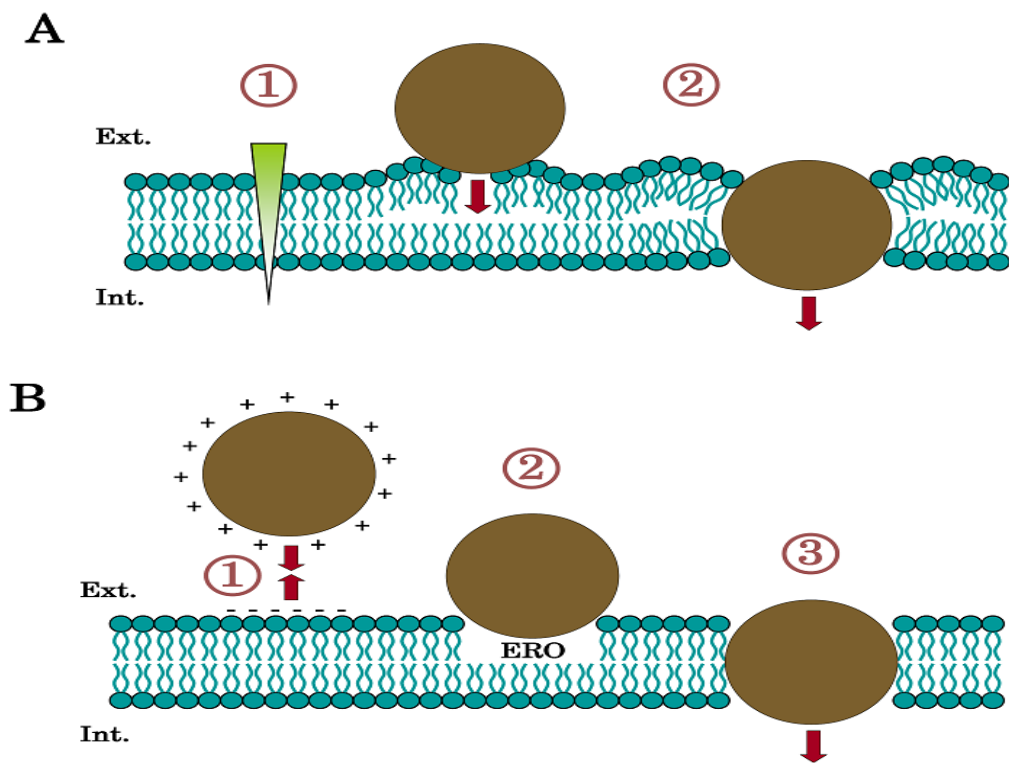


Figure 05 : Hypothèses concernant la pénétration des nanoparticules dans les bactéries (Angélique, 2008).

Hypothèse du passage mécanique (A) : en imaginant une différence de concentration en nanoparticules exerçant une pression (1), les nanoparticules forcent le passage pour aller du compartiment le plus concentré au moins concentré. Hypothèse du passage par détérioration de la membrane externe (B) : une particule chargée positivement peut se coller sur la bactérie chargée négativement (1), en imaginant que ces particules sont capables de produire des ERO (2) l'une des conséquences possibles est une détérioration de la membrane externe et une formation de puits permettant le passage des nanoparticules(3).

3. Les nanoparticules métalliques

Les mécanismes aux quels l'argent, le cuivre et d'autres métaux doivent leurs propriétés germicides ne sont pas tous connus avec une certitude absolue. Un des mécanismes généralement reconnu est l'interaction des métaux avec les parois cellulaires (Coleman et al.,1993).

3.1 Mécanisme d'action de ZnO-Al

Le dioxyde de zinc favorise l'adhésion et l'invasion des bactéries et rétablit un équilibre des cytokines anti-inflammatoires optimal après infection, il réduit aussi la perméabilité paracellulaire et empêche la translocation de bactéries (pathogènes) telles qu'*E. Coli* dans les ganglions lymphatiques mésentériques de l'intestin grêle (Van Ging, 2011).

3.2. Dioxyde de titane

Le dioxyde de titane est un composé métallique très stable et pratiquement insoluble, Il est largement utilisé comme agent antimicrobien. TiO_2 est largement considéré comme un photocatalyseur, car il est très efficace, non toxique, chimiquement et biologiquement inerte, photostable et peu coûteux et a une bonne dureté mécanique (Erich, 2011 ; Tuyet et *al.*, 2011).

3.2.1. Mécanismes d'action de TiO_2

Le TiO_2 endommage l'ADN, désorganise les fonctions cellulaires, interfère avec les activités de défense des cellules immunitaires et, en absorbant des fragments bactériens et en les faisant passer à travers le tractus gastro-intestinal, peut provoquer une inflammation (Pierre, 2010).

3.2.2. L'activité antibactérienne du TiO_2

Les nanoparticules de dioxyde de titane éliminent les composés organiques et fonctionnent comme désinfectants « agent antimicrobien ». Elles sont extrêmement réactives et peuvent réagir avec les composants cellulaires et fonctionnent comme des biocides. Le TiO_2 est efficace uniquement lors de l'irradiation par la lumière UV à des niveaux qui induisent de graves dommages aux cellules humaines, les applications potentielles de TiO_2 pour l'utilisation dans nos milieux de vie sont fortement limitées. Toutefois, leur activité antimicrobienne contre les quelques germes biologiques n'a pas encore été signalé tels que *Bacillus anthracis* (Armand, 2011).

3.3 Nanoparticule d'argent

Les nanoparticules d'argent est l'un des plus puissants agents antibactériens plutôt qu'autre chose car: il n'est pas trop cher; il n'est pas nocif pour l'être humain; il pourrait remplacer les antibiotiques, auxquels les bactéries deviennent résistants. Mais ils seraient

dangereuses à des doses cytotoxiques à cause de leur capacité à induire une expression génique et une toxicité dans les cellules souches (Pal *et al.*, 2007).

3.3.1. Mécanismes d'action d'Ag₂O

L'argent sous forme métallique est inerte. Toutefois, lorsqu'il s'oxyde au contact de l'atmosphère ou d'un environnement humide ($\text{Ag M\acute{e}tal} \rightarrow \text{Ag}_2\text{O}$), la dissolution de l'oxyde d'argent conduit à la libération d'ions Ag⁺. Ces ions présentent un large spectre d'action, aussi bien contre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif, que les levures, les champignons ou les virus. L'action biocide de l'argent dépend de la quantité d'ions Ag⁺ présents dans le milieu et réellement disponibles pour interférer avec les microorganismes. En effet, de part sa forte réactivité, l'argent peut interagir avec les protéines et les sels du milieu suspendant (ex : formation d'AgCl, précipité très peu soluble), ce qui minimise la quantité active vis-à-vis des cellules. La lumière a également une incidence négative sur l'efficacité biocide des ions Ag⁺, car elle provoque la photo-réduction des cations en atomes métalliques (Ag⁰). En raison de leur complexité, les mécanismes d'action des ions Ag⁺ ne sont pas complètement élucidés à l'heure actuelle et dépendent du genre et de l'espèce du microorganisme considéré (figure-06) (Saulou, 2009 ;Mtimet,2012).

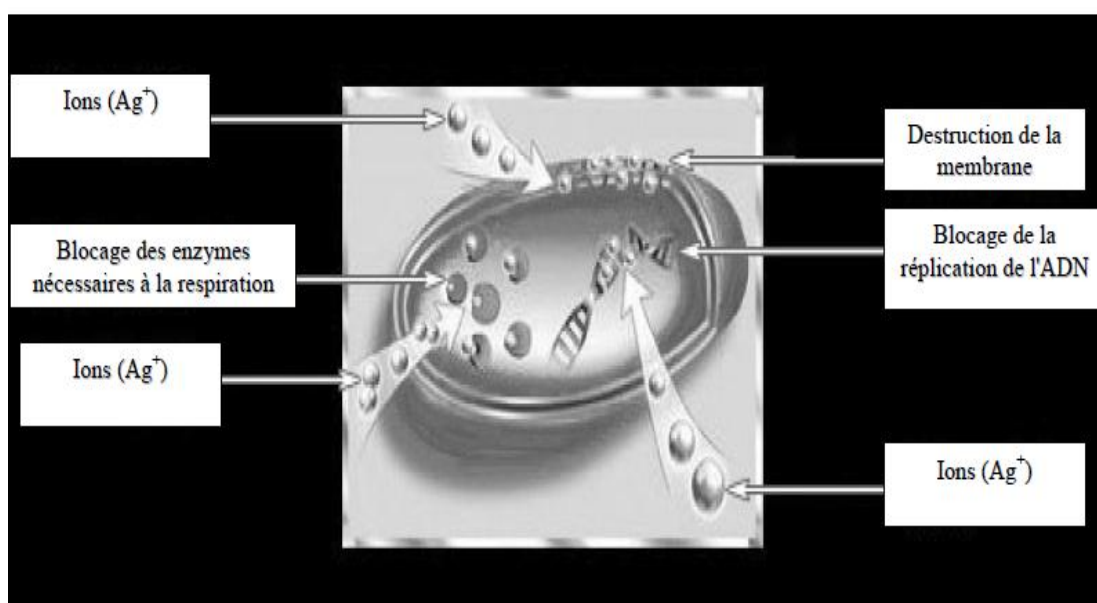


Figure 06: site d'action des ions sur les cellules bactériennes (Mtimet, 2012).

L'activité antiseptique des dérivés de l'oxyde d'argent est essentiellement due à l'ion Ag⁺ seul qui est capable de précipiter les protéines des protoplastes bactériens; ce complexe Ag / protéine produit en continu des ions d'argent qui poursuivent leur action. L'argent forme des complexes insolubles avec les acides désoxyribonucléiques (ADN) et ribonucléiques (ARN), ce qui pourrait expliquer son activité antibactérienne (Sondi, 2004).

3.3.2. Résistance des microorganismes aux ions Ag⁺

Contrairement aux antibiotiques, les ions Ag⁺ provoquent très rarement l'émergence de résistance de la part des bactéries ou des levures. Les cations métalliques agissent simultanément sur de nombreux sites de la cellule et lorsque la concentration en Ag⁺ est suffisante, le microorganisme ne peut pas muter avant d'être tué. L'existence d'un phénomène de résistance pouvant être lié aux gènes présents dans le génome du microorganisme, parce que après des cultures répétées des bactéries *C. albicans* et *S. cerevisiae* en présence d'argent à des concentrations comprises entre 1 et 2 mmol.L⁻¹ ces microorganismes mettent en place un système de résistance tel qu'ils peuvent alors se développer en présence de concentration en argent plus importantes (5 mmol.L⁻¹) et normalement létales. L'entrée des ions Ag⁺ dans la cellule des microorganismes s'accompagne d'une excrétion de cations afin de conserver l'électro-neutralité au sein de la cellule, l'absence de ce mécanisme d'excrétion, conférant à ces microorganismes une résistance aux ions Ag⁺. Cette résistance aux ions Ag⁺ est liée à la présence de plasmides, molécules d'ADN surnuméraires contenant neuf gènes de résistance à l'argent (Mtimet, 2011).

IV. La toxicité des nanoparticules

1. Effets néfastes de l'argent sur l'Homme

L'argent sous forme de nanoparticules peut pénétrer dans le corps humain par différentes voies. Après ingestion ou contact dermique en présence d'une lésion cutanée, les nanoparticules métalliques peuvent se retrouver dans la circulation sanguine et/ou lymphatique et s'accumuler dans les organes provoquant une perte d'identité cellulaire, une réduction de la capacité de prolifération et des modifications de la structure des organites et du noyau cellulaire.

La dangerosité des nanoparticules vient principalement de leur forme et de leur taille, car elles peuvent être facilement inhalées et interagir avec les voies respiratoires, puis cardiovasculaires.

L'une des conséquences négatives de l'argent ionique pour l'Homme est l'argyrie (ou argyrose, du grec « argyros » qui signifie argent), qui correspond à la coloration bleu-gris de la peau (ex : visage, bras, mains, base des follicules des cheveux, ongles), des yeux et des muqueuses (Saulou, 2009) .

2. Conséquences de la dissémination de l'argent dans l'environnement

L'utilisation croissante de produits contenant des nanoparticules peut conduire à un relargage massif dans l'environnement, notamment les milieux aquatiques (impact sur les poissons, invertébrés, phyto- et zooplancton, algues) et les sols (effets potentiellement néfastes sur les bactéries et les plantes).

De plus, certaines nanoparticules sont toxiques pour les poissons car ils inhibent l'activité branchiale et affectent les fonctions de croissance et de reproduction. Toutefois, en eaux douces ou dans le milieu maritime, les ions Ag^+ se complexent avec les ions Cl^- , SO_4^{2-} et S^{2-} , formant des précipités très peu solubles. Les nanoparticules provoquent une réduction de la viabilité cellulaire de bactéries du sol, comme par exemple les bactéries dénitrifiantes, qui jouent un rôle majeur dans la fixation de l'azote, l'élimination des nitrates, la dégradation des composés organiques et l'établissement de symbiose avec les plantes (Saulou, 2009).

Activité antibactérienne des nanoparticules métalliques (Ag_2O , ZnO-Al , TiO_2) vis à vis de quelques bactéries pathogènes.

Chapitre II :

Materiel et Méthodes

Notre étude expérimentale est effectuée au laboratoire de microbiologie de la DDS-willaya de GUELMA.

1. Matériel biologiques

Les souches bactériennes utilisées dans cette étude sont les suivantes (tableau 02)

3 souches de référence :

- *Escherichia coli* (ATCC 25922)
- *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853)
- *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)

3 souches cliniques :

- *Escherichia coli*: isolée à partir d'infection vaginale.
- *Pseudomonas aeruginosa* : isolée à partir d'infection respiratoire.
- *Staphylococcus aureus* : isolée à partir d'infections urinaire.

Tab 02: Listes des souches bactériennes utilisées.

Nom de la souche	Numéro de la souche
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922),	S1
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	S2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	S3
<i>Escherichia coli</i>	S4
<i>Staphylococcus aureus</i>	S5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	S6

2. Matériel chimique

Les matériaux chimiques utilisés sont des nanoparticules métalliques (ZnO-Al, Ag₂O, TiO₂), les molécules nanométrique sont synthétisées par la méthode de co-précipitation (Boulouedenine, 2006).

Les différentes dilutions des molécules à tester représentent les concentrations suivantes : 0, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512 µg/ml, elles sont préparées à partir d'une solution mère 6000 µg/ml.



Figure 07 : les nanoparticules d'Ag₂O, TiO₂, ZnO-Al [2].

3. Méthodes

3.1. Evaluation de l'activité antibactérienne des nanoparticules

La sensibilité aux molécules nanométriques a été étudiée par la méthode de diffusion en milieu solide qui permet de déterminer la sensibilité des bactéries à croissance rapide vis-à-vis des antibiotiques, des molécules nanométriques et association ATB-nanoparticules (Ag₂O, ZnO-Al, TiO₂).

3.1.1. Diffusion en milieu gélosé

3.1.1.1. Détermination des zones d'inhibition (antibiogramme)

❖ Principe

L'antibiogramme permet de déterminer la sensibilité des bactéries aux antibiotiques. Les antibiotiques utilisés dans cette étude ont été choisis selon leur spectre d'activité qui s'étend vers les espèces étudiées (tableau 03)

Tableau 03 : Valeurs critique des diamètres des zones d'inhibition (Ammari, 2011).

ATB	Code	Charge de disque	Diamètre critique		
			R	I	S
Acide nalidixique	AN	30µg	≤ 13	14 – 18	≥ 19
Tétracycline	TE	30 µg	≤14	15-18	≥19
Pénicilline	P	15 µg	≤19	19-21	≥22
Rifampicine	RA30	5 µg	16	17 - 19	20
Céfotaxime	CTX30	30µg	≤ 22	23 – 25	≥ 26
Lincomycine	L10	2 µg	≤14	15-20	≥21
Amikane	NA	30 µg	14	15 – 16	17
Cefotoxine	C30	30 µg	14	15 – 17	18
Pipéracilline	PIP	100 µg	17	18
Pristinamycine	PT	15 µg	< 19	19 – 21	≥ 22

❖ **préparation de l'inoculum**

A partir d'une culture pure de 18h sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.

- Bien décharger l'anse ou l'écouvillon dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à (0,9%).
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 McFarland ou à une D.O. de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm.

❖ **Ensemencement**

Se fait par la méthode de Kirby-Bauer, par écouvillonnage (appelée méthode NCCLS).

- Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum.
- L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

❖ **Application des disques d'antibiotiques**

- Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotique sur une boîte de 90 mm.
- Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide d'une pince bactériologique stérile et ne pas déplacer les disques après application.
- Pour déterminer l'effet combiné ATB-NP, chaque disque de papier buvard imprégné par (100µl) de la solution mère est appliquée à l'aide d'une pince stérile sur chaque ATB (Thati, et al., 2010).

❖ **Incubation**

- Incuber les boîtes à l'étuve à 37°C pendant 24 h.

❖ Lecture

-Mesurer avec précision en (mm) le diamètre des zones d'inhibitions autour des disques ATB et ATB-Np (Ammari, 2011).

3.1.2 Méthode de papier buvard

La méthode de diffusion sur milieu gélosé est réalisée sur milieu MH (Mueller Hinton), la gélose MH stérile fondu est versé aseptiquement dans des boîtes de Pétri avec une épaisseur de 4 mm dans chaque boîte. Après solidification et à l'aide d'un écouvillon stérile, la surface du milieu de culture estensemencée par une des suspensions de souches bactériennes, ces dernières sont préparées dans l'eau physiologique stérile et qui porte une charge bactérienne de l'ordre de 0,5 Mc Farland .Les suspensions bactériennes sont préparées à partir de culture fraîche de 18 heures.

A l'aide d'une pince stérile, des disques de papier buvard de 6 mm (papier buvard) sont déposés sur la surface de la géloseensemencée, ensuite une quantité de 0.05 ml (50µl) de différentes concentrations est déposé sur chaque disque. Les boîtes sont incubées 24 heures à 37°C. Après incubation, les zones d'inhibitions formées sont mesurées à l'aide d'un pied à coulisse (figure 08) (Singh et *al.*, 2012).

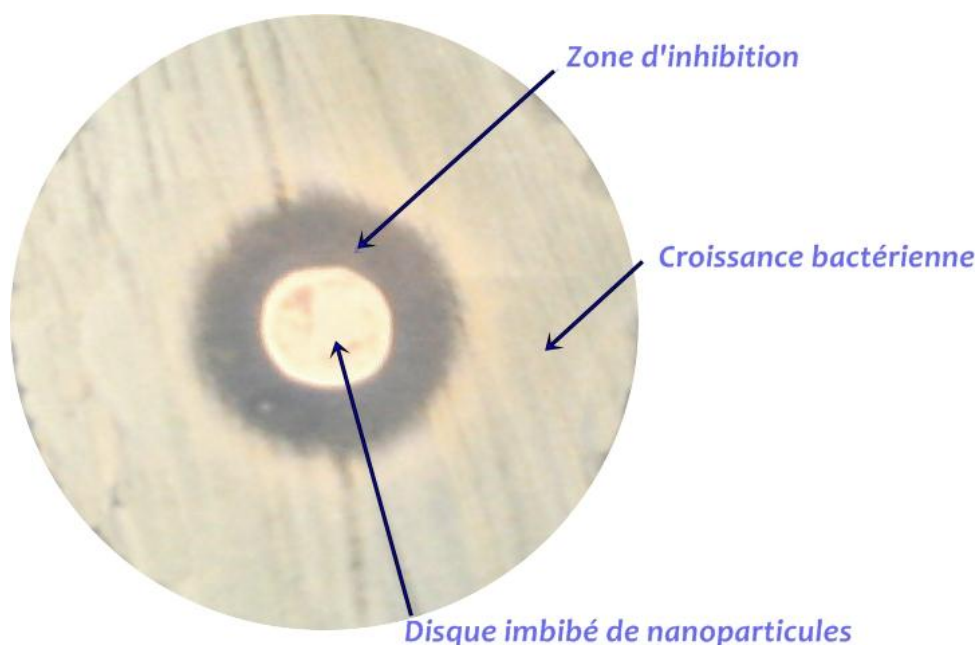


Figure 08 : Méthode de diffusion sur milieu gélosé.

3.1.3 Méthode de diffusion en puits

Cette méthode repose sur le pouvoir migratoire des nanoparticules à l'intérieur d'une boîte de Pétri dans un milieu MH solide.

Sur une gélose MHensemencé par écouvillonnage avec une suspension de 0,5 Mc Farland, Des puits de 6 mm sont réalisés à la surface à l'aide d'une pipette pasteur stérile (figure 09).

