

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE
L'UNIVERS
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité/Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Thème : Activité antibactérienne de nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO)

Présenté par :

Bouacida Chaima

Bouguerra Roumaissa

Brouk Sarra

Haloui Hadjer

Devant le jury composé de :

Présidente : Djemaa F.

M.C.A

Université de Guelma

Examinatrice : Bedoui S.

M.C.A

Université de Guelma

Encadreur : Boussadia M.I.

M.C.A

Université de Guelma

juin 2022

Dédicace

*Je dédie ce travail à : Ma très chère maman **Rachedi Houria**,
pour son affection, son amour et son soutien moral tout au long
de mon parcours.*

A ma chère sœur Assia, pour son immense soutien.

*À la mémoire de mon second papa Mohammed et à ma seconde
maman Djamila.*

*A mon fiancé, pour ses encouragements, son soutien infailible et
sa présence permanente.*

*A ma famille mon feu oncle Hassen et mon oncle Salem et mes
tantes Fatima et Souheila.*

A mes amies proches, je dédie cet humble travail.

Bouacida Chaima

Dédicace

A ma chère Mère

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables, sacrifice. Puisse ALLAH, le tout puissant, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

A la mémoire de mon père

Ce travail est dédié à mon père, décédé trop tôt, qui m'a toujours poussée et motivée dans mes études.

J'espère que, du monde qui est sien maintenant, il apprécie cet humble geste comme preuve de reconnaissance de la part d'une fille qui a toujours prié pour le salut de son âme.

Puisse ALLAH, le tout puissant, l'avoir en sa sainte miséricorde.

A tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin, et qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

Brouk sarra



Dédicace



Je dédie ce modeste travail

A Mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de ma vie, aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération, et mon amour pour les sacrifices qu'ils ont consentis pour mon instruction et mon bien-être.

A ma chère grand-mère mon ange gardienne qui a été omniprésente avec moi tout au long de mon existence et a tous les membres de ma famille.

A mes petites sœurs Malak et Amani, mes frères Abdou et Kader

Mon frère mon ami Aymen Pour son encouragement permanent, et son soutien moral.

A mes amies Rania, Djihene, Hadia, Roumaissa, Chahrazed, Nor et toutes les amies qui m'ont soutenu dans mon parcours universitaires

A mes collègues dans ce travail Chaima, Sarra, Hadjer

A vous tous qui avez et qui auront une place importante dans mon cœur et ma vie.

Roumaissa

Dédicace

A mes très chers parents, qui ont toujours été là pour moi, Vous avez tout sacrifié pour vos enfants n'épargnant ni santé ni efforts. Vous m'avez donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance.

À mon très cher frère Toufik l'épaule solide, l'œil attentif compréhensif et la personne la plus digne de mon estime et de mon respect.

Aucune dédicaces ne serait exprimer mes sentiments, que dieu te préserve et te procure santé et longue vie. .

A mes sœurs et frères qui ont toujours été là pour moi.

A tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin, et qui ont contribués à la réalisation de ce travail.

Haloui Hadjer

Remerciements

Avant tout, je remercie ALLAH, le Tout Puissant et le Miséricordieux, de nous avoir donné la santé, la volonté et la patience, pour surmonter toutes les difficultés de ce mémoire.

Nous remercions Mr le président de l'université 8 mai 1945 et le chef de département de Biologie

Nous tenons par la suite à remercier Dr. Boussadia Meriem Imen en sa qualité d'encadreuse, pour toute l'orientation, l'aide, le soutien, ces

Conseils, contrôles, suivis, sa patience extrême et ses encouragements qu'elle nous a apporté lors de la réalisation de ce mémoire.

Nous remercions par ailleurs vivement Dr. Djemaa et Dr. Bdeoui de nous avoir fait l'honneur de juger notre travail et d'assister à la soutenance.

À tous nos enseignants depuis la première année, qui nous ont donné les bagages scientifiques nécessaires pour faire ce mémoire.

Finalement, nous remercions toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la concrétisation de ce mémoire.

TABLE DES MATIERES

DÉDICACE

REMERCIEMENTS

TABLE DES MATIERES

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

INTRODUCTION GENERALE 01

Partie A: Revue bibliographique

I. Problématique de la résistance bactérienne.....	03
1. Antibiotiques et usage intensif	03
2. Définition de la résistance aux antimicrobiennes.....	03
3. Types de résistance.....	04
3.1. Résistance naturelle ou intrinsèque.....	04
3.2. Résistance acquise.....	04
3.3. La résistance croisée	04
3.4. La Co-résistance.....	05
4. Facteurs contribuant à l'émergence de la résistance bactérienne.....	06
5. Les bactéries multi-résistance (BMR).....	07
5.1. Les types BMR.....	07
5.1.1. Hospitalières.....	07
5.1.2. Communautaires.....	08

6. Conséquences de la multi-résistance aux antibiotiques	08
6.1. Conséquences individuelles	08
6.2. Conséquences collectives	09
II. Nouveaux agents antibactériens	09
1. Définition des nanomatériaux	09
2. Les nanoparticules	10
3. Sources des nanoparticules	10
3.1. Nanoparticules naturelles	10
3.2. Nanoparticules produites par l'homme de façon non intentionnelle	10
3.3. Nanoparticules produites par l'homme de façon intentionnelle	11
4. Méthodes de synthèse des nanoparticules	11
4.1. Méthodes physiques	11
4.2. Méthodes chimiques	11
5. Propriétés des nanoparticules	11
6. Domaines d'applications des nanoparticules	12
7. Mécanismes d'action des Nps	13
7.1. Contact avec la paroi	13
7.2. Génération des espèces oxydantes réactives	14
7.3. Inactivation des protéines de destruction de l'ADN	14
8. Les facteurs influençant l'activité antibactérienne	15
9. Toxicité des nanoparticules	15
9.1. Voies de pénétration dans l'organisme	15
9.2. Principaux facteurs responsables des effets toxicologiques	16
10. Les nanoparticules inorganiques	17

10.1. Les métaux	17
10.2. Les oxydes métalliques	17
III. Nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO).....	18
1. Méthodes de synthèses des nanoparticules d'oxyde de zinc	18
1.1. Méthodes physiques	18
1.2. Méthodes chimiques.....	18
2. Les applications de l'oxyde de zinc	19
3. Mécanismes d'action antibactérienne de ZnO NPs	19
3.1. Générations des espèces oxydantes réactives	20
3.2. Interaction entre les bactéries et les oxydes métalliques.....	21
3.3. Libération des ions Zn^{2+} (ZnO)	21
4. Sensibilité des bactéries à Gram-positif versus Gram négatif	22

Partie B: Expérimentation

I. Matériel	24
I.1. Matériel biologique	24
I.1.1. Souches bactériennes	24
I.2. Matériel chimique	25
II. Méthodes	26
II.1. Synthèse de nanoparticules de ZnO par la méthode de Co-précipitation	26
II.3. Préparation des souches bactériennes	28
II.4. Activité antibactérienne.....	28
II.4.1. Antibiogramme	28
II.4.2. Activité antibactérienne des nanoparticules d'oxyde de zinc	29

Résultats & discussions

Résultats de l'antibiogramme	33
I.1 Activité antibactérienne de l'amoxicilline.....	36
I.2 Activité antibactérienne de la pénicilline G	37
I.3 Activité antibactérienne du chloramphénicole	38
I.4 Activité antibactérienne de la vancomycine	38
II. Résultats de l'activité antibactérienne des nanoparticules	39
Discussions	43
Conclusion et perspectives.....	47
Références bibliographiques	49
Résumé	
Abstract	
ملخص	