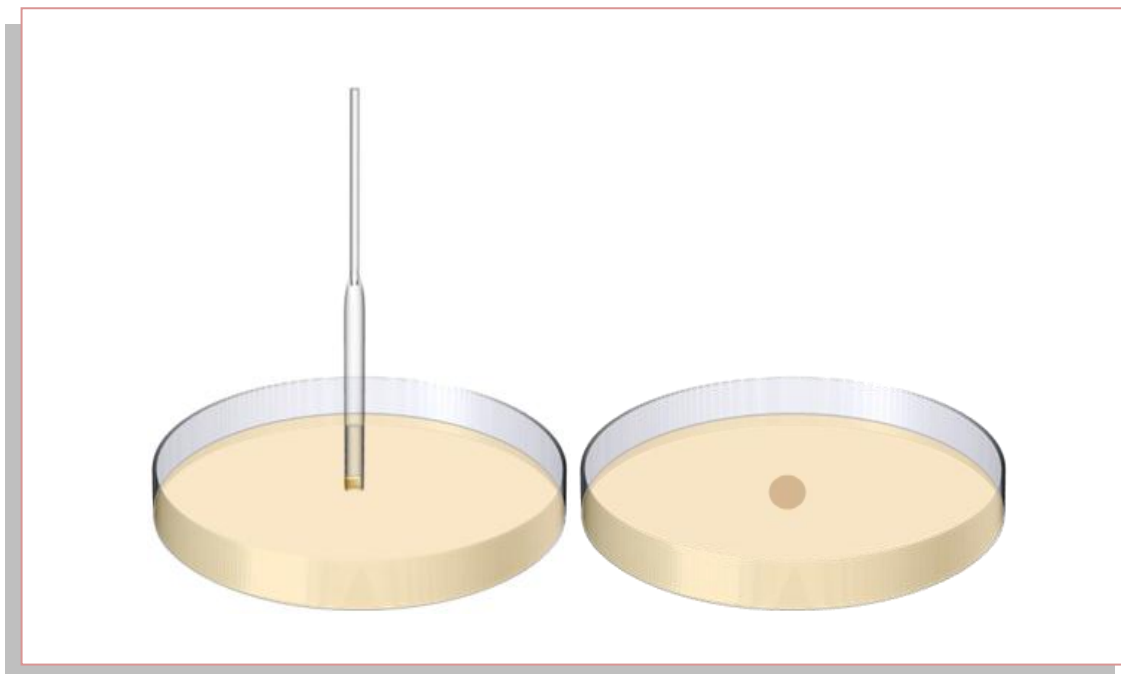


Figure 09: Méthode de diffusion en puits (Ammari, 2011).

Une quantité de 0.05 ml de chaque concentration de différentes nanoparticules est déposée aseptiquement dans ces puits. Les boîtes de Pétri sont incubées à 37°C pendant 24 heures. Après l'incubation, les zones d'incubations sont mesurées à l'aide d'un pied à coulisse (Singh et *al.*,2012).

3.1.4 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Cette technique permet principalement de définir le spectre d'activité d'une molécule à activité antibactérienne.

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est la plus petite concentration de la molécule à tester qui inhibe toute culture visible d'une souche bactérienne après 18h d'incubation à 37°C. Cette valeur caractérise l'effet bactériostatique de cette molécule.

La détermination de la CMI a été réalisée selon la méthode de dilution préconisée par le CLSI (clinical and Laboratory standards Institute) (Singh *et al.*, 2012).

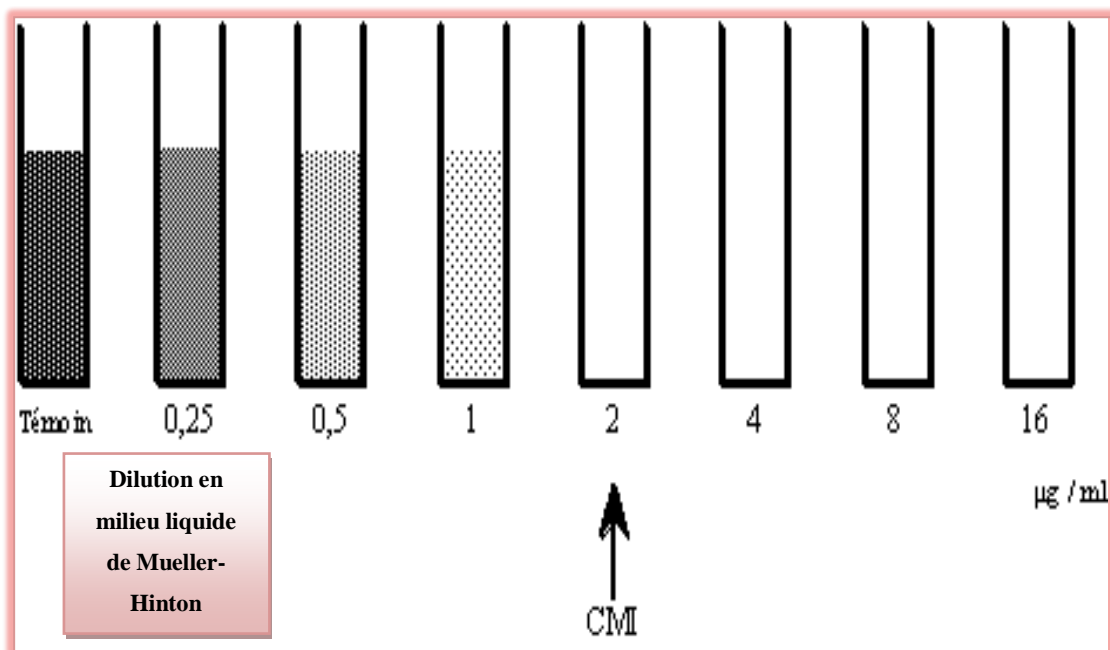


Figure 10: Concentration minimale inhibitrice [3]

❖ Technique

On répartit dans une série de tubes un volume constant de bouillon MH (18ml), qu'on ensemence avec un inoculum fixé de bactérie (DO de 0,08 à 0,1 lue à $\lambda = 625$ nm).

- Mettre 2ml de chaque dilution des nanoparticules (ZnO-Al, Ag₂O, TiO₂).
- Un témoin est laissé sans nanoparticule.
- Après incubation à 37°C, les tubes sont soigneusement examinés.
- La CMI c'est la première concentration qui inhibe la culture de la souche études.

NB : Après 18h à 24h parallèlement à la CMI, on réalise un dénombrement sur GN (gélose nutritif) des bactéries étudiées pour chaque concentration après (24h, 48h et 72h).

3.1.5 Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

La concentration minimale bactéricide (CMB) est la plus faible concentration ne laissant subsister que 0,01 % ou moins de survivants de l'inoculum initiale après 18h à 24h de culture à 37°C (Singh et *al.*, 2012).

Activité antibactérienne des nanoparticules métalliques (Ag_2O , ZnO-Al , TiO_2) vis à vis de quelques bactéries pathogènes

Chapitre III :

Résultats et discussion

11. Résultats

1.1 Détermination de l'activité antibactérienne des nanoparticules

Les diamètres des zones d'inhibitions des ATB et (ATB+Ag₂O) pour les 06 souches testées, sont présentées dans le Tableau 4 et les Figures (11, 12, 13, 14, 15,16).

Après incubation à 24h à 37°C, nous constatons Une augmentation des diamètres des zones d'inhibitions est observées avec AN (1 mm), L10 (22 mm), RA30 (7 mm), NA (5 mm), CTX30 (24 mm) et C30 (9 mm) sur la souche (S4) (Figure 11 et 12), une augmentation des zones d'inhibitions avec PT (1 mm), AN (3 mm), TE (2 mm), P (2 mm), RA30 (3 mm), CTX30 (9 mm) et L10 (1 mm) sur la souche (S5) (Figure 13 et 14), et une augmentation des diamètres des zones d'inhibitions est observées avec PIP (2 mm),TE (5 mm),C30 (17 mm),L10 (15 mm),RA30 (4 mm),AN (2 mm) et CTX30 (13 mm) sur la souche S6 (Figure 15 et 16)

Après incubation à 37°C pendant 24h, nous avons observées et mesurées le diamètre des zones d'inhibitions autour des disques des ATB et autour des disques (ATB+ZnO-Al) pour les souches testés, aucune augmentation des diamètres des zones d'inhibitions des ATB avec le ZnO-Al sur la souche (S4). Une augmentation de la zone d'inhibitions autour des disques PT (2 mm) AN (1 mm) L10 (2 mm) sur la souche (S5) avec ZnO-Al. Une augmentation de la zone d'inhibitions autour des disques (PIP, AN) (1 mm) RA30 (2 mm) sur la souche (S6) avec ZnO-Al. Pour les disques d'ATB avec TiO₂ il n'y'a aucune augmentation des zones a été observé avec les souches testées.

Tableau. 04 : Diamètres des zones d'inhibition des souches testées S1, S2, S3, S4, S5, S6 vis-à-vis Ag₂O, ZnO-Al et TiO₂.

<i>Escherichia coli</i>								
Souches ATB	Zone d'inhibition ATB		Zone d'inhibition ATB+Ag ₂ O		Zone d'inhibition ATB+ZNO-Al		Zone d'inhibition ATB+TiO ₂	
	S4	S1	S4	S1	S4	S1	S4	S1
AN	24	26	25	28	22	26	23	24
L10	0	0	22	25	0	0	0	0
RA30	23	20	30	23	23	19	21	17
NA	20	22	25	24	20	21	17	20
CTX30	0	0	24	20	0	0	0	0
C30	13	27	22	29	12	25	11	25
L10	27	17	28	29	26	16	17	15

<i>Staphylococcus aureus</i>								
Souches ATB	Zone d'inhibition ATB		Zone d'inhibition ATB+ Ag ₂ O		Zone d'inhibition ATB+ZnO-Al		Zone d'inhibition ATB+TiO ₂	
	S5	S2	S5	S2	S5	S2	S5	S2
PT	31	30	32	33	33	31	31	29
AN	27	27	30	30	28	27	27	25
TE	30	29	32	33	30	29	29	24
P	20	17	22	24	20	18	17	14
RA30	30	22	33	34	25	22	22	20
CTX30	12	14	21	20	11	14	14	13
L10	27	17	28	29	29	18	17	15

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>								
Souches ATB	Zone d'inhibition ATB		Zone d'inhibition ATB+ Ag ₂ O		Zone d'inhibition ATB+ZNO-AL		Zone d'inhibition ATB+TiO ₂	
	S6	S3	S6	S3	S6	S3	S6	S3
PIP	25	16	27	26	26	18	23	14
TE	14	22	19	20	13	22	13	21
C30	0	0	17	18	0	0	0	0
L10	0	0	15	18	2	1	0	0
RA30	13	10	17	19	14	11	12	9
AN	20	17	22	20	21	19	18	17
CTX30	0	0	13	15	0	0	0	0

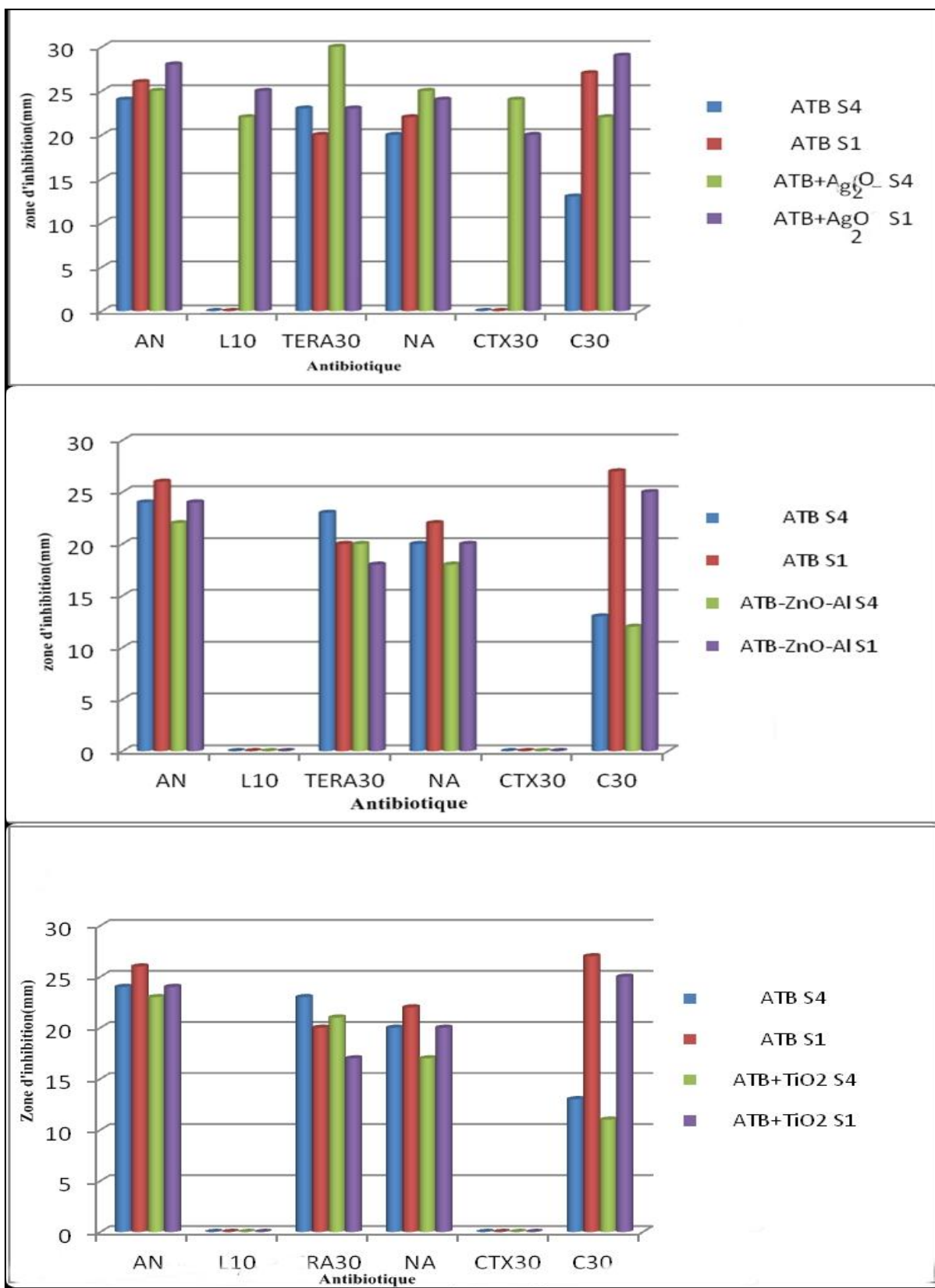


Figure 11: Diamètres des zones d'inhibitions d'*Escherichia coli* et d'*Escherichia coli* ATCC [(a)ATB+Ag₂O, (b)-ATB+ZnO-Al, (c)ATB+TiO₂].



Figure 12 : Antibiogramme d'*Escherichia coli* et *Escherichia coli* ATCC [(a) sans Nps (b) avec Ag_2O , (c) ZnO-Al et (d) TiO_2].

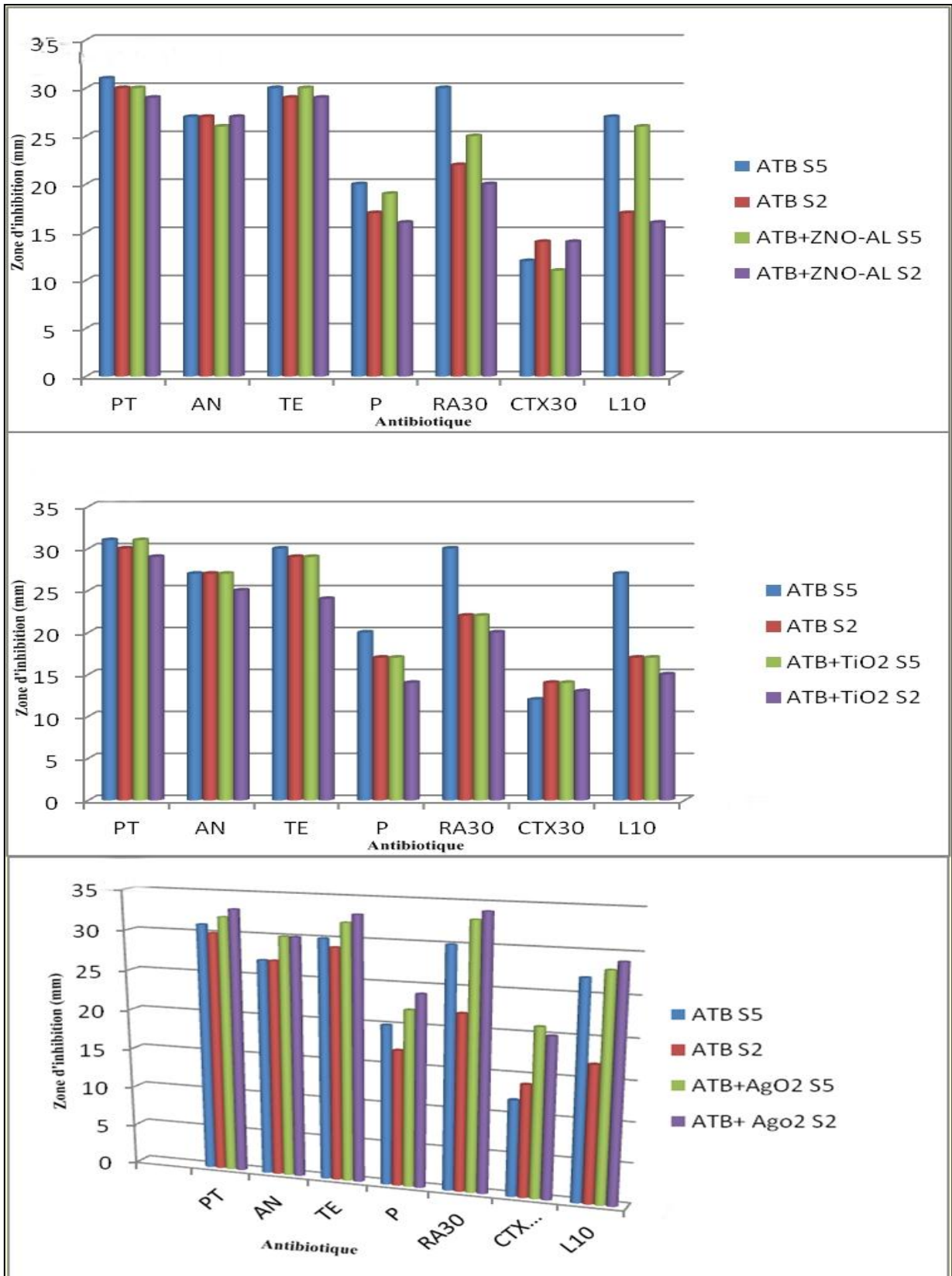


Figure 13: Zones d'inhibitions de *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus aureus* ATCC [(a)ATB+Ag₂O, (b)-ATB+ TiO₂, (c)-ATB+ ZnO-Al].

1

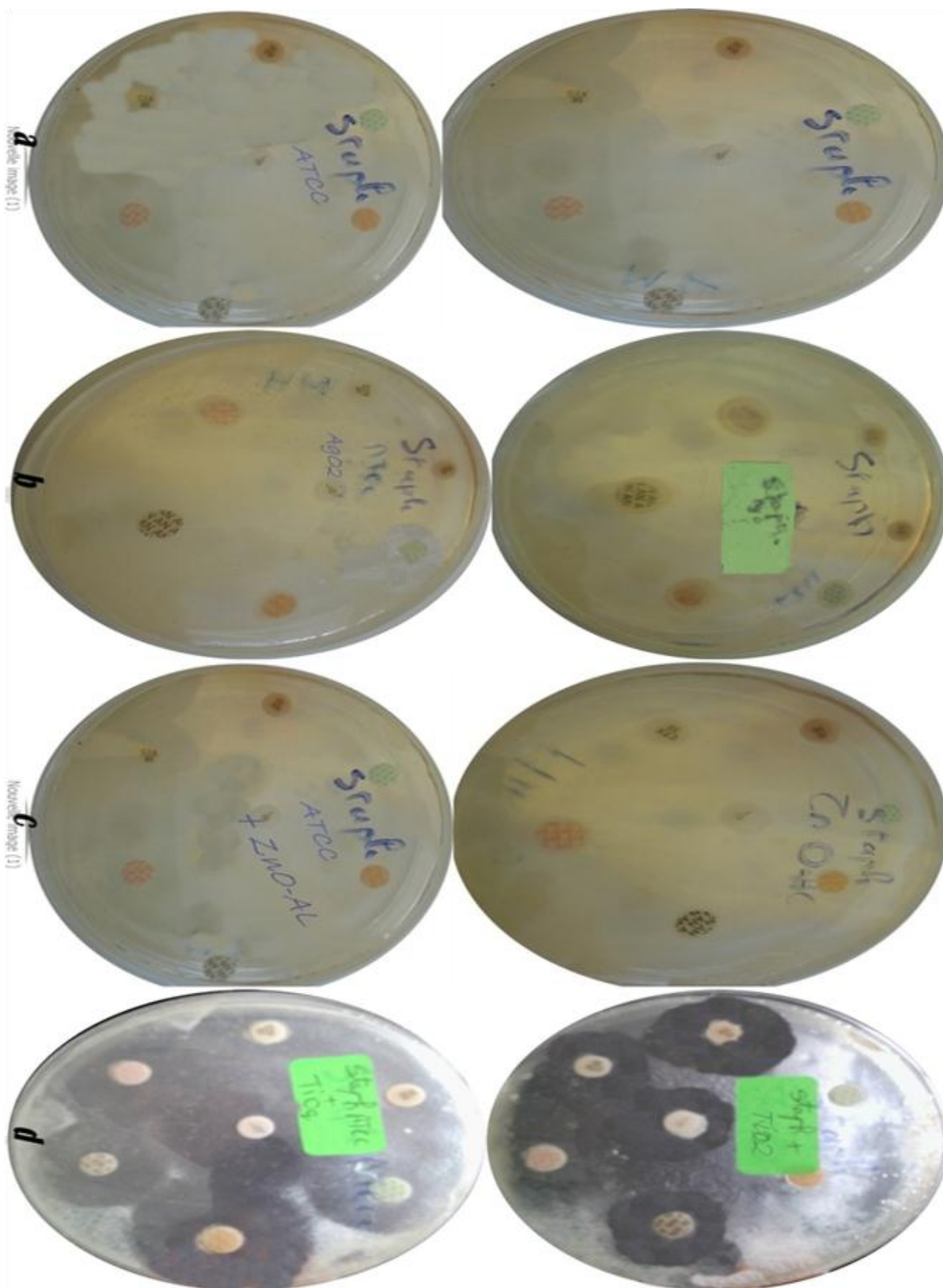


Figure 14 : Antibiogramme de *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus aureus* ATCC [(a) sans (b) avec Ag_2O , (c) ZnO-Al et (d) TiO_2]

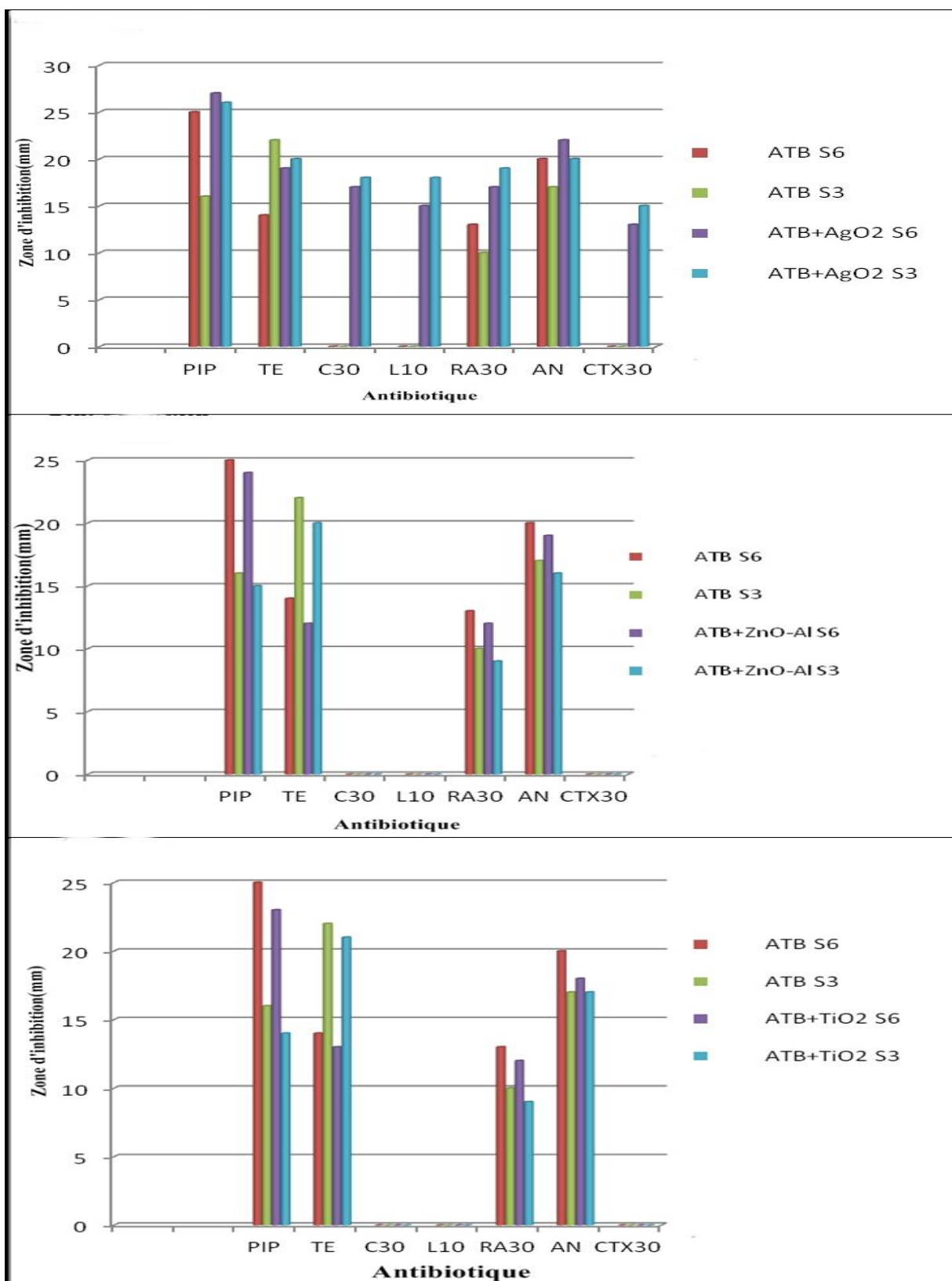


Figure 15: Zones d'inhibitions de *Pseudomonas aeruginosa* et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC [(a)ATB+Ag₂O, (b)-ATB+ZnO-Al, (c)ATB+TiO₂].

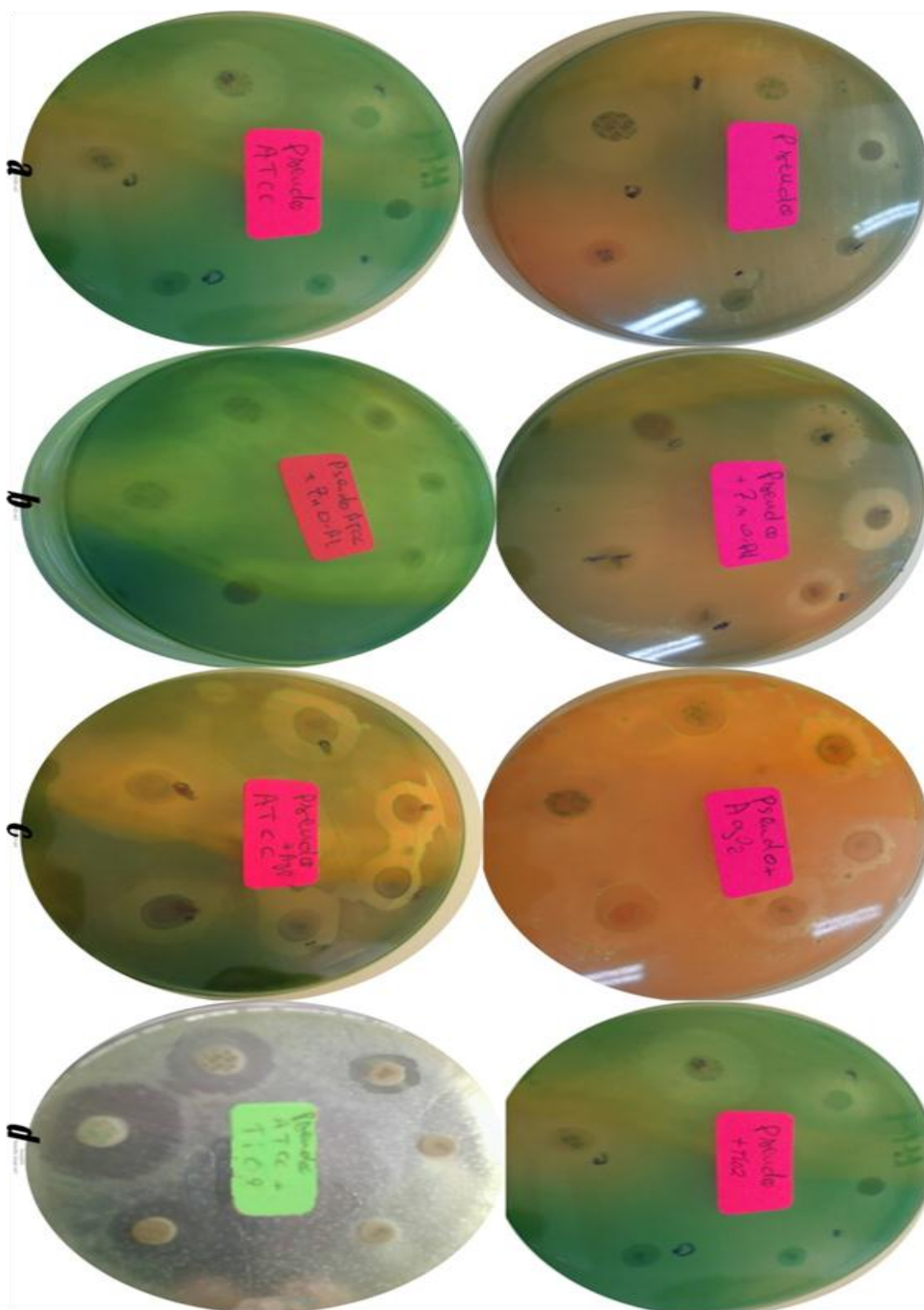


Figure 16 : Antibioassay of *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC [(a) sans Nps (b)ZnO-Al,(c) avec Ag₂O et (d)TiO₂].

1.2. Détermination de l'activité antibactérienne (par papier buvard)

Après incubation à 37°C à 24h nous avons observées pour les 06 souches testées des zones d'inhibitions autour des disques imbibés de différente concentration d'Ag₂O (tableau 05, 6, 7, figure 17). nous avons constatées que le diamètre de la zone d'inhibition augmente avec la concentration d'Ag₂O (dose- dépendante), elle est de (0-25mm) pour *E coli* (Tableau 05), de (0-21mm) pour *Staphylococcus aureus* (tableau 06) , et de (0-30mm) pour *Pseudomonas aeruginosa* (tableau 07).

Nous n'avons observées aucune augmentation des diamètres des zones d'inhibitions autour de disque papier buvard qui contient le ZnO-Al et TiO₂ pour les souches testées [voir (tableau 23,24, 25, 26, 27, 28) Annexes].

Tableau 05 : Diamètres des zones d'inhibition d'AgO₂ vis-à-vis *Escherichia coli* et *Escherichia coli* (ATCC)





			<i>Escherichia coli</i>	
Souche	Zone d'inhibition mm			
	[c] µg/ml	S1		
512	25	13		
256	23	12		
128	20	11		
64	13	10		
32	11	9		
16	10	8		
8	9	7		
4	6	7		
2	5	6		
0	0	0		

Tableau 06 : Diamètres des zones d'inhibition d'AgO₂ vis-à-vis *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus aureus* (ATCC)

<i>Staphylococcus aureus</i>				
Souche [c] µg/ml	Zone d'inhibition mm			
	S5	S2		
512	18	21		
256	16	16		
128	15	16		
64	13	15		
32	11	14		
16	10	13		
8	10	12		
4	8	11		
2	7	10		
0	0	0		

Tableau. 07: Diamètres des zones d'inhibition d'Ag₂O vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa* et *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC)

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			
Souche	Zone d'inhibition mm		
	S6	S3	
[c] µg/ml			
512	23	25	
256	21	23	
128	21	22	
64	17	19	
32	15	16	
16	13	14	
8	10	12	
4	9	11	
2	8	8	
0	0	0	

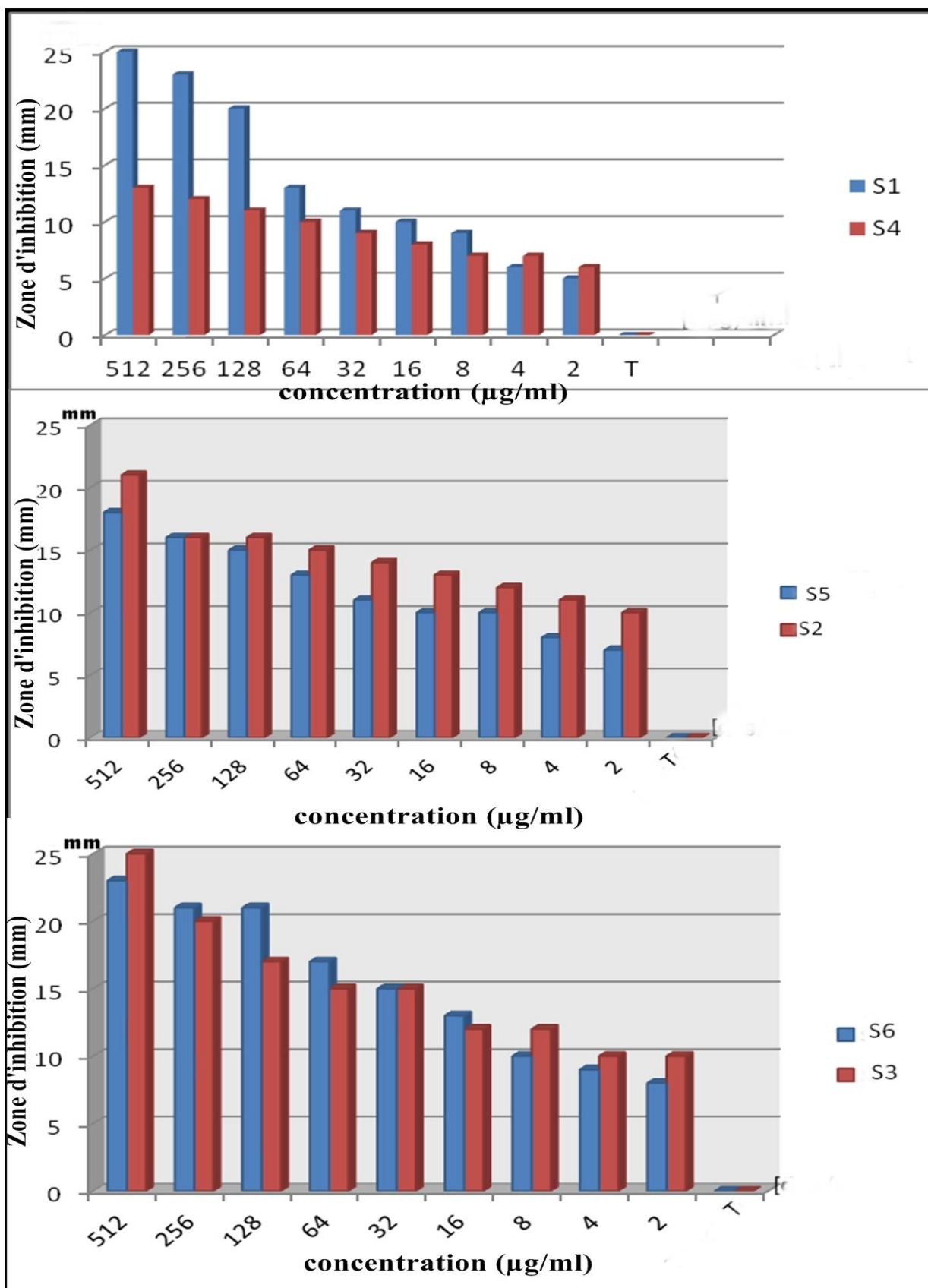


Figure 17 : Diamètres de zones d'inhibition de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* vis-à-vis Ag₂O (diffusion sur disque)

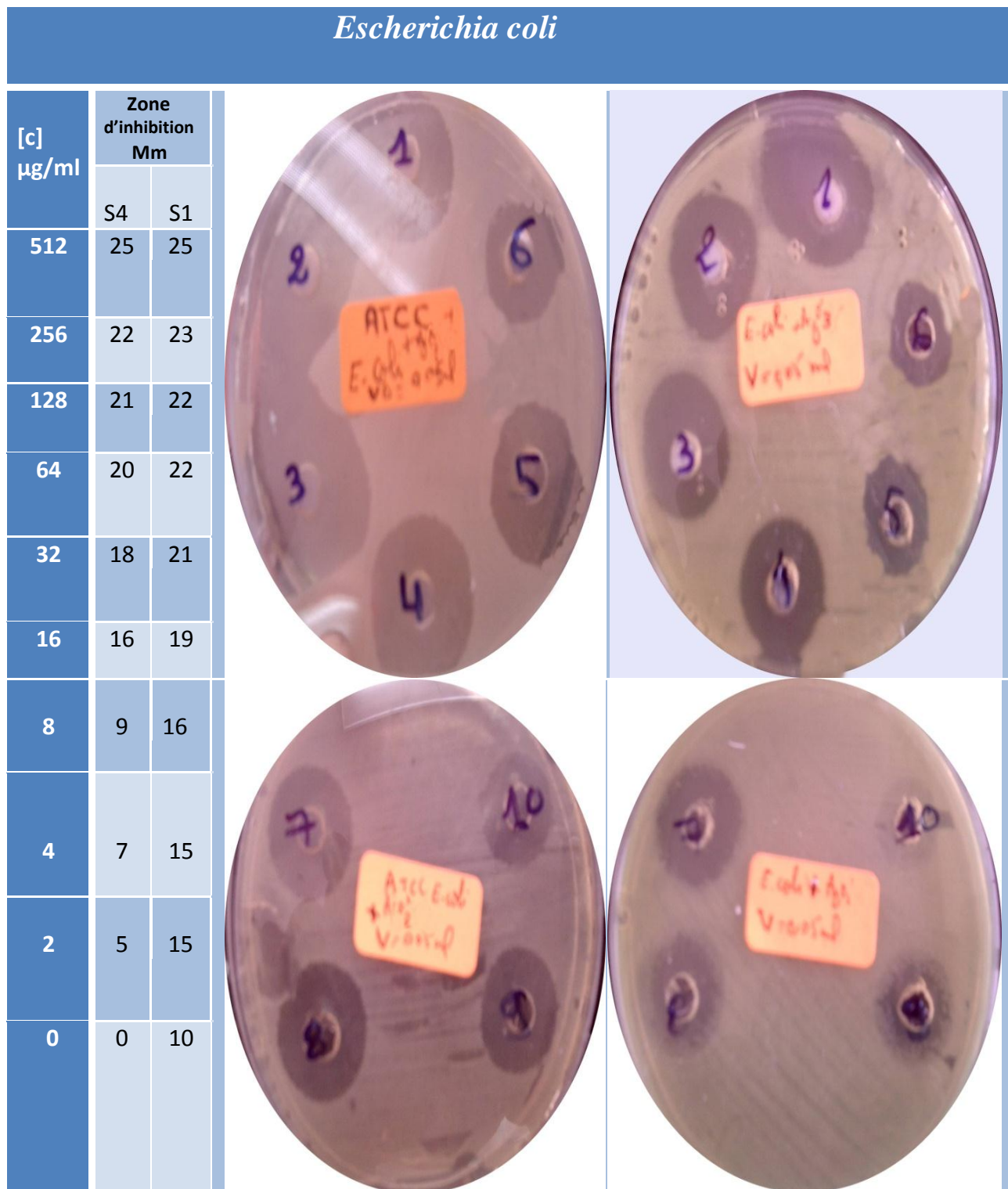
1.3 Détermination de l'activité antibactérienne (diffusion en puits)

Après incubation à 37°C pendant 24h nous avons observées pour les six souches testés des zones d'inhibitions autour des puits de différentes concentrations d'Ag₂O (tableaux 08-09-10 et figure 18) nous avons constatés que le diamètre de la zone d'inhibition augmente avec la concentration d'Ag₂O (0-25 mm) pour *Escherichia coli* (Tableau 08), (0-25 mm) pour *Staphylococcus aureus* (Tableau 09), et (0-30 mm) pour *Pseudomonas aeruginosa* (Tableau 10).

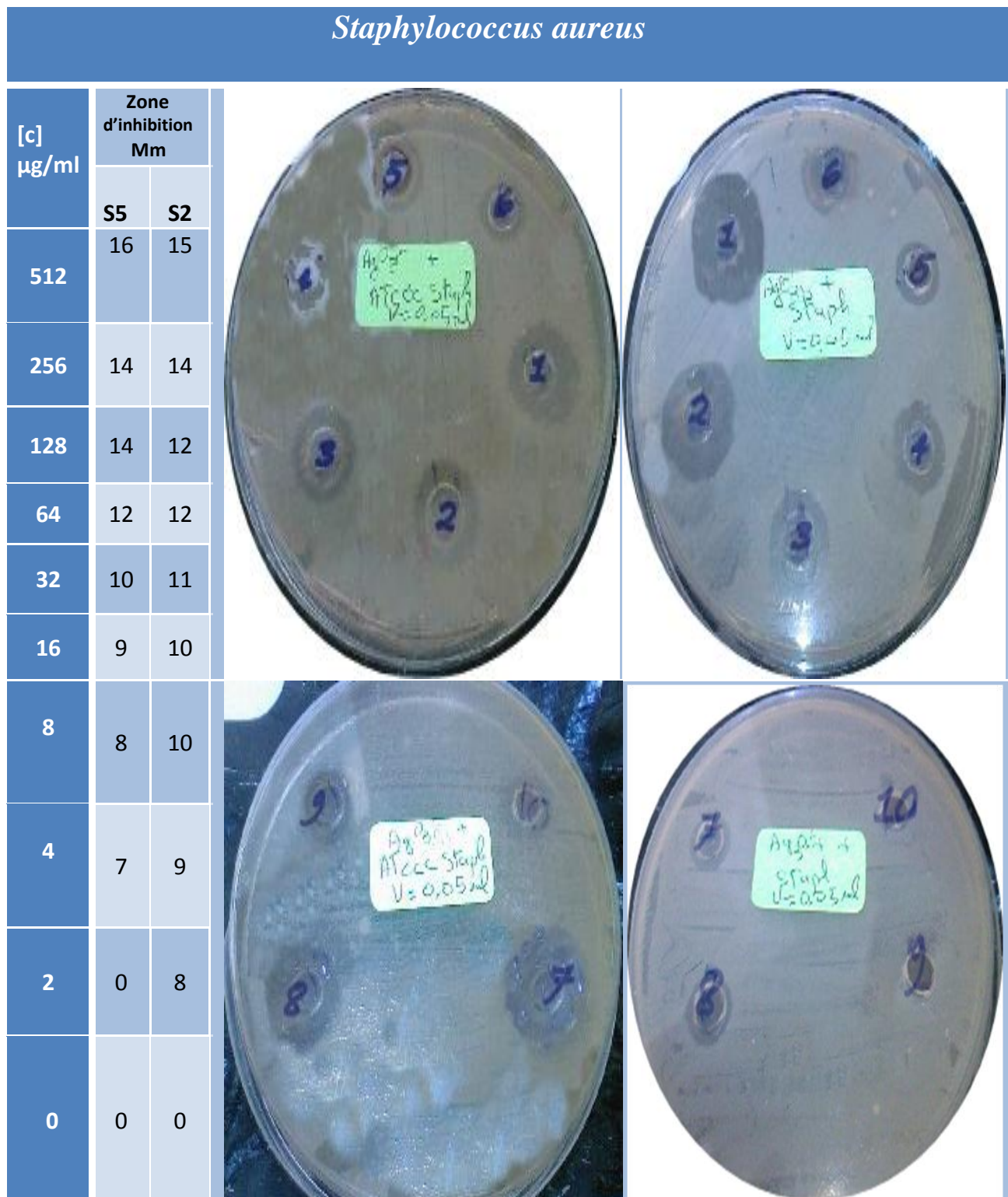
Des zones d'inhibitions (10-14 mm) pour *Pseudomonas aeruginosa* en présence de ZnO-Al (tableau 11) .