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure 1	Sélection de souches résistantes aux antimicrobiens	06
Figure 2	Gamme de tailles des nanoparticules comparée à celle des principales structures.	11
Figure 3	Mécanismes d'action des nanoparticules (NP) contre les bactéries	16
Figure 4	Effets potentiels des Nps inhalés	18
Figure 5	Les différents mécanismes responsables de l'activité antibactérienne des nanoparticules de ZnO	22
Figure 6	Paroi bactérienne des bactéries à Gram-négatif et des bactéries à Gram-position	24
Figure 7	Technique de synthèse des nanoparticules de ZnO	30
Figure 8	Suspension de nanoparticules de ZnO	30
Figure 9	La poudre de nanoparticules synthétisée	31
Figure 10	Sonicateur de type Bandelin sonorex (Germany)	34
Figure 11	Activité antibactérienne des nanoparticules (méthode des puits).	35
Figure 12	Pouvoir antibactérien de l'amoxicilline	44
Figure 13	Pouvoir antibactérien de la pénicilline G	45
Figure 14	Pouvoir antibactérien du chloramphénicol	46
Figure 15	Pouvoir antibactérien de la vancomycine	47
Figure 16	Profils de l'action des nanoparticules sur les souches A <i>bacillus</i> , B <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , C <i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028, D <i>Escherichia coli</i> BLSE, E	48

	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212, F <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	
Figure 17	Profils de l'action des nanoparticules sur les souches G <i>Klebsiella pneumoniae</i> , H Souche clinique BLSE, I <i>Escherichia coli</i> mcr1, J <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922, K <i>K.p.carbapenemase</i> , L <i>Elizabeth kingia</i> .	49
Figure 18	Profils de l'action des nanoparticules sur les souches M <i>Pseudomonas aeruginosa</i> VIM, N <i>Pseudomonas aeruginosa</i> VIM2, O BGN BLSE, P P.A.H, Q <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300, R <i>Staphylococcus aureus</i>	50
Figure 19	Modes de résistance bactérienne aux antibiotiques (Levy et Marshall, 2004)	52

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau 1	Facteurs contribuant à la résistance aux antibiotiques	5_6
Tableau 2	Quelques nanoparticules et leurs applications majeures	14
Tableau 3	Les applications des nanoparticules de ZnO	27_29
Tableau 4	Pathogénicité des souches testées	33
Tableau 5	Liste des antibiotiques utilisés et leur charge et les diamètres critiques (SFM, 2020).	37_44

Liste des abréviations

ADN : Acide Désoxyribonucléique.

AFSSA : Agence française de sécurité sanitaire des aliments.

ARNm : Acide ribonucléique messager.

ASPC : Agence de la santé publique du Canada.

ATB : Antibiotique

BLSE : β -lactamases à spectre étendu.

BMR : Bactérie multi-résistant.

C : chloramphénicol

CA-SFM : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

CDC: The Centers for Disease Control and Prevention

CMI : Concentration minimale inhibitrice

CPP : Comité de la Prévention et de la Précaution.

EBLSE : entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu.

ERV : Entérocoque résistante à la vancomycine.

IN : Infection nosocomiale.

INRS : Institut Nationale de la Recherche Scientifique.

MH: Muller Hilton

NPs : Nanoparticules.

OMS : Organisation Mondial de la Santé.

P : Pénicilline G

PLP : Protéine de liaison aux pénicillines.

R : Résistance

RAM : Résistance aux antimicrobiens.

ROS : espèces oxydantes réactives.

S : Sensible

SARM : Staphylococcus aureus résistants à la métilcilline.

UV : rayonnement ultraviolet

VA : Vancomycine

ZnO : Oxyde de zinc

Introduction

Introduction

Dans les années 1940, des millions de vies ont été sauvées grâce à la découverte d'antibiotiques. Cependant, avec l'utilisation croissante et parfois inappropriée des antibiotiques, de nombreuses souches bactériennes ont commencé à s'adapter et encore plus à développer des résistances face à cette thérapeutique. Cette résistance des bactéries aux antibiotiques est devenue une véritable préoccupation. Ce phénomène de résistance aux antibiotiques ne cesse d'augmenter et de se généraliser sur la quasi-totalité des espèces bactériennes et ; ajoutant à cela le problème des contaminations bactériennes et les infections causées par ces espèces, surtout les infections nosocomiales qui sont devenus un problème majeur de santé mondiale ([Berkane et Chanti, 2017](#)).