Aucune zone d'inhibition n'est observée avec cette technique pour les deux molécules ZnO-Al et TiO₂ [voir (tableau 29, 30, 31, 33) Annexe]

Tableau 08: Diamètres des zones d'inhibition d'Ag₂O vis-à-vis d'*Escherichia coli* et *Escherichia coli* (ATCC)







Tab 09: Diamètres des zones d'inhibition d'Ag₂O vis-à-vis *Staphylococcus aureus* et) *Staphylococcus aureus* (ATCC)



Tab.10 : Diamètres des zones d'inhibition d'Ag₂O vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa* et *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC)

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
[c] µg/ml	Zone d'inhibition Mm	
	S6	S3
512	30	20
256	25	18
128	24	18
64	23	17
32	21	15
16	20	14
8	19	13
4	15	11
2	13	9
0	0	0

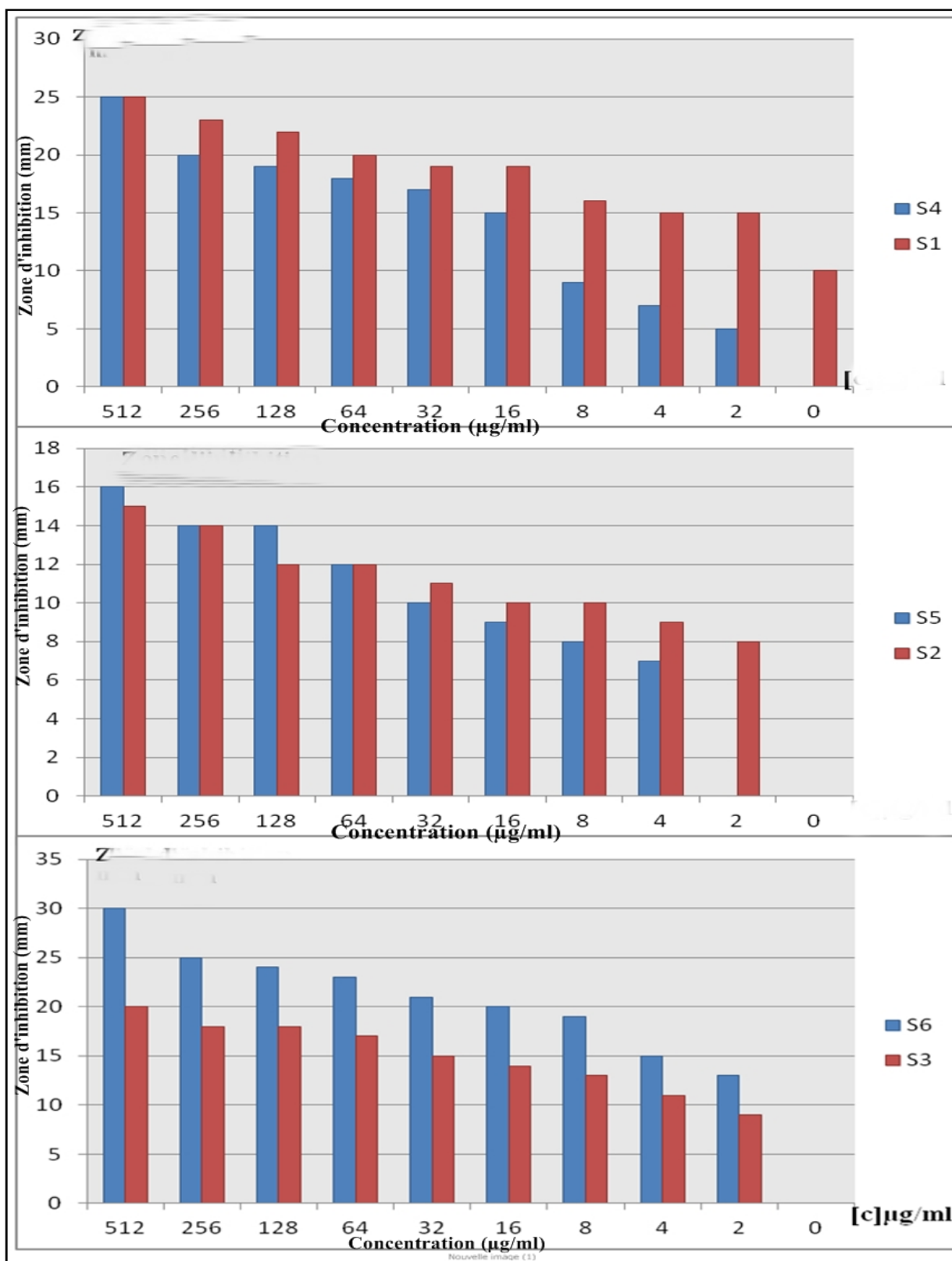






Fig18: Diamètres de zones d'inhibition de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* vis-à-vis Ag₂O (diffusion en puits)

Tab. 11 : Diamètres des zones d'inhibition de ZnO-Al vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa* et *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC)

			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
[c] µg/ml	Zone d'inhibition Mm			
	S6	S3		
512	14	0		
256	12	0		
128	11	0		
64	10	0		
32	0	0		
16	0	0		
8	0	0		
4	0	0		
2	0	0		
0	0	0		

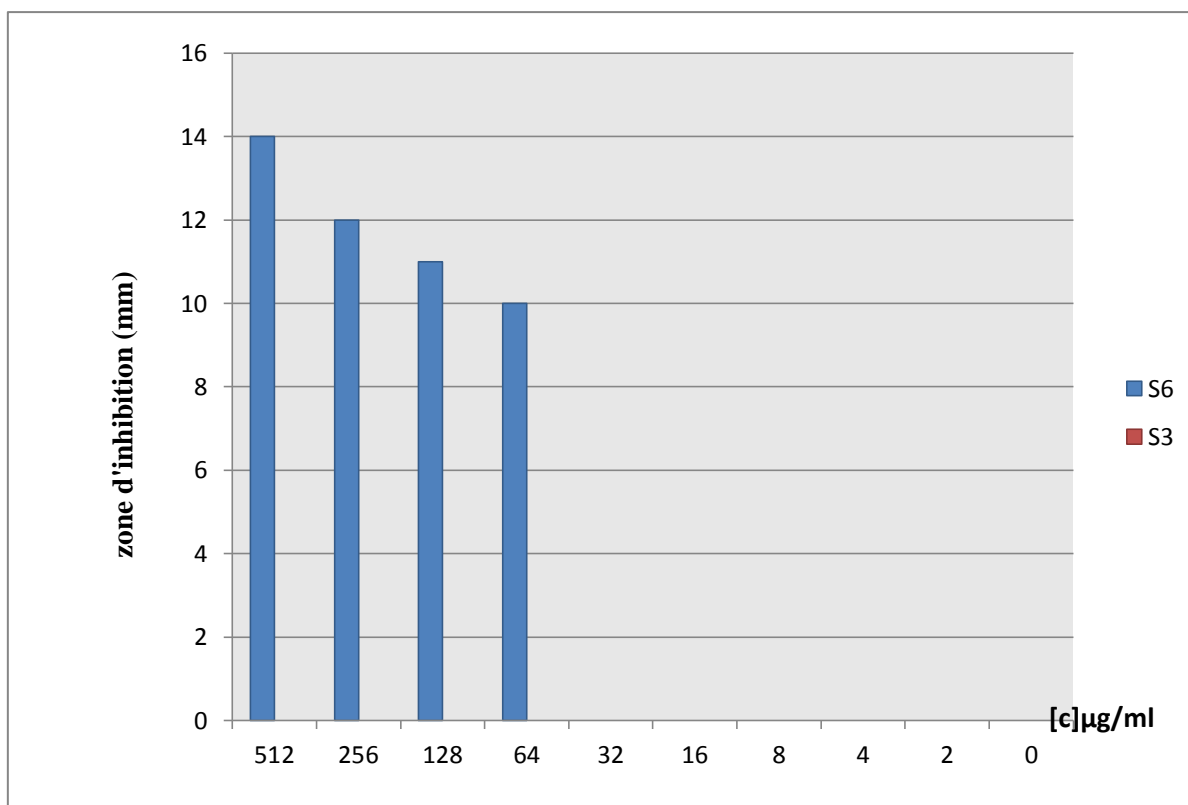


Fig 19 : Diamètres de zones d'inhibition de *Pseudomonas aeruginosa* vis-à-vis ZnO-Al (diffusion en puits)

1.4 Détermination de la concentration minimale inhibitrice

L'évaluation de l'activité antibactérienne des nanoparticules (ZnO-Al, Ag₂O, TiO₂) a été réalisée par la méthode de dilution en milieu liquide (Tableau 12).

Les résultats obtenus montrent que l'Ag₂O possède une activité antibactérienne vis-à-vis les souches testées, avec une concentration de 32 µg/ml pour *Pseudomonas aeruginosa* (Figure 22), 8 µg/ml pour *Staphylococcus aureus* (Figure 21) et 32 µg/ml pour *Escherichia coli* (Figure 20) à La nanoparticule de ZnO-Al a une activité antibactérienne seulement vis-à-vis les souches de *Staphylococcus aureus* avec CMI de 32µg/ml. (Figure 23), une absence de la CMI est observées pour le TiO₂ vis-à-vis des souches testés [voir(figure) Annexe].

Tableau .12: Les valeurs de CMI de Ag₂O, ZnO-Al, et TiO₂. (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*)

Nanoparticule	CMI (µg/ml)		
	AgO2	ZnO-Al	TiO2
Souche S4	32	-	-
S1	16	-	-
S5	16	32	-
<S2	16	32	-
S6	32	-	-
S3	32	-	-

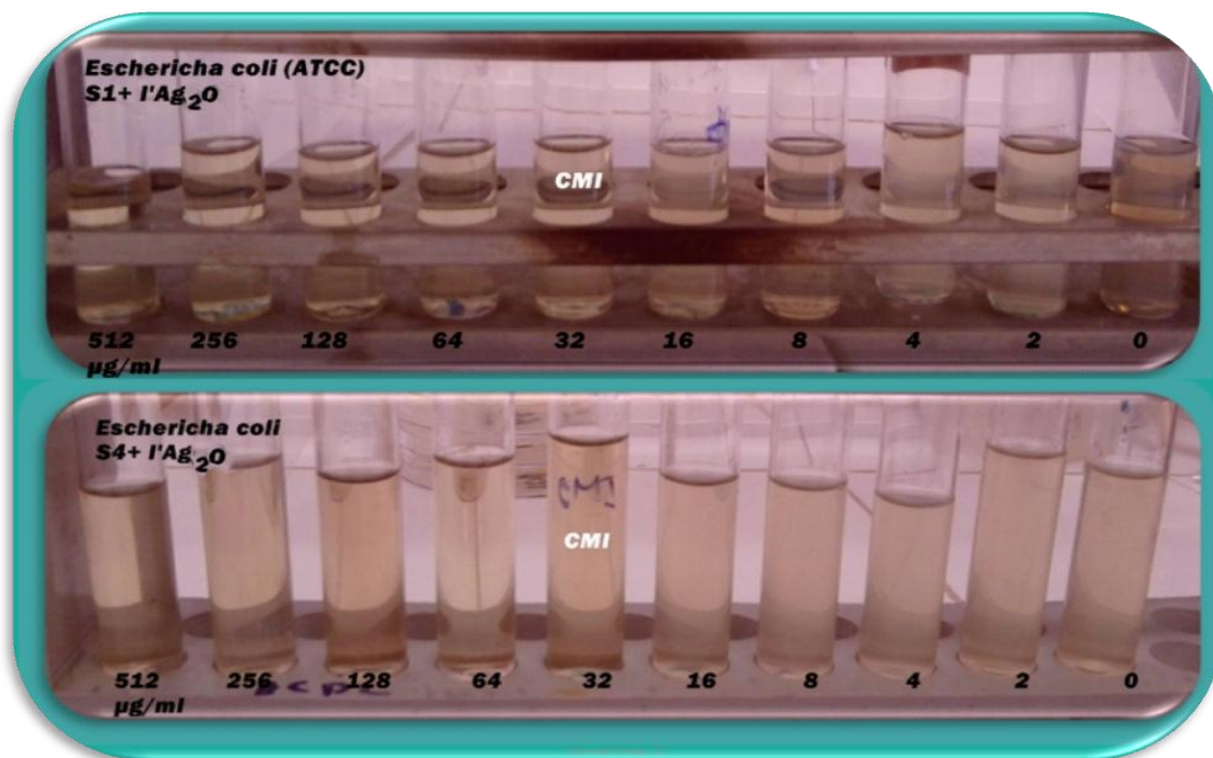


Fig 20 : Determination de CMI d' *E.coli* vis-à-vis d' Ag₂O

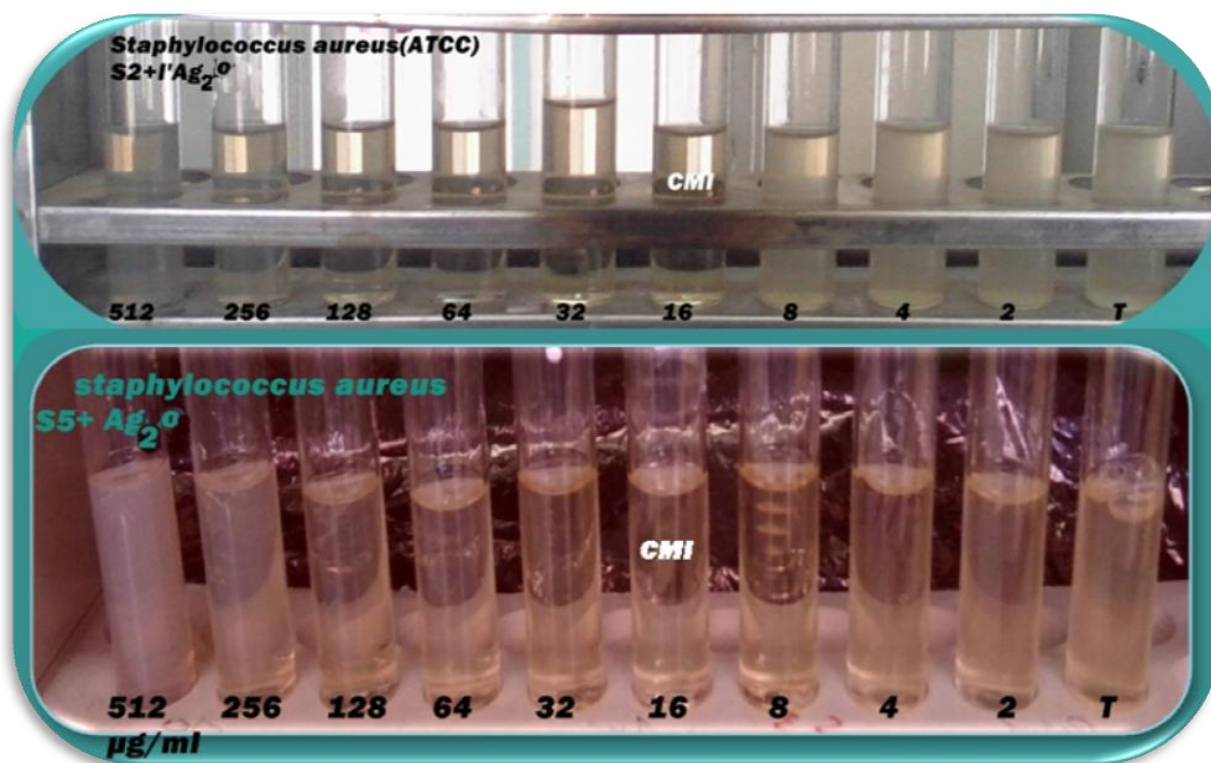


Fig 21 : Determination de CMI de *Staphylococcus aureus* vis-à-vis d'Ag₂O

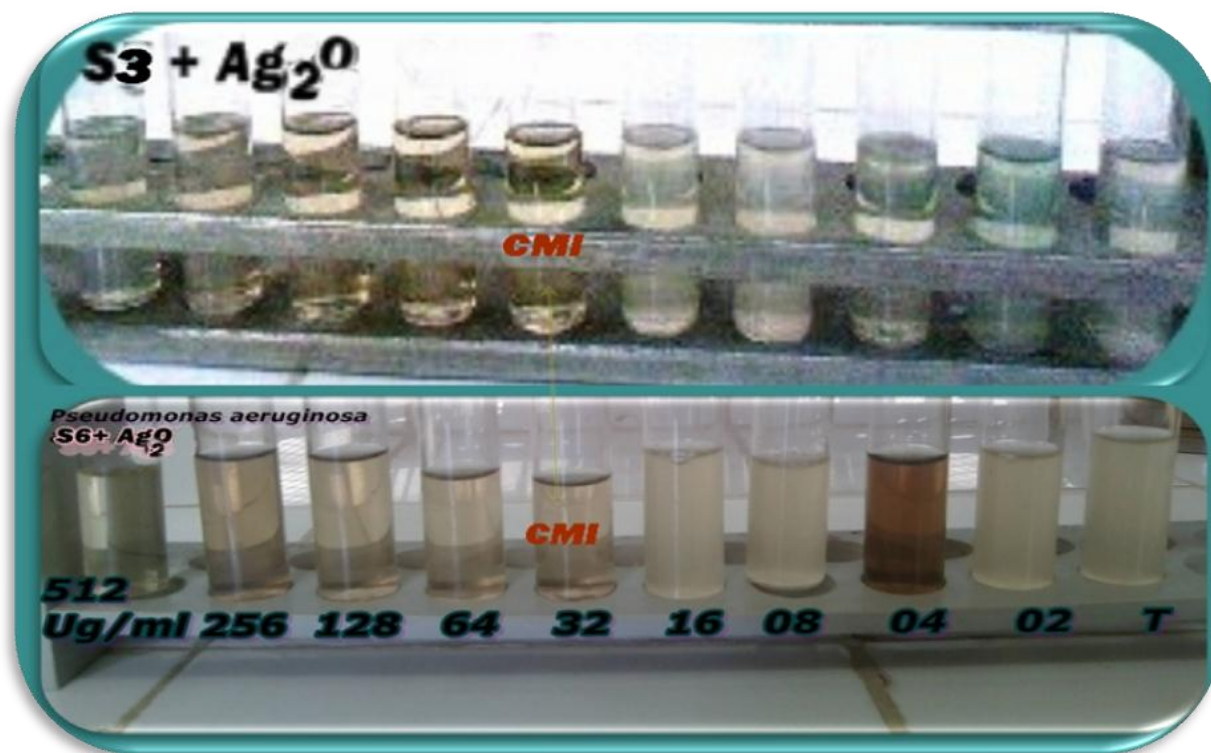


Fig 22: Determination de CMI de *P.aeruginosa* vis-à-vis d'Ag₂O

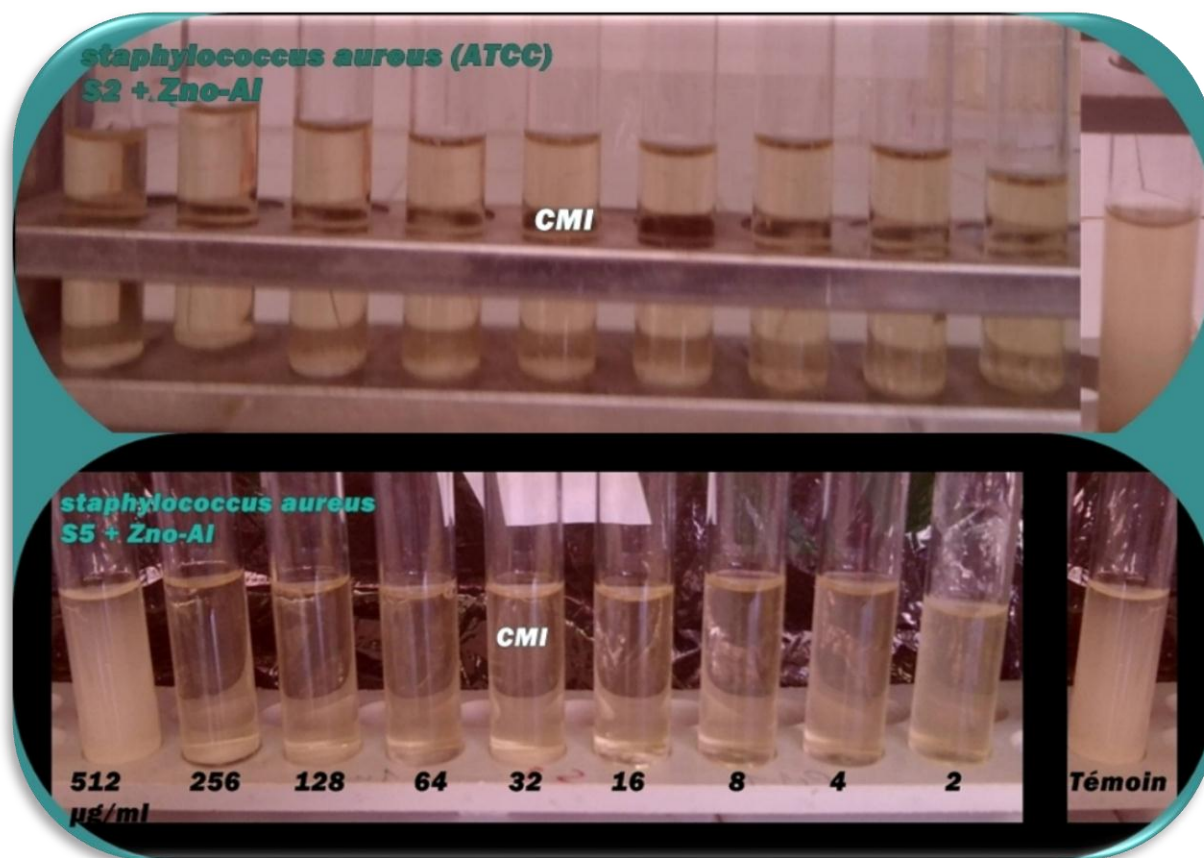


Fig 23 : Détermination de CMI de *Staphylococcus aureus* vis-à-vis de ZnO-Al

1.5. Détermination de la concentration minimale bactéricide

La comparaison des dénombrements bactériens effectués après incubation en présence d'Ag₂O a permis de déterminer un nombre inférieur à 10² UFC/ml dans toutes les boîtes ce qui correspond à un nombre inférieur à 0,01 % du nombre initiale des bactéries (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*) avec CMB=128 µg/ml pour *Staphylococcus aureus*, de 256 µg/ml pour *Pseudomonas aeruginosa* et de 512 µg/ml pour *Escherichia coli* (Tableau 13) .