Les bactéries multi résistantes sont très répandues en raison de l'utilisation à long terme d'agents antimicrobiens et présentent des risques mortels dans le monde entier. La préoccupation croissante concernant les microorganismes résistants suscite l'étude de nouveaux agents antimicrobiens plus efficaces ([Levy et al., 2004](#) ; [Bush et al., 2011](#)). Les nouveaux agents peuvent être obtenus à partir de sources biologiques, telles que les bactériocines et les huiles essentielles, ou de composés organiques/inorganiques synthétisés.

L'activité biologique des nanoparticules d'oxyde de zinc dépend principalement de leur taille, de leur surface et de la concentration de la nanoparticule. L'utilisation biomédicale des nanoparticules d'oxydes métalliques suscite l'intérêt des chercheurs en raison de leurs activités antibactériennes à faible concentration ([Anagnostakos et al., 2008](#)).

Dans ce contexte, l'objectif de notre travail consiste à étudier l'activité anti bactérienne des nanoparticules d'oxyde de zinc.

Pour ce faire, nous présentons notre travail :

- ✓ Une bibliographie qui englobe la Problématique de la résistance Bactérienne et l'intérêt thérapeutique des nanoparticules d'oxyde de zinc.
- ✓ La deuxième Partie expérimentale présente le matériel et les méthodes appliquées pour déterminer le pouvoir antibactérien des nanoparticules d'oxyde de zinc sur des souches bactériennes connues pour leurs résistances redoutables.
- ✓ Suivie des résultats issus ainsi qu'e leurs discussions. et enfin nous terminons cette étude par une conclusion et de perspectives d'étude.

Partiel

Revue bibliographique

I. problématique de la résistance bactérienne

1. Antibiotiques et usage intensif

L'utilisation massive d'antibiotiques est une pression de sélection qui pousse les bactéries à devenir résistante. Il ne s'agit pas de dire que les bactéries voyant arriver une vague d'antibiotiques se mettent à produire des adaptations leur permettant de résister, dans le sens où les bactéries contrôlèrent de façon consciente la façon dont elles évoluent, mais simplement de dire que c'est parce qu'il y a une utilisation massive d'antibiotiques que les bactéries deviennent résistantes, celles qui ne le sont pas meurent et ne restent plus que dans la population les bactéries résistantes (Mali, 2019).

L'augmentation de la résistance aux antibiotiques se traduit dans la pratique hospitalière par une augmentation de la morbidité et parfois de la mortalité, ainsi que des coûts d'hospitalisation. De nombreux facteurs, parmi lesquels la pression de sélection antibiotique et la transmission croisée de certaines espèces hospitalières, favorisent les infections à germes multi résistants. Cela doit entraîner une modification des pratiques de prescription des antibiotiques, particulièrement en raison de l'apparition de microorganismes résistants à l'ensemble des antibiotiques disponibles ce qui fait craindre un retour à l'ère pré-antibiotique (Bertrand *et al.*, 2005).

2. Définition de la résistance aux agents antimicrobiens :

L'Organisation mondiale de la santé (OMS) explique que « [la] résistance aux antimicrobiens [RAM] survient lorsqu'un micro-organisme (bactérie, virus, champignon ou parasite) subit des modifications de telle sorte que les médicaments utilisés pour soigner l'infection qu'il provoque deviennent inefficaces» (OMS, 2017). Une fois présents dans une population ou une collectivité, les infections mettant en cause ces microbes deviennent de plus en plus difficiles à traiter. Selon le Dr Andrew Morris, président du Comité sur l'Antibiogouvernance et la Résistance (Association pour la microbiologie médicale et l'infectiologie Canada), la RAM touche non seulement le traitement des infections courantes comme la pneumonie et les infections urinaires, mais elle peut aussi toucher des patients qui subissent des chirurgies courantes et qui risquent d'être infectés par des agents pathogènes résistants aux antimicrobiens.

3. Types de résistance

3.1. Résistance naturelle

Les gènes de résistance font partie du patrimoine génétique de la bactérie. La résistance naturelle est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce (Courvalin *et al.*, 2001). Ce type de résistance est détecté dès les premières études réalisées sur l'antibiotique afin de déterminer son activité et contribue à définir son spectre antibactérien. Ceci peut être dû à l'absence de la cible (comme l'absence de paroi chez les mycoplasmes les rendant insensibles aux β lactamines) ou encore à l'absence de pénétration de l'antibiotique (rôle de la membrane externe par exemple chez les bactéries Gram négatif avec la vancomycine) (AFSSA, 2010).