Tableau 13: Détermination de CMB des nanoparticules (Ag_2O , ZnO-Al , TiO_2)

		CMB ($\mu\text{g/ml}$)		
Nanoparticule		Ag_2O	ZnO-AL	TiO_2
Souche				
	S4	512	-	-
	S1	512	-	-
	S5	128	32	-
	S2	128	64	-
	S6	256	-	-
	S3	256	-	-

1.4 Dénombrement du germe en présence de différentes concentrations des nanoparticules

Les courbes de croissance offrent des données quantitatives permettant une analyse fiable de l'effet d'une substance donnée (ZnO-Al , Ag_2O , TiO_2) sur les souches étudiées (*E.coli*, *S.aureus* et *P.aeruginosa*).

Les figures (28-35) Et les tableaux (25- 33)mettent en évidence l'évolution de la croissance des bactéries (*E.coli*, *S.aureus* et *P.aeruginosa*) en fonction du temps et en présence de différentes concentrations des nanoparticules métalliques, nous remarquons que chez les témoins, le nombre des unités formant une colonie es diminue avec le temps. En revanche, chez les traités par les différentes concentrations des nanoparticules métalliques (Ag_2O , ZnO-Al et TiO_2), nous constatons une diminution de la croissance d'une façon dose-dépendante par rapport aux témoins. Une forte diminution des unités formant une colonie est observées avec les souches bactériennes (*E.coli*, *S.aureus* et *P.aeruginosa*) en présence d' AgNO_3 avec une légère diminution est observé en présence de ZnO-Al .

On observe une forte augmentation des unités formant une colonie est observées avec les souches bactériennes (*E.coli*, *S.aureus* et *P.aeruginosa*) en présence de TiO_2 .

Tableau 14 : UFC/ml d' *E .coli* en présence d' Ag_2O et en fonction du temps

Temps(h) \ [C]µg/ml	24h	48h	72h
512	0	0	0
256	0	0	0
128	0	0	0
64	0	0	0
32	3	1	0
16	10	5	2
8	17	14	10
4	28	22	18
2	49	32	24
0	70	56	49

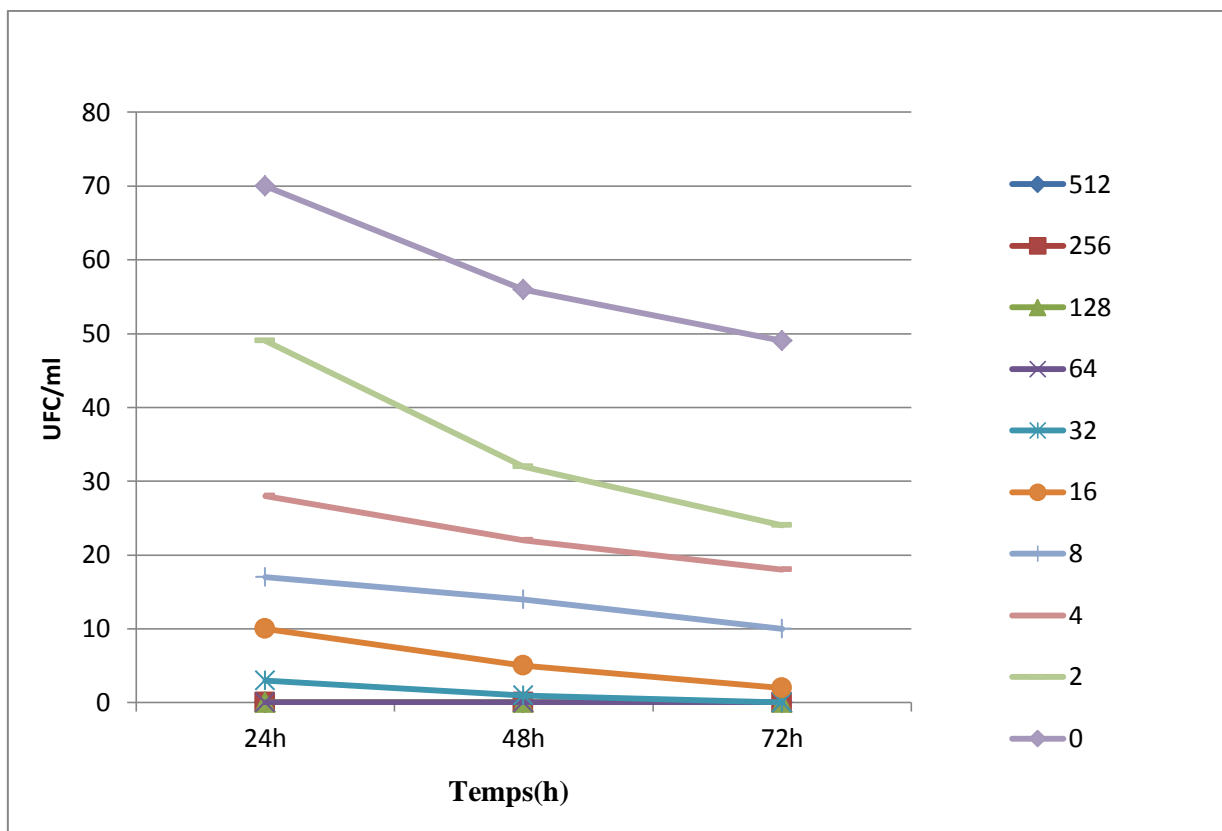


Fig 24 : Unités formant colonies (UFC) d' *E .coli* en présence d' Ag_2O et en fonction du temps

Tab.15 : Unité formant colonies (UFC) de *S.aureus* en présence d'Ag₂O et en fonction du temps

Temps(h) \ [C]µg/ml	24h	48h	72h
512	0	0	0
256	13	10	10
128	35	31	29
64	56	45	40
32	61	56	50
16	95	67	70
8	160	140	130
4	220	158	150
2	323	215	200
0	404	310	239

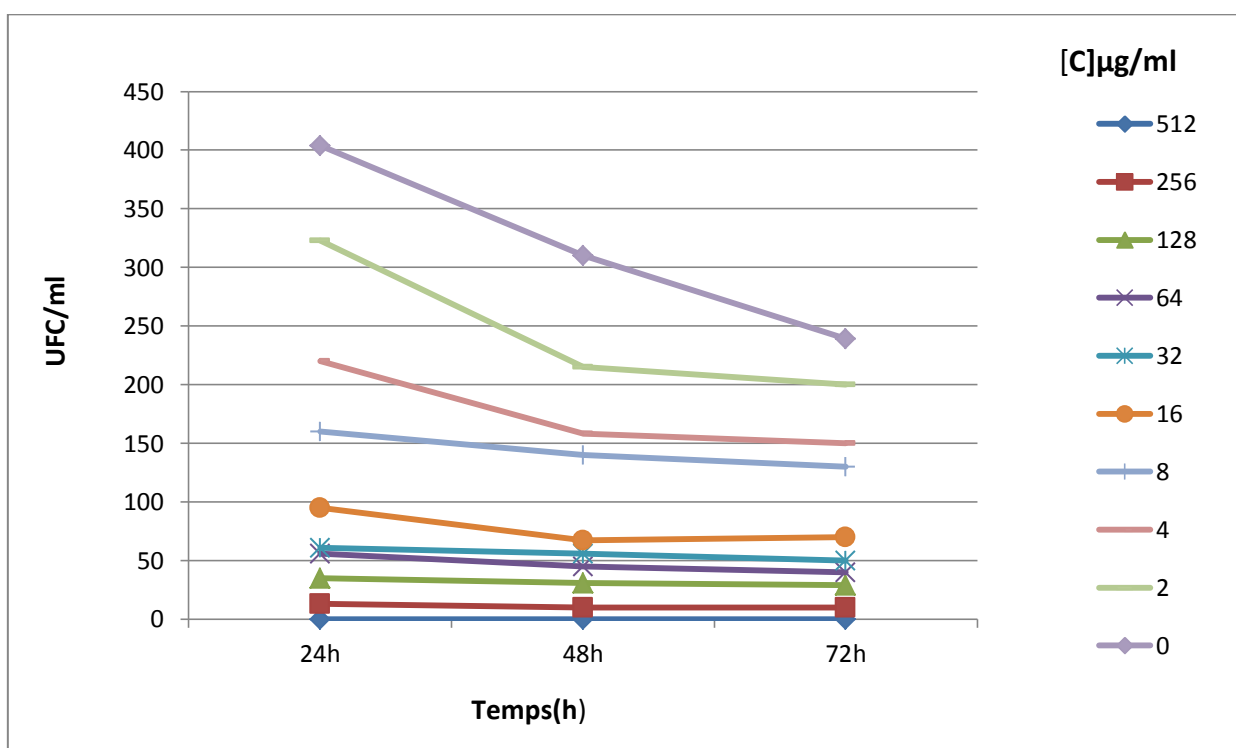


Fig 25: Unités formant colonies (UFC) de *S. aureus* en présence d'Ag₂O et en fonction du temps

Tableau 16: UFC/ml de *Pseudomonas aeruginosa* en présence d'Ag₂O et en fonction du temps.

Temps(h) \ [C]µg/ml	24h	48h	72h
512	5	3	1
256	18	15	13
128	40	41	35
64	60	50	42
32	66	61	51
16	100	72	67
8	165	145	135
4	225	164	155
2	394	221	210
0	409	315	300

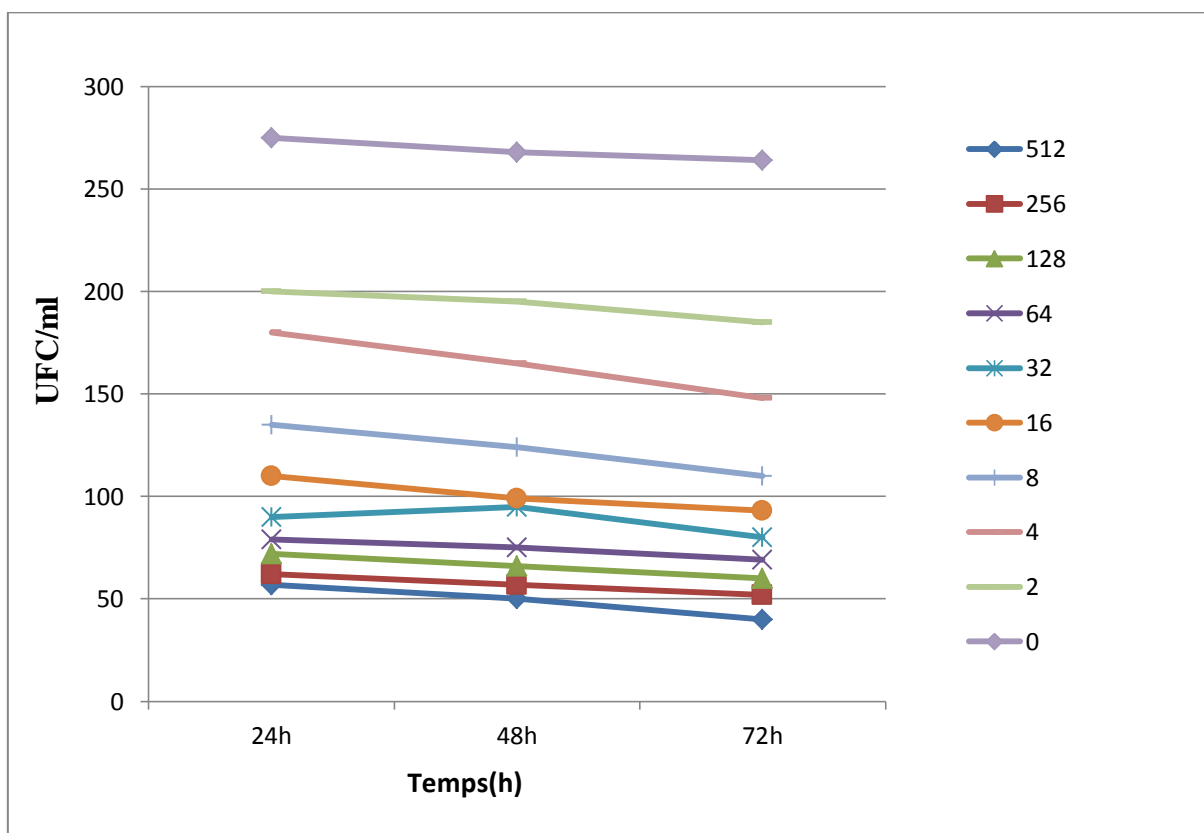


Figure 26 : Unités formant colonies (UFC) de *P.aeruginosa* en présence d'Ag₂O et en fonction du temps

Tableau. 17 : UFC/ml d' *E. coli* en présence de ZnO-Al et en fonction du temps..

Temps(h) [C]µg/ml	24h	48h	72h
512	57	50	40
256	62	57	52
128	72	66	60
64	79	75	69
32	90	95	80
16	110	99	93
8	135	124	110
4	180	165	148
2	200	195	185
0	275	268	264

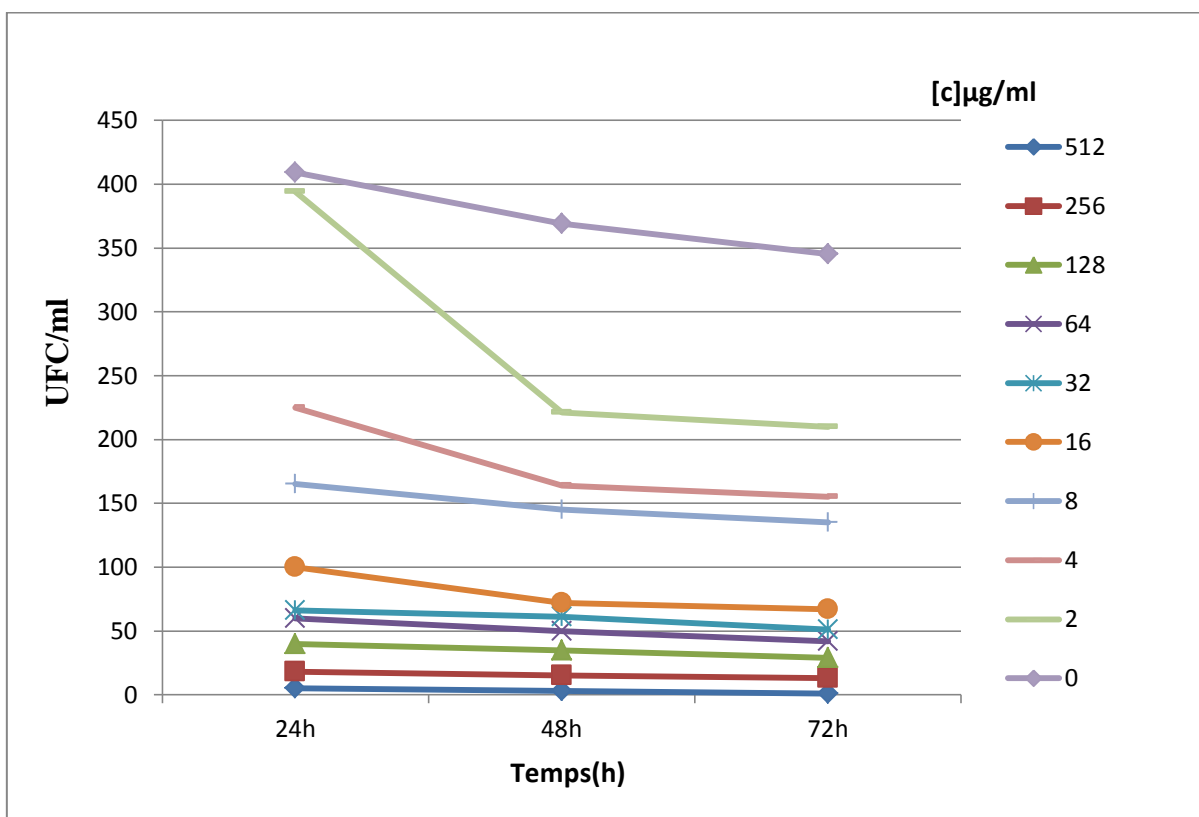


Figure 27 : Unités formant colonies (UFC) d' *E. coli* en présence de ZnO-Al et en fonction du temps

Tableau 18: UFC/ml de *S. aureus* en présence de ZnO-Al et en fonction du temps

Temps(h) [C]µg/ml	24h	48h	72h
512	136	90	83
256	180	125	99
128	240	200	185
64	280	270	250
32	320	300	295
16	390	382	375
8	450	400	395
4	462	450	441
2	480	460	452
0	600	540	500

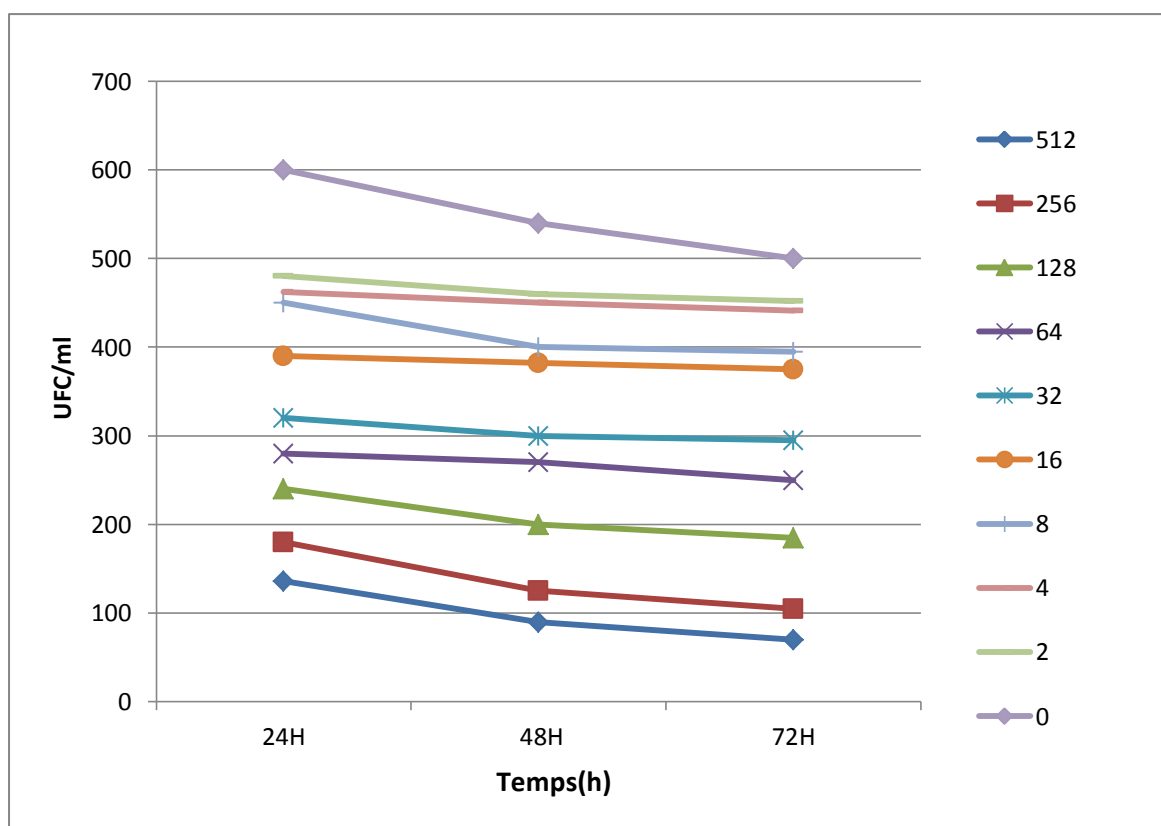


Figure 28 : Unité formant colonies (UFC) de *S. aureus* en présence de ZnO-Al et en fonction du temps

Tableau 19 : UFC/ml de *P. aeruginosa* en présence de ZnO-Al et en fonction du temps

Temps(h) \ [C] µg/ml	24h	48h	72h
512	2	1	0
256	49	25	15
128	70	68	60
64	79	72	65
32	85	79	70
16	90	86	79
8	96	92	89
4	120	122	118
2	140	135	129
0	200	189	167

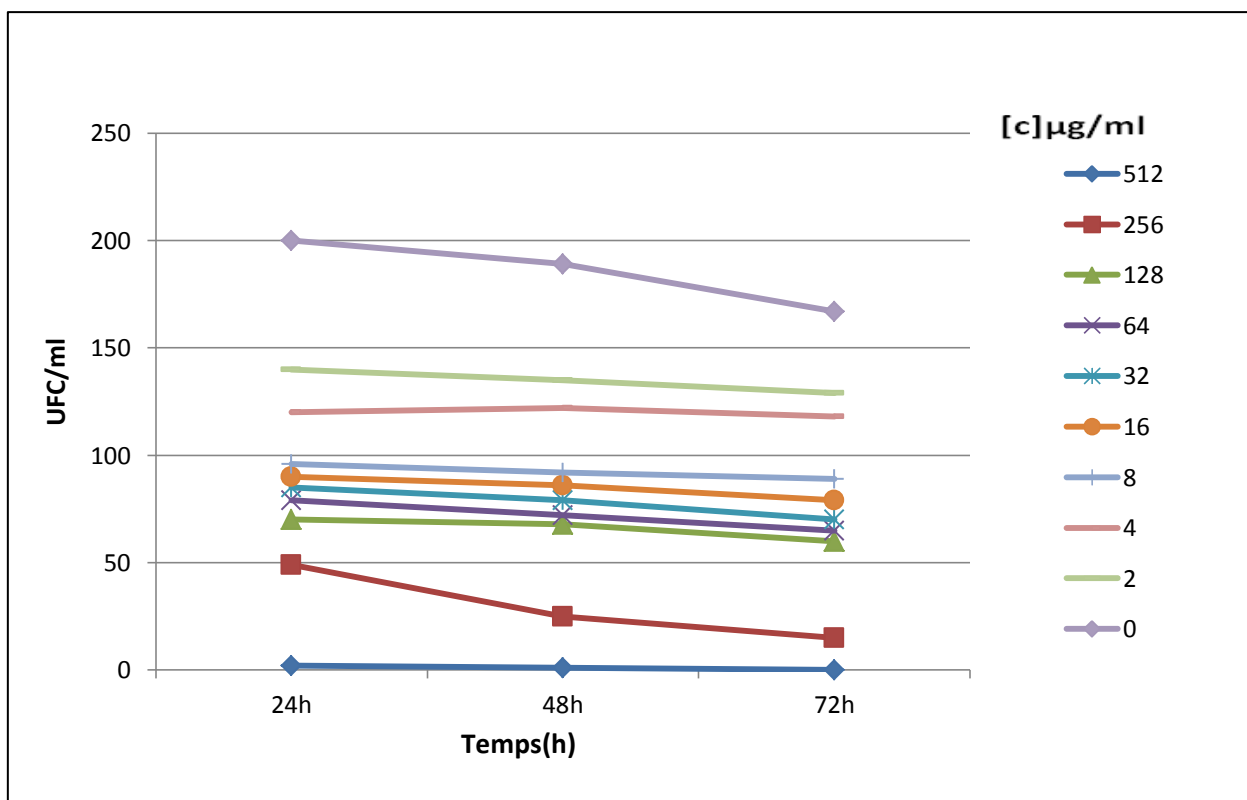


Figure 29 : Unité formant colonies (UFC) de *P. aeruginosa* en présence de ZnO-Al et en fonction du temps

Tableau .20 : UFC/ml de *E.coli* en présence de TiO₂ et en fonction du temps.

Temps(h) [C]µg/ml	24h	48h	72h
512	2050	2055	2065
256	2045	2053	2069
128	2042	2050	2062
64	2050	2055	2067
32	2046	2052	2063
16	2040	2049	2060
8	2057	2064	2075
4	2060	2070	2078
2	2062	2068	2075
0	2070	2075	2083

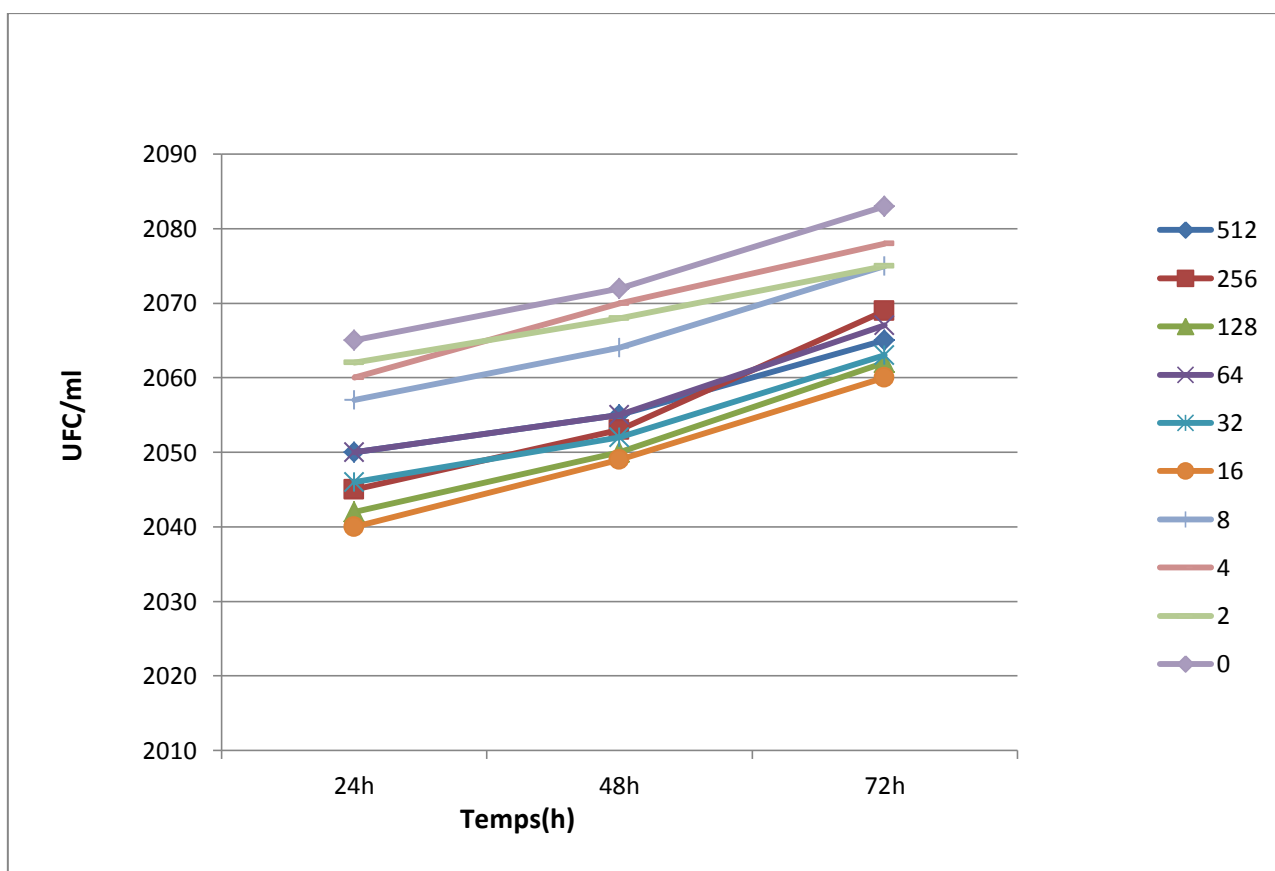


Figure 30: Unité formant colonies (UFC) de *E.coli* en présence de TiO₂ et en fonction du temps

Tableau 21 : UFC/ml de *S.aureus* en présence de TiO₂ et en fonction du temps.

Temps(h) [C]µg/ml	24h	48h	72h
512	1060	1065	1070
256	1058	1063	1067
128	1055	1060	1065
64	1045	1050	1055
32	1061	1065	1070
16	1050	1055	1060
8	1050	1055	1060
4	1060	1065	1067
2	1065	1070	1075
0	1070	1075	1081

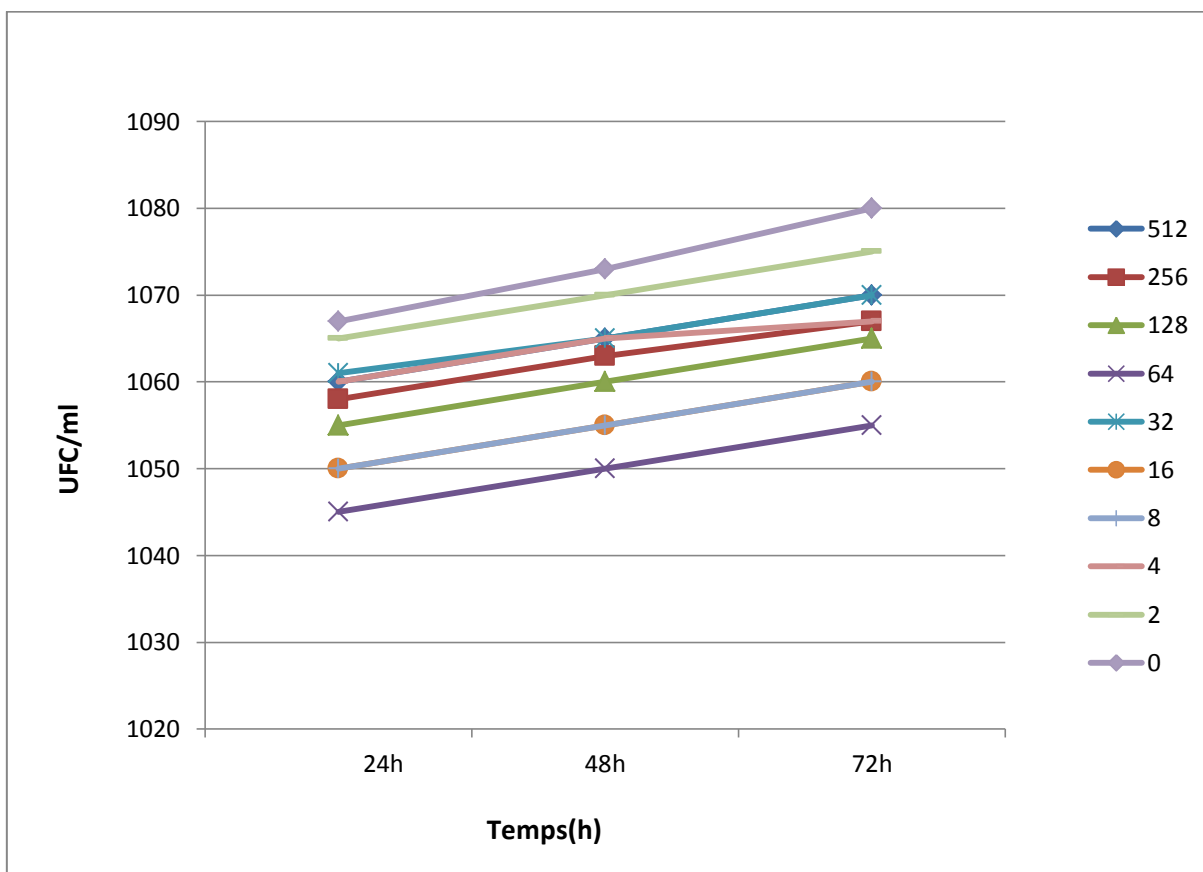


Figure 31 : Unité formant colonies (UFC) de *S.aereus* en présence de TiO₂ et en fonction du temps

Tableau 22 : UFC/ml de de *P.aeruginosa* en présence de TiO_2 et en fonction du temps

T [C]µg/ml	24h	48h	72h
512	2045	2048	2053
256	2040	2045	2050
128	2042	2050	2055
64	2044	2049	2054
32	2039	2044	2049
16	2042	2047	2052
8	2045	2050	2055
4	2050	2055	2060
2	2055	2060	2065
0	2060	2065	2070

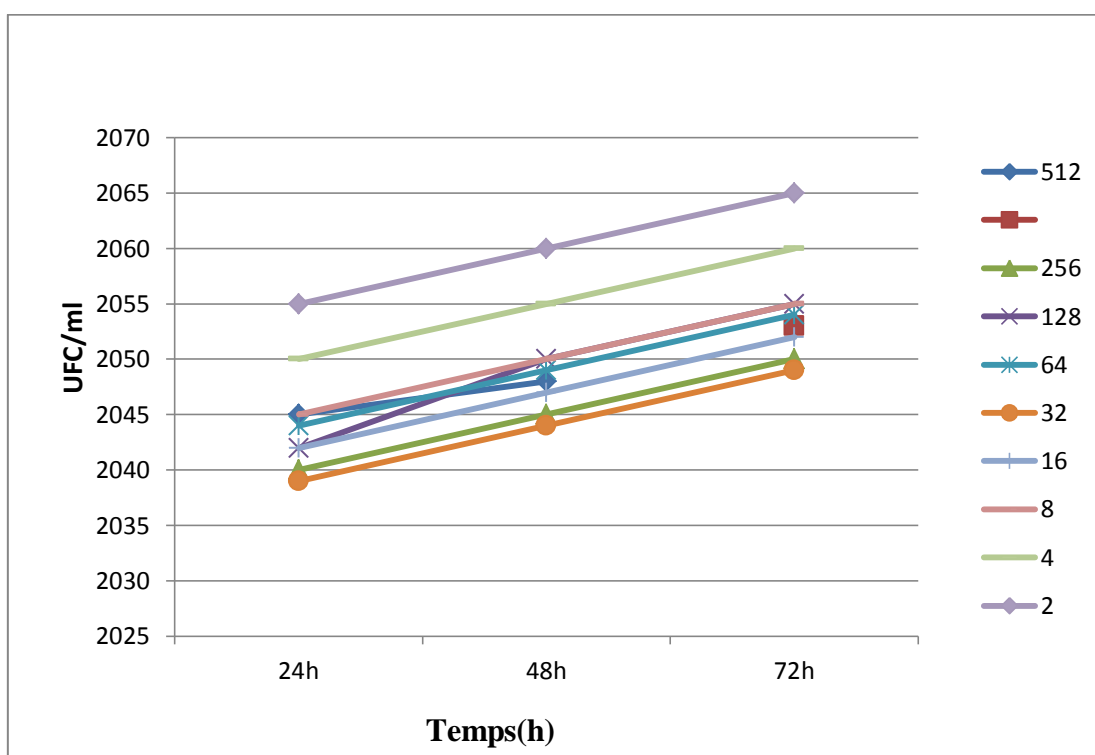


Fig 32: Unité formant colonies (UFC) de *P.aeruginosa* en présence de TiO_2 et en fonction du temps

2. Discussion :

L'activité antibactérienne de certains éléments métalliques comme l'argent, le zinc, le TiO₂, le cuivre...etc est connu depuis l'époque romaine (Mungkalasiri, 2009).

Dans cette étude, nous nous sommes fixés pour but de mettre en évidence l'activité antibactérienne des nanoparticules métalliques nouvellement synthétisé. (Bouloudenine, 2006) .

L'évaluation de l'activité antibactérienne de nanoparticules (Ag₂O, ZnO-Al et TiO₂) a été réalisée sur trois espèces bactériennes, notre choix s'est porté sur des espèces bactérienne à Gram positif (*Staphylococcus aureus*) et à Gram négatif (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*). En raison de leur très large implication dans les phénomènes de contamination et d'infection rencontrées dans le domaine médicale (Rossighol,2007).

L'évaluation de l'activité antibactériennes des nanoparticules métalliques est évaluée en utilisant la méthode de diffusion en gélose (Thati et al .,2010).

Nous avons opté, dans un premier temps, pour un test d'évaluation de l'effet synergétique des nanoparticules (Ag₂O, ZnO-Al et TiO₂) sur les propriétés antibactériennes de différents antibiotiques testés.

Nos résultats ont mis en évidence une augmentation des diamètres des zones d'inhibitions autour des disques avec AN (1 mm), L10 (22 mm),RA30 (7 mm),NA (5 mm),CTX30 (24 mm) et C30 (9 mm) sur *Escherichia .coli* avec Ag₂O, une augmentation de la zone d'inhibitions autour des disques avec PT (2 mm), AN (3 mm), TE (2 mm),P (2 mm),RA30 (3 mm),CTX30 (9 mm) et L10 (3 mm) sur *Staphylococcus aureus* avec l'AgO₂, Une augmentation des diamètres des zones d'inhibitions est observées avec PIP (2 mm), TE (5 mm), C30 (17 mm), L10 (15mm),RA30 (4 mm),AN (2 mm) et CTX30 (13 mm) sur *Pseudomonas aeruginosa* avec Ag₂O, une augmentation de la zone d'inhibitions autour des disques PT (1mm) AN (1mm) ,L10 (2mm) sur *Staphylococcus .aureus* avec ZnO-Al

Nos résultats sont en accord avec les travaux de (Thahit et al., 2010) qui a mit en évidence une augmentation des zones d'inhibition différente d'un ATB à un autre autour des disques des ATB de la famille des B-lactamines,des céphalosporines, des macrolides...etc.

D'antre travaux confortent nos résultats, ceux de (Mervuyu et al .,2011) qui ont mis en évidence une augmentation de la taille des zones d'inhibitions autour des disques (ATB-ZnO)

vis-à-vis des souches bactériennes (*E.coli* et *Bacillus subtilis* avec différents ATB (Gentamicine, Tétracycline, Vancomycine, Acide nalidixiqueetc).

L'activité antibactérienne des nanoparticules métalliques est évaluée aussi en utilisant la méthode de diffusion sur gélose (Diffusion en puits et par papier buvard) (Karvani and chehrazi,2011). Nos résultats ont mis en évidence une augmentation de la zone d'inhibitions avec l'augmentation de la concentration des Nps d' Ag_2O avec la diffusion en puits et par papier buvard, le diamètre de la zone d'inhibition varie selon la souche bactérienne (Mtimet 2011), le diamètre de la zone d'inhibition varie selon la souche bactérienne, il est de (0-22mm) pour *S.aureus*, (0-30mm) pour *P.aerogrnosa* et (0-25mm) pour *E.coli* , (0-21mm) pour *S.aureus ATCC*, (0-33mm) pour *P.aerogrnosa ATCC* et (0-26mm) pour *E.coli ATCC*. Nos résultats sont en accord avec ceux de (karvani and chehrazi, 2011) qui ont mis en évidence que l'augmentation de la zone d'inhibition en présence d'oxyde de Zinc est dose –dépendante par la diffusion en puits et par papier buvard et en fonction de la souche bactérienne (*S.aureus* et *E.coli*).

La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) est l'indicateur le plus utilisé pour évaluer la sensibilité d'une bactérie à un agent antibactérien (Mungkalasiri, 2009). Nos résultats ont mis en évidence que la CMI d' Ag_2O est de 16 $\mu g/ml$ pour les 3 souches (*E.coli*, *S.aureus ATCC* et *S.aureus*) 32 $\mu g/ml$ pour (*E.coli*, *P.aeruginosa ATCC*, *P.aeruginosa*) avec une Absence de la CMI avec le TiO_2 et le $ZnO-Al$ (Mtimet, 2011).

Nos résultats sont en accord avec ceux (Mtimet, 2011) qui a relevé des valeurs de CMI variant entre 6,75 μg d' Ag/mL et 54 μg d' Ag/mL pour des nanoparticules d'argent avec les souches (*P. aeruginosa*, *E. faecalis*).

Les CMB est de 128 $\mu g/ml$ pour *S.aureus*, de 512 $\mu g/ml$ pour *E.coli* et 256 $\mu g/ml$ pour *p.aeruginosa* toutes les souches testées ≥ 8 ce qui explique que l' Ag_2O exerce un effet bactériostatique ces résultats sont en accord avec les travaux de karvani and chehrazi , (2011).

L'effet antibactérien de l'argent sur les deux souches modèle est expliqué par la libération des ions Ag^+ , ces ions Ag^+ interagissent fortement avec les groupements thiols des enzymes vitales en les désactivant (Morones et al., 2005). L'ADN des bactéries perdait l'information de reproduction quand les bactéries (*E. coli*. et *S. aureus*) étaient exposées aux ions argent , d'autres travaux ont montré que les ions argent interagissaient avec les protéines (groupe de sulphydryl) également avec les composantes internes des bactéries comme

l'acide nucléique. La respiration de la bactérie *Escherichia coli* est désactivée en présence des ions Ag^+ entraînant la mort de la cellule bactérienne. Tous ces travaux confirment que les mécanismes d'action des ions argent sont particulièrement complexes et multiples (Mungkalasiri, 2009).

L'évaluation des effets cytotoxiques des nanoparticules métalliques peut être réalisée en utilisant différents paramètres, parmi lesquels la croissance cellulaire (unités formant des colonies) qui reflète chez les microorganismes l'état du métabolisme de la cellule (Perez et al., 2002).

Nous avons opté ce test de cytotoxicité rapide permettant de classer la toxicité de ces molécules (nanoparticules métalliques) testée par le biais de l'évolution de la courbe de dénombrement des souches bactériennes (mesure de la croissance).