La résistance bactérienne naturelle est permanente et d'origine chromosomique. La résistance naturelle est stable, transmise à la descendance (transmission verticale) lors de la division cellulaire, mais elle n'est généralement pas transférable d'une bactérie à l'autre (transmission horizontale) (Messai, 2006).

3.2. Résistance acquise

La résistance acquise est un caractère qui ne concerne que quelques souches d'une espèce donnée. Elle est moins stable, mais elle se propage souvent de façon importante dans le monde bactérienne, par l'acquisition des nouveaux gènes capables de rendre la bactérie insensible à un antibiotique ou à un groupe d'antibiotique (Yala *et al.*, 2001 ; Sylvie-Carle, 2009). Ce nouveau gène peut être obtenu soit par mutation au niveau du chromosome (plutôt rare) (Chopra *et al.*, 2003), ou par l'acquisition d'ADN étranger par le biais de plasmides (plutôt fréquent), de bactériophages ou de transposons (Davies, 1997).

3.3. La résistance croisée

La résistance croisée est un phénomène par lequel une bactérie qui a développé une résistance à l'un des antibiotiques d'une classe devient aussi résistante aux autres membres de la même classe. Cela même si elle n'a jamais été exposée à ces molécules. C'est cette résistance croisée qui permet aux β -lactamases à spectre étendu (BLSE) présentes chez les bactéries à Gram négatifs d'avoir une résistance si étendue (β -lactamines et céphalosporines) à tel point qu'elles deviennent un véritable enjeu en santé humaine (Julie, 2014).

3.4. La Co-résistance

Plusieurs mécanismes de résistance sont associés chez la même bactérie, parfois stabilisés par intégration dans le chromosome. Chacun des mécanismes confère par résistance croisée la résistance à un groupe d'antibiotique conférant à la bactérie un large spectre de résistance (Stephanie, 2009).

4. Facteurs contribuant à l'émergence de la résistance bactérienne

L'émergence de la résistance aux antibiotiques est le résultat d'une pression sélective exercée par les agents antimicrobiens et de la transmission de micro-organismes résistants (Simonsen, 2004). (tab.1)

Tableau 1 : Facteurs contribuant à la résistance aux antibiotiques (Murthy, 2001 ; Rybak, 2004).

Facteurs	Exemples (liste exhaustive)
Emergence de la résistance	<ul style="list-style-type: none"> -Usage abusif d'antibiotique -Gravité accrue de l'état des malades hospitalisés ; -Manque de fidélité au traitement ; -Durée trop courte ou dose sous thérapeutique ; -Diagnostic non confirmé d'infection bactérienne ; -Utilisation inadéquate d'antibiotique dans les pays en voie de développement.
Propagation des souches résistantes	<ul style="list-style-type: none"> -Mesures d'hygiène inadéquate dans les hôpitaux -Non-respect des directives de lutte contre les infections -Promiscuité des patients hospitalisés; -Réduction du personnel infirmier et de soutien -Déplacement accrus des patients (transfert de patients colonisés ou infectés entre hôpitaux et milieu communautaire); -Voyages internationaux.
Utilisation d'antibiotiques dans le secteur agro-alimentaire	<ul style="list-style-type: none"> -Animaux destinés à la consommation -Agriculture et aquaculture.

Utilisation d'antibiotiques de désinfectants

-Agents antimicrobiens dans les produits d'entretien ménager, le dentifrice, les pastilles contre le mal de gorge, les savons, etc

L'exposition à un antimicrobien favorise la survie des souches bactériennes résistantes présentes dans une population. La réduction de la pression sélective des antibiotiques est importante pour prévenir l'émergence d'une résistance microbienne et préserver le plus longtemps possible l'efficacité des médicaments disponibles. La figure 1 présente la manière dont la pression sélective de la résistance s'effectue (CDC, 2022). Elle décrit les événements qui suivent une mutation spontanée dans une population bactérienne. Si la mutation favorise l'émergence d'une résistance à un antibiotique, celui-ci va détruire les autres bactéries et sélectionner la souche mutante. Les mutants vont se multiplier et devenir prédominants.