Nos résultats ont mis en évidence une diminution de la croissance des souches bactériennes en présence des nanoparticules métalliques (avec Ag_2O et ZnO-Al). Un effet cytotoxique sur la viabilité cellulaire est observé sur les souches bactériennes avec (*E.coli*, *S.aureus* et *P.aeruginosa*) , cette toxicité se manifeste en premier lieu par une inhibition de la croissance cellulaire des souches (*E.coli*, *S.aureus* et *P.aeruginosa*). Ceci nous amène à confirmer l'influx des xénobiotiques à l'intérieure des cellules, malgré la présence de la membrane cellulaire qui constitue une barrière contre l'entrée massive des xénobiotiques mais qui reste perméable (Beamout and Cassier, 1998).

D'autres travaux sont accord aussi avec les travaux de (Sondi et Salopek-Sondi, 2004) qui ont mis en évidence qu'une perturbation de la membrane est à l'origine de la toxicité. En effet, il a été montré que les nanoparticules d'Argent adhèrent à la paroi, ce qui provoquerait la formation des puits et perméabiliserait la membrane, entraînant ainsi une expulsion du cytosol de la bactérie.

De même, d'après (Tsao et al., 2002), les carboxy fullerènes et des dérivés cationiques de fullerènes s'intégreraient à la paroi ce qui provoquerait une déstabilisation de la membrane et donc des fonctions cellulaires comme cela a été montré pour la chaîne respiratoire présente dans la membrane (Mashino et al., 2003).

D'autres travaux confortent nos résultats, notamment ceux (Fang et al., 2007) qui ont mis en évidence 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. Dans

le cas d'une déstabilisation, cela pourraient être dû à la formation d'espèces réactives de l'oxygène qui entraîneraient par exemple une peroxydation des lipides de la membrane (Angélique, 2008). En raison de leur réactivité de surface, les nanoparticules sont capable d'induire la production d'espèce réactive de l'oxygène (ERO) et de provoquer un stress oxydant pour la cellule (Garza *et al.*, 2008; Long *et al.*, 2006).

Portant du principe que tout type de stress chimique provoque des dommages oxydatifs, engendrant un stress oxydant et affecte considérablement la cellule et son fonctionnement. Lors d'un stress oxydant, les ERO non détoxifiés par le système antioxydant vont oxyder les macromolécules, telles les lipides, protéines, sucres et acides nucléiques, désorganisant leurs structures chimiques et altérant leurs fonctions biologiques (Igor, 2011).

D'autres travaux confortent nos résultats, notamment ceux de (karavani and Chehrazi, 2011) qui ont mis en évidence une diminution des unités formant colonies de (*S.aureus* et *E.coli*) en présence de différentes concentration de ZnO.

Aucun effet cytotoxique n'est observé avec le (TiO₂) sur les souches bactériennes testées (*S.aureus* et *P.aeruginosa*), ce ci est expliqué par le mécanisme de résistante des bactéries au dioxyde de titane, ce mécanisme est due aux plasmides et aux protéines, selon l'espèce de bactérienne, la protéine à l'origine de cette résistance est différente. Dans ce cas, le TiO₂ pénètrent dans la bactérie et sont repoussés vers l'extérieur après l'organisation des plasmides dans le cytoplasme (Mungkalasiri, 2009).

D'autres travaux confortent nos résultats, notamment ceux d'Angélique (2008) qui a mit en évidence une résistance de la bactérie *C. metallidurans* CH34 aux nanoparticules (d'oxyde de titane (TiO₂), la bactérie devient plus beaucoup résistante après pénétration de NPs d'oxyde de titane (TiO₂) et d'oxyde d'aluminium (Al₂O₃) de la paroi bactérienne.

D'autre part, l'activité antibactérienne de certaines nanoparticules est efficace uniquement lors de l'irradiation par la lumière UV, Ce ci est en accord avec les travaux de (Ireland *et al.*, 1993; Benabbou *et al.*, 2007) qui ont mis en évidence des effets bactéricides de la photoactivation par les UV des nanoparticules de TiO₂ ayant observés sur *Escherichia coli*, l'influence de la présence de la lumière visible a été vérifiée : aucune variation de croissance n'a été observée. Il est possible de conclure

que la lumière visible utilisée n'est pas assez puissante et/ou n'émette pas dans les bonnes longueurs d'onde pour avoir un effet bactéricide (Chen and Mao, 2007).

Activité antibactérienne des nanoparticules métalliques (Ag_2O , ZnO-Al , TiO_2) vis à vis de quelques bactéries pathogènes.

Conclusion

Activité antibactérienne des nanoparticules métalliques (Ag₂O, ZnO-Al, TiO₂) vis à vis de quelques bactéries pathogènes .

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bibliographie

-A-

- ✚ Ammari, H. Benslimani, H. Rahal, K. Tali, H. Kechih, S., 2011. Standardisation de l'antibiogramme a l'échelle nationale. 6ème Edition. OMS. pp 25-29.
- ✚ Angélique, S. D., 2008. Effets biologiques des nanoparticules manufacturées : influence de leur caractéristique. Thèse de Doctorat, Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (Agro Paris Tech). France. pp194.
- ✚ Arlet, G. Philippon, A., 2003. Les nouvelles β -lactamases a l'aube du troisième millénaire. Revu Fr. des Lab. 352 : pp 41-54.
- ✚ Armand, L., 2011. Effet des nanoparticules de dioxyde de titane sur les métalloprotéases. Influence des paramètres physicochimiques. Thèse de master. Université de PARIS. pp 124.

-B-

- ✚ Benabbou, A. Derriche, Z. Felix, C. Guillard, P. L. C., 2007. Photocatalytic Inactivation of *Escherichia coli*. Effect of concentration of TiO₂ and microorganism, nature, and intensity of UV radiation. *Applied catalysis B : Environmental*. 76 : pp 257–263
- ✚ Beaumont, A. Cassier, P., 1998. Travaux pratique de Biologie Animale, Zoologie, Embryologie et Histologie. 2^{ème} cycle. *Capes. Agrégation. Ed. Dunod*. pp123-143
- ✚ Benariba, M. Lamine., 2008. Élaboration de nanostructures. Mémoire de magister. Université de Mentouri de Constantine. pp 104.

- ✚ Bouloudenine, M., 2006. Elaboration et caractérisation de semi-conducteurs magnétiques dilués de type $Zn_{1-x}Co_xO$ par voies chimiques. Thèse de Doctorat en Physique des Semi-conducteurs Thèse de Doctorat en Physique des Semi-conducteurs. Université. Badji Mokhtar de Annaba, pp 186.

-C-

- ✚ -Chen, X. Mao, S. S., (2007). Titanium dioxide nonmaterial's: Synthesis, properties, modifications, and applications. Chemical Reviews ; 107(7): pp 2891–2959.
- ✚ Claire, S., 2009. Evaluation des propriétés anti-adhésives et biocides de films nanocomposites avec inclusions d'argent, déposés sur acier inoxydable par procédé plasma. Thèse de master. Université de Toulouse. pp153.
- ✚ Coleman, V.R., 1993. Inactivation of herpes virus Hominis Type 1 and 2 by silver nitrate in vitro and in vivo. antimicrobial agents chemotherapy ; 259(4) pp 214-220.

-D-

- ✚ Djeghboub, w., 2010. Nanoparticules d'or et d'argent déposées sur oxyde de cérium Synthétisées sous irradiation. these de magister en physique. Université Mentouri Constantine. p 125.

-E-

- ✚ EL Haddad, L., 2010. Caractérisation des phages de Staphylococcus a Ureus. thèse de master. Université Laval. pp 1-9.
- ✚ Emilie, B., 2011. Ecotoxicité des nanoparticules et des sous produit d'altération de dioxyde de Titane sur le ver de terre, Eisenia Fetida. Thèse de doctorat. Université De Paul Verlaino-Matz. pp 210.

- ✚ Eriche, P., 2011. test methods for antimicrobial activity using titanium dioxide nanoparticles. *nanocon*. pp39-45.

-F-

- ✚ Feng, QL. Wu, J.Chen, GQ.FZ, C. Kim, T.Kim, J., 2000 A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *J Biomed Mater Res*; 52(4): pp 662-8.

- ✚ Foucaud, L.Wilson, M. R. Brown, D. M. Stone, V., 2007.Measurement of reactive species production by nanoparticles prepared in biologically relevant media. *Toxicol Lett*. 174 (1-3); pp 1–9.

-G-

- ✚ Gail, M.Teitzel. Matthew, R.Parsek. 2003. Heavy Metal Resistance of Biofilm and Planktonic. *Applied and Environmental Microbiology*; 69: pp 2313-2320.

- ✚ Garza, K. M. Soto, K. F. Murr, L. E., 2008. Cytotoxicity and reactive oxygen species generation from aggregated carbon and carbonaceous nanoparticulate materials. *Int J Nanomedicine* 3(1); pp 83–94.

- ✚ Greena, J .Sarah, Ndegwaa., 2011.Les nanotechnologies. NCCFEH. pp 2-4.

-I-

- ✚ Igor, Pujaltè., 2011. Étude *in vitro* de la toxicité de nanoparticules métalliques (TiO₂, ZnO, CdS) sur la cible rénale.Thèse Doctorat, UniversitéBordeaux Segalen. pp : 58-96.

- ✚ Ireland, J. C. Klostermann, P. Rice, E. W. Clark, R. M., 1993. Inactivation of *Escherichia coli* by titanium dioxide photocatalytic oxidation. *Appl Environ Microbiol*; 59(5) :pp 1668–1670.

-J-

- ✚ Jitti, M., 2009. Elaboration par Dli-Mocvd de dépôts nanocomposites TiO₂-M (M = Ag, Cu) et propriétés antibactérienne de ces surfaces solides.thèse de doctorat. Université de Toulouse. pp 168.

-K-

- ✚ Karvani. Pegah Chehrazi.,2011. Antibacterial activity of zno nanoparticle on gram+ positive and gram – négative bacteria .Thèse Doctorat, Université Islamique Azad. pp102.

-L-

- ✚ Lansdown,A .,2005. Silver absorption and antibacterial efficacy of silver dressings.J Wound Carep; 14(4): pp155-60.
- ✚ Long, T. C. Saleh, N. Tilton, R. D. Lowry, G. V. Veronesi, B., 2006 .Titanium dioxide (P25) produces reactive oxygen species in immortalized brain microglia (BV2) : implications for nanoparticle neurotoxicity. *Environ Sci Technol*;40(14);pp 4346–4352.

-M-

- ✚ Mashino, T. Okuda, K. Hirota, T. Hirobe, M. Nagano, T. Mochizuki, M., 1999. Inhibition of E. coli growth by fullerene derivatives and inhibition mechanism. *Bioorg Med Chem Lett*; 9(20); pp 2959–2962.
- ✚ Manfredini, M. Menotti, C.Berrettini, F.Salvadori, L. Zappa,A . ,2003. le grès cérame antibactérien.pp7-15.

- ✚ Mengheri, E. Marianna R. Alberto, F. Ivana ,G. Maria S.B. ,2009 .Zinc Oxide Protects Cultured Enterocytes from the Damage Induced by *Escherichia coli*.Thèse de Doctorat,Institut nationale de recherche, Roma. pp72.
- ✚ Moin, P.Wolffe, M., 2000.Infections severes à bactéries à Gram négatif-Mon-ou Betherapie .paris ; 621-pp 622.622.
- ✚ Morones , J.R. Elechiguerra ,J.L. Camacho ,A. Kouri, J.B. Holt K. Yacaman ,M.J. Ramirez ,J.T. ,2005.The Bactericidal Effect of Silver Nanoparticles. *Nanotechnology* ; 16(10):2346-2353.
- ✚ Mtimet, M.I., 2011. Elaboration de surfaces biocides contenant des nanoparticules d'argent. Thèse de doctorat. Université d'INSA de Rouen. pp 135.

-P-

- ✚ Pardis, S., 2011.Synthèse de nanoparticules d'oxydes de titane par pyrolyse laser: étude des propriétés optiques de la structure electrique .Université Paris SUD XI. pp 209.
- ✚ Pérez, R.M. Herrero, L.C. Torres, E., 2002. Class III Mellatothioneins in Reponse of Cadmium Toxicity in Microalga *Tetraselmis suecica* (kylin) Butch. *Environmental Toxicology et Chemistry, Marine*; 20(9); pp 2061-2066.

-R-

- ✚ Ravishankar, R. Jamuna, B., 2011.Nanoparticles and their potential application as antimicrobials; 57:pp124-145.

- Rossighol,B.,2007. Insulinorésistance et stress oxydant dans le syndrome métabolique : Etude expérimentale des effets protecteurs de microconstituants nutritionnels (polyphénols du thé, de la cannelle et chrome III).Thèse Doctorat, Université Joseph Fourier – Grenoble 1. pp 150.
- Rossignol,G.,2007. Contribution à l'étude de facteurs de virulence d'une souche hospitalière de *Pseudomonas fluorescens* : Activité hémolytique et variation phénotypique.Thèse de doctorat. Université de Rouen.PP 119.

-S-

- Singh,G. Joyce,M. Beddow,J .Mason,J.,2012. Evaluation of antibacterial activity of ZnO nanoparticles, Coated Sonochemically onto textile fabrics. JMBFS.P ;109(106-120); pp111.
- Sondi, I. Sondi,S. B. , 2004. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria. *J Colloid Interface Sc*; 275(1); pp 177–182.

-T-

- Thati.V .Aashis, S.Roy,I.M.V,N.Ambika Prasad1.,C. T. ShivannavaretS.M.Gaddad., (2009) . Nanostructured zinc oxideenhances the activity of antibiotics against *Staphylococcus Aureus* .Thèse Doctorat, Université de Gulbarga-Karnataka. Inde.pp55-63.
- Tsao, N. Luh, T.Y. Chou, C.K. Chang, T.Y. Wu, J.J. Liu, C.C. Lei, H.Y.,2002 . In vitro action of carboxyfullerene. *J AntimicrobChemother*;49(4) ;pp 641–649.
- Tuyet Le,N. Hirofumi, N.Mutsuhito , A . Takahashi,A. Toshihiro ,O . Shimohata, K. Yhosuke ,K., 2011. Additional Effects of Silver Nanoparticles on Bactericidal

Efficiency Depend on Calcination Temperature and Dip-Coating Speed. Appl Environ Microbiol ;77(16): PP 5629–5634.

-V-

✚ Van Ging,N.,2011.Nanoparticules hybrides oxydes métalliques/polymères : synthèse et caractérisation. Thèse de magister. Université du SUD toulon-VAR.. pp 273.

webographie

[1] www.suva.ch/nanoparticules. Le 12/04/2013 à 14:00.

[2] www.article-12414672.html. Le 14 /04/2013 à 11 :30.

[3] WWW.Microbes-edu.org/étudiant/étudiants/html. Le 08/03/2013 à 17:00.

—

**Activité antibactérienne des
nanoparticules métalliques
(Ag₂O, ZnO-Al, TiO₂) vis à vis
de quelques bactéries
pathogènes**

ANNEXE

Tableau 23 : Diamètres des zones d'inhibition de ZnO-Al vis- a-vis *Escherichia coli* et *Escherichia coli*(ATCC)

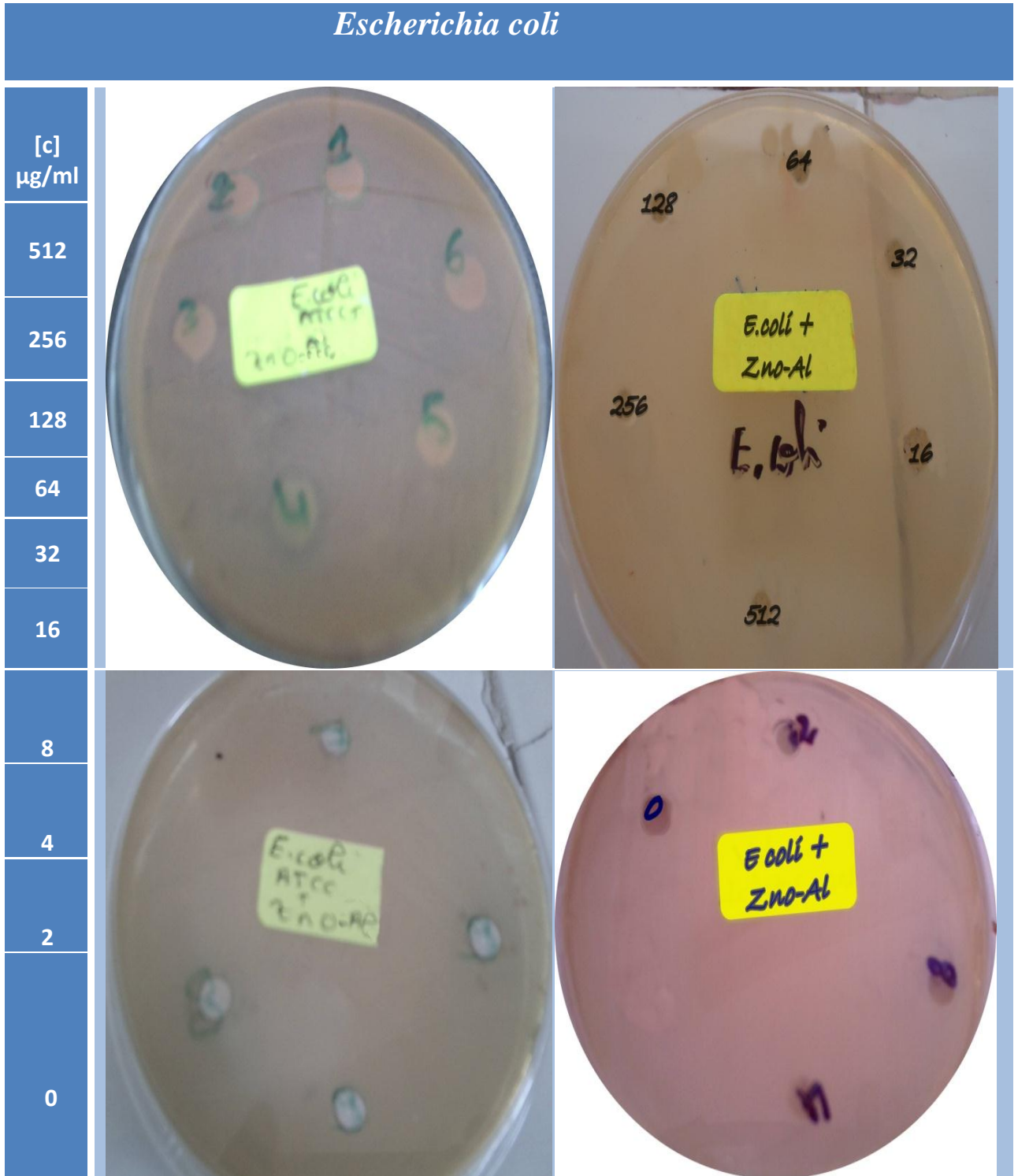


Tableau 24: Diamètres des Zones d'inhibition de ZnO-Al vis-à-vis *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus aureus*(ATCC)

		<i>Staphylococcus aureus</i>	
Souche	[c] µg/ml	512	256
	128		
	64		
	32		
	16		
	8		
	4		
	2		
	0		

Tableau 25: Diamètres des Zones d'inhibition de ZnO-Al vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa* et *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC)

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
[c] µg/ml	
512	
256	
128	
64	
32	
16	
8	
4	
2	
0	

Tableau 26: Diamètres des Zones d'inhibition de TiO_2 vis-à-vis *Escherichia coli* et *Escherichia coli* (ATCC)





		<i>Escherichia coli</i>	
Souche			
[c] $\mu\text{g/ml}$			
512			
256			
128			
64			
32			
16			
8			
4			
2			
0			

Tableau 27: Diamètres des zones d'inhibition de TiO₂ vis-à-vis *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus aureus* (ATCC)


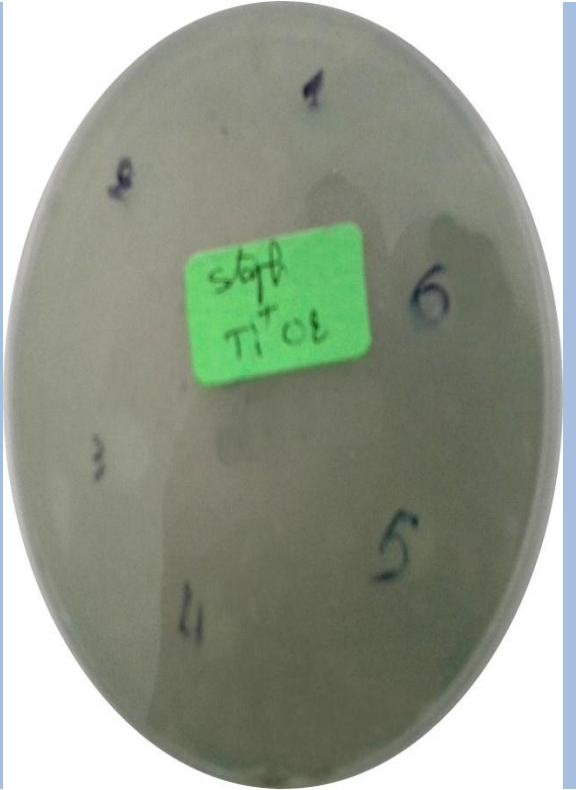
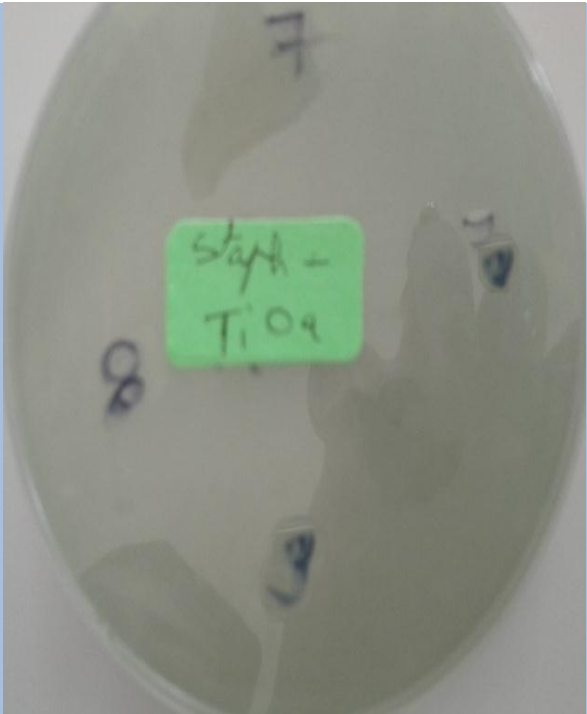
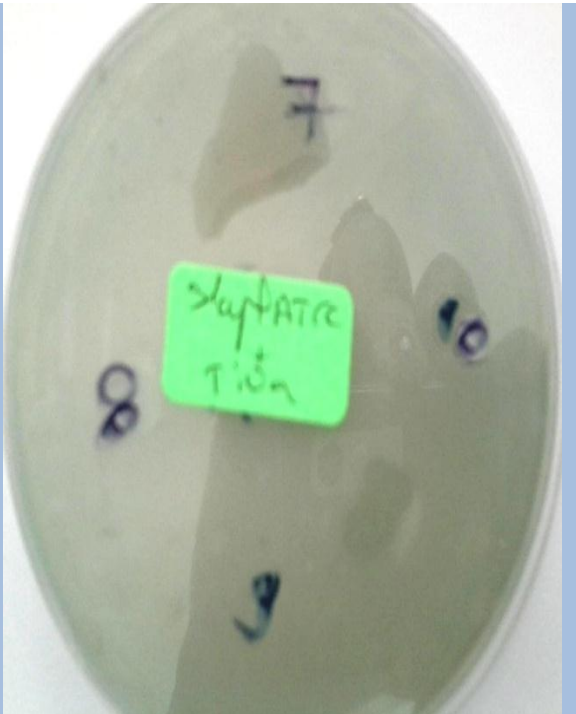
<i>Staphylococcus aureus</i>	
Souche	
[c] µg/ml	
512	
256	
128	
64	
32	
16	
8	
4	
2	
0	

Tableau 28 : Diamètres des Zones d'inhibition de TiO_2 vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa* et *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC)

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
[c] µg/ml	
512	
256	
128	
64	
32	
16	
8	
4	
2	
0	

Tableau 29: Diamètres des zones d'inhibition de ZnO-Al vis-à-vis *Escherichia coli* et *Escherichia coli* (ATCC)





<i>Escherichia coli</i>		
Souches	S1	S4
[c] µg/ml		
512		
256		
128		
64		
32		
16		
8		
4		
2		
0		

Tableau 30 : Diamètres des zones d'inhibition de ZnO-Al vis-à-vis *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus aureus* (ATCC)



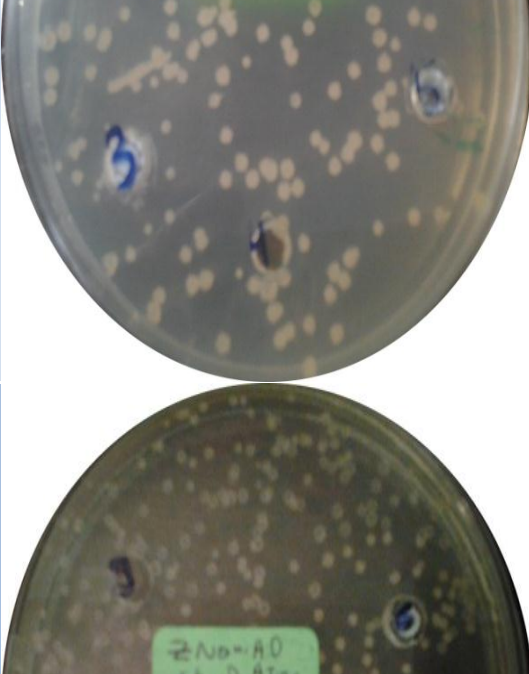



<i>Staphylococcus aureus</i>		
Souches	S2	S5
[c] µg/ml		
512		
256		
128		
64		
32		
16		
8		
4		
2		
0		

Tableau 31: Diamètres des zones d'inhibition de TiO_2 vis-à-vis *Escherichia coli* et *Escherichia coli* (ATCC).


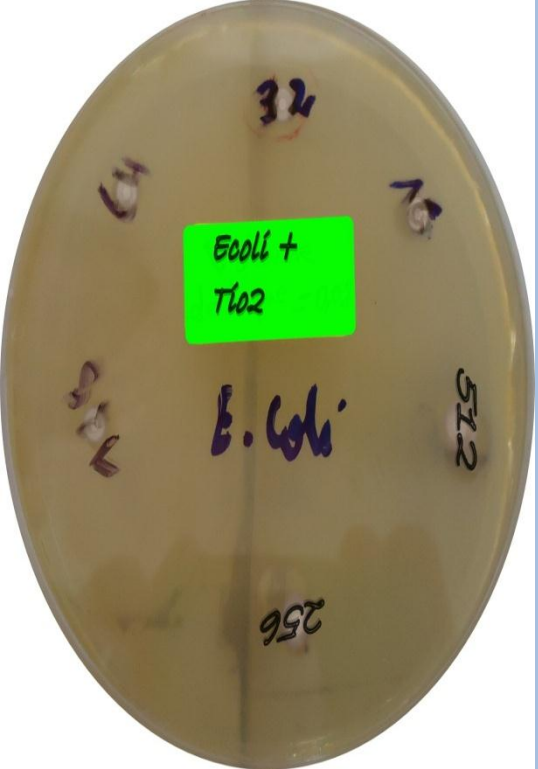





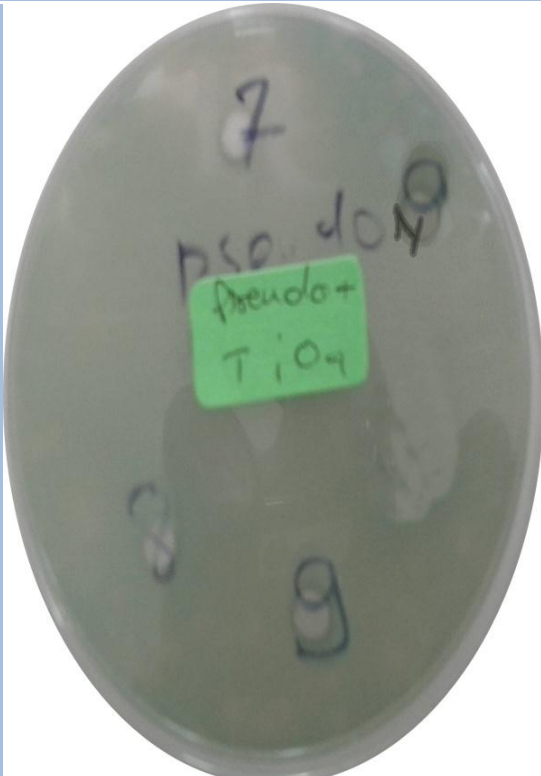
<i>Escherichia coli</i>	
[c] µg/ml	
512	
256	
128	
64	
32	
16	
8	
4	
2	
0	

Tableau 32: Diamètres des zones d'inhibition de TiO₂ vis-à-vis *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus aureus* (ATCC).

<i>Staphylococcus aureus</i>	
[c] µg/ml	
512	
256	
128	
64	
32	
16	
8	
4	
2	
0	

Tableau 33: Diamètres des zones d'inhibition de TiO₂ vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa* et *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC)

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
[c] µg/ml	
512	
256	
128	
64	
32	
16	
8	
4	
2	
0	

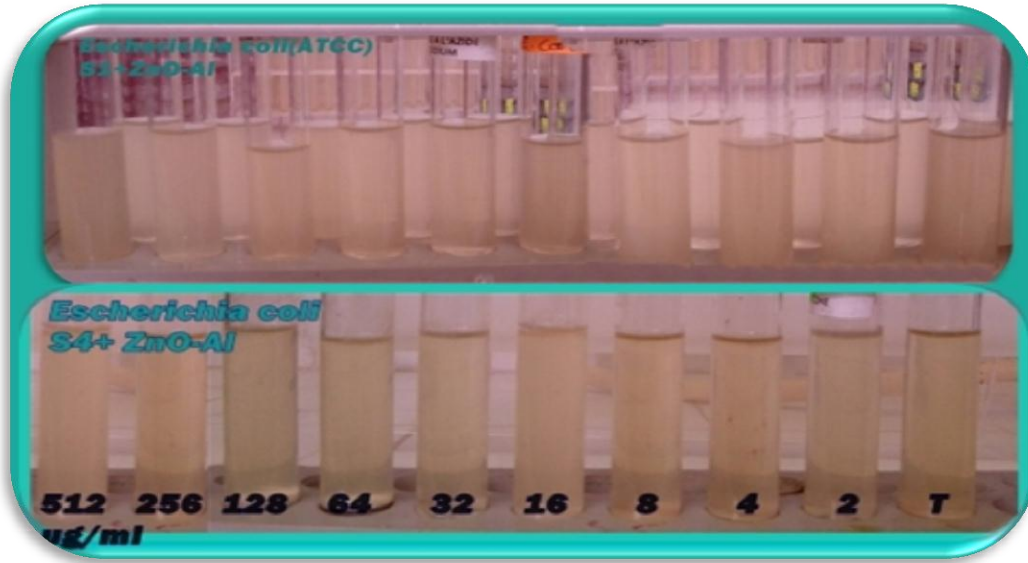


Fig 33 :CMI liquide de *E.coli* avec ZnO-Al.

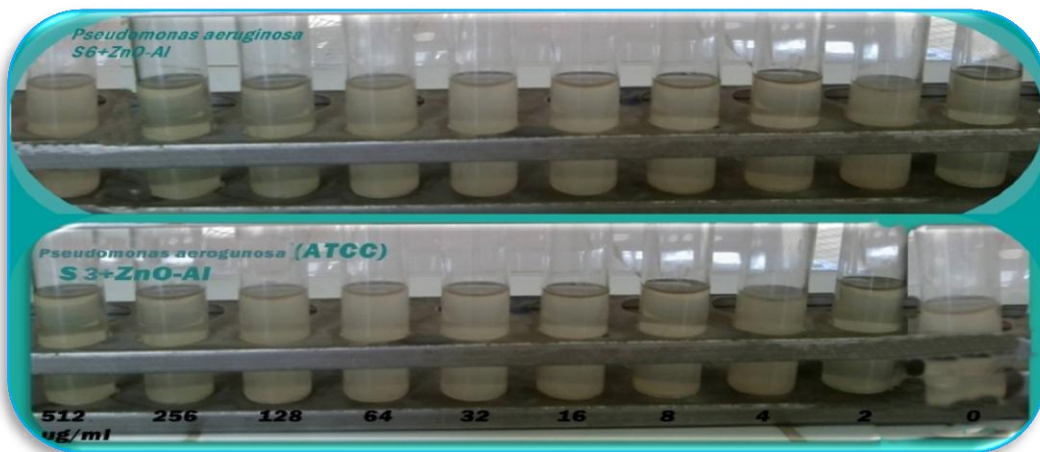


Figure 34:CMI liquide de *P.aeruginosa* avec ZnO-Al.

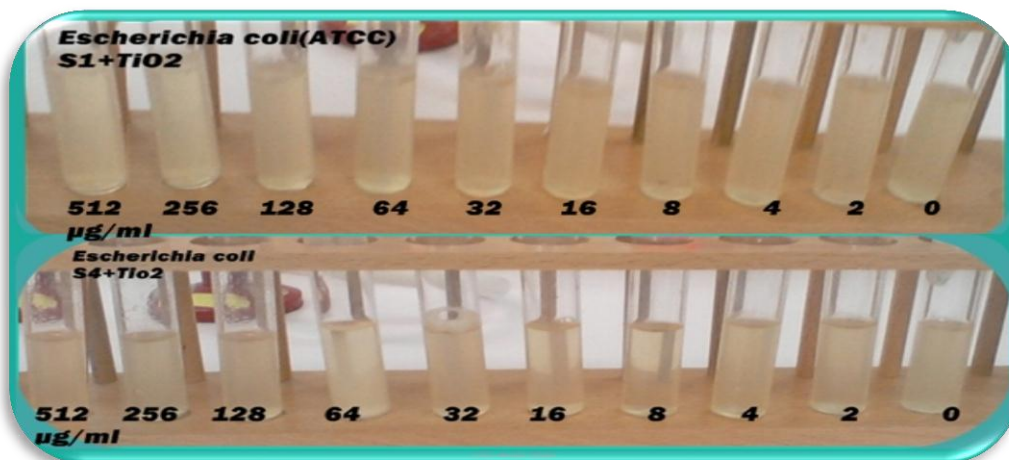


Figure 35 :CMI liquide de *E.coli* avec TiO₂.

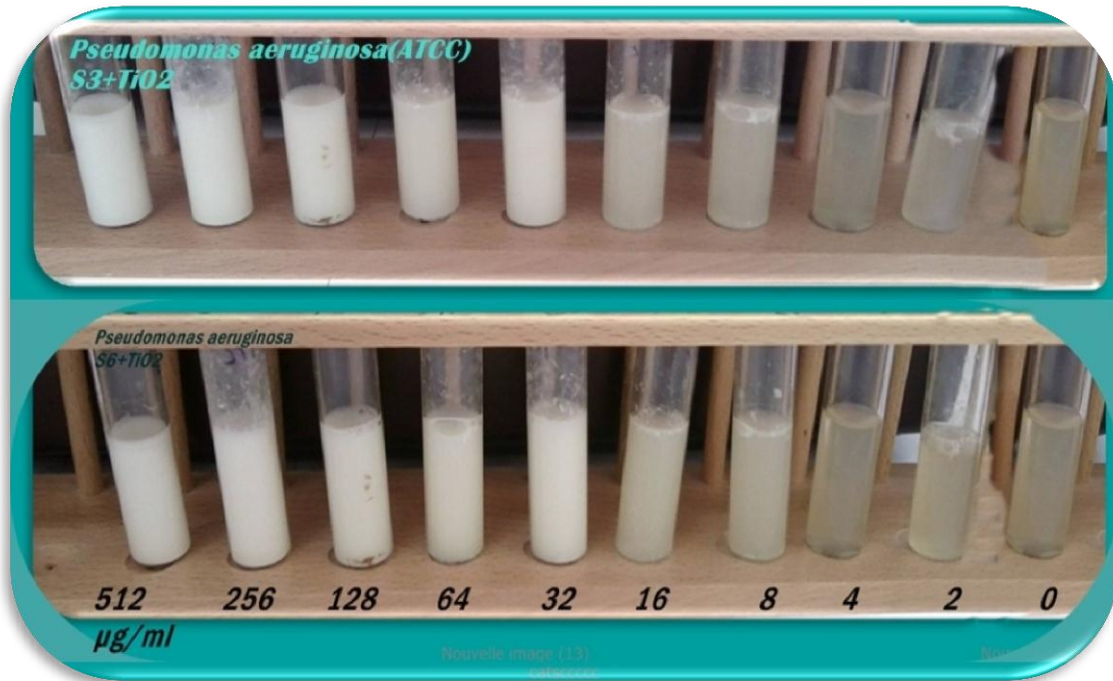


Figure 36 :CMI liquide de *P.aeruginosa* avec TiO₂.

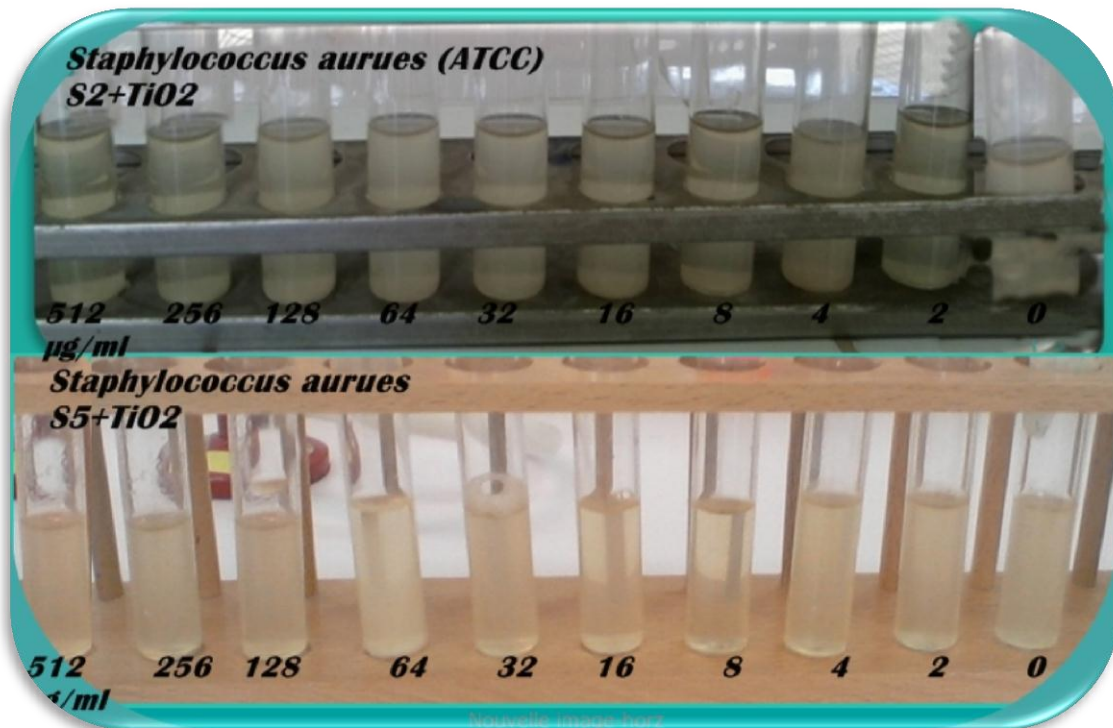


Figure 37 :CMI liquide de *S.aureus* avec TiO₂.



Figure 38: Détermination de CMB de *Escherichia coli* vis-à-vis d'Ag₂O

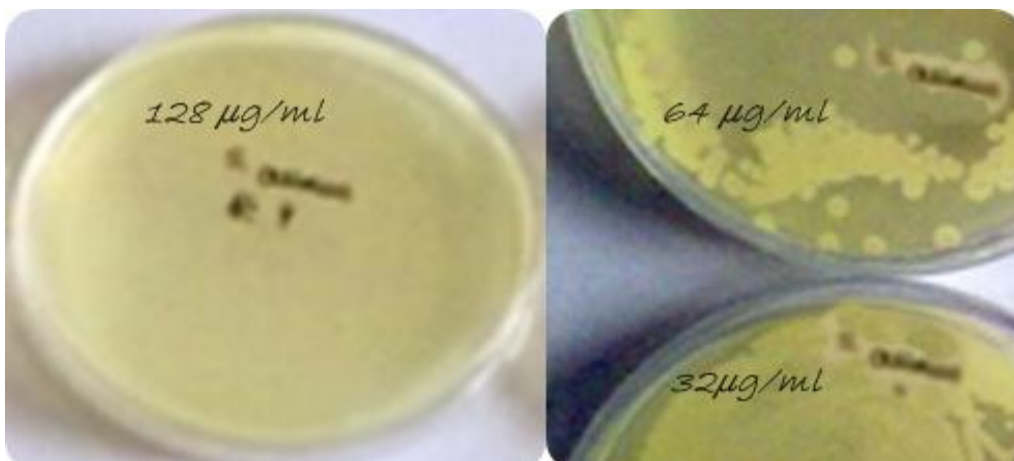


Figure 39 : Détermination de CMB de *Staphylococcus aureus* vis-à-vis d'Ag₂O.

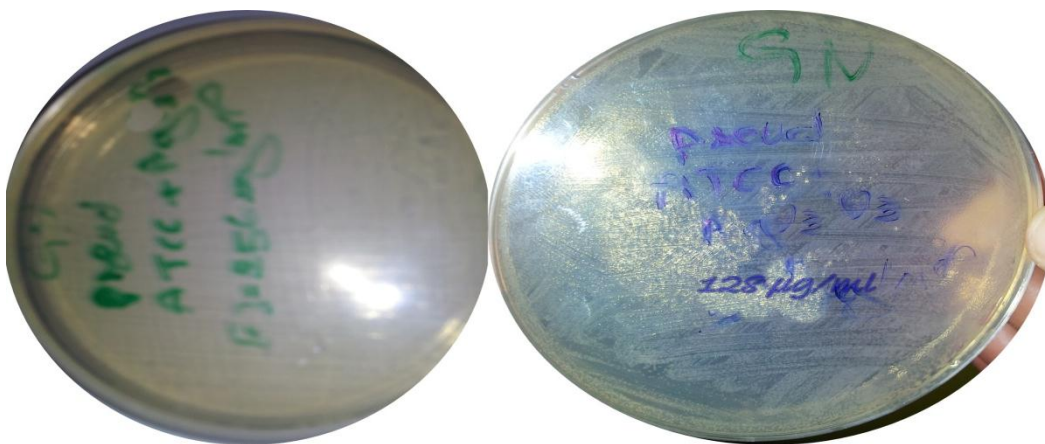


Figure 40: Détermination de CMB de *Pseudomonas aeruginosa* vis-à-vis d'Ag₂O