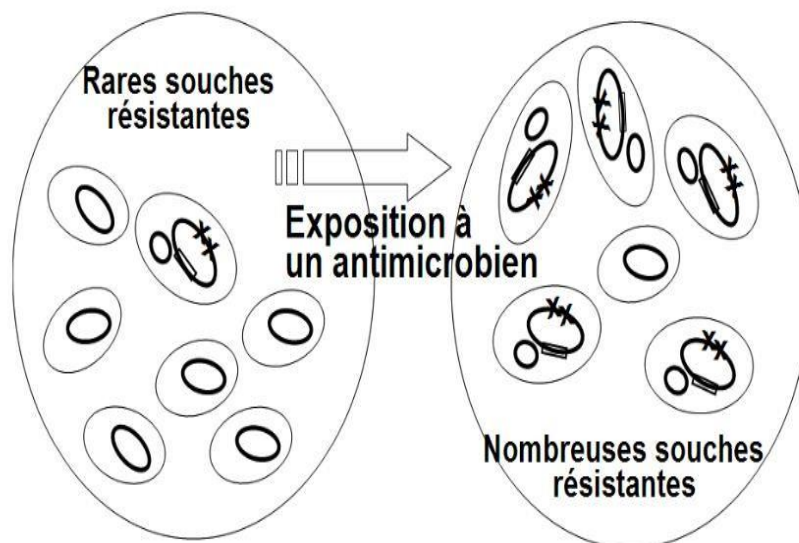


Figure 1 : Sélection de souches résistantes aux antimicrobiens (CDC, 2022).

5. Les bactéries multi-résistantes (BMR)

Les bactéries sont dites multi résistantes (BMR) aux antibiotiques lorsque, du fait de l'accumulation des résistances naturelles et acquises, elles ne sont plus sensibles qu'à un nombre restreint d'antibiotiques utilisables en thérapeutique.

La multi-résistance concerne les bactéries responsables d'infections communautaires à l'exemple des pneumocoques ou les bacilles de la tuberculose et les bactéries responsables d'infections nosocomiales ou associées aux soins. Certaines résistances sont particulièrement importantes à prendre en compte, car elles concernent des espèces bactériennes qui sont à la fois commensales susceptibles de disséminer dans la population générale et à fort potentiel pathogène. C'est le cas des *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM) et des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (EBLSE) (Meskin et Benabdelkader, 2016).

5.1. Les types de BMR :

5.2.1. Hospitaliers :

- a) SARM : *S.aureus* est l'une des deux principales espèces responsables d'infection nosocomiale. Le développement incontrôlé des épidémies de SARM et les preuves répétées de leur diffusion clonale justifient à eux seuls la mise en place d'un programme de lutte contre les BMR. Les SARM représentent 5 à 10% des bactéries isolées des infections nosocomiales (IN), ils sont résistants à toutes les β -lactamines et très souvent résistants aux aminosides, aux macrolides et aux fluoroquinolones (Vincent, 2000).
- b) ESBL : les entérobactéries dans leur ensemble représentent 35 à 40% des bactéries responsables d'IN. Les EBLSE représentent environ 1% des bactéries isolées des IN. La tendance à la diffusion clonale des EBLSE est bien démontrée. Les souches d'EBLSE principalement *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes* et à un moindre degré *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter sp* sont résistantes à de nombreuses β -lactamines (sauf imipénème), et souvent céphamycines pour les espèces qui y sont naturellement sensibles, et très souvent résistantes aussi aux aminosides et aux fluoroquinolones (Vincent, 2000).
- c) Entérocoque résistante à la vancomycine (ERV) : représentent environ 1% des souches d'entérocoques isolées à l'hôpital. On retrouve principalement :
 - *Acinetobacter baumannii* : représentent 2 à 4% des bactéries responsables d'IN, jouent un rôle non négligeable dans certains secteurs hospitaliers (soins intensifs) et sont parfois à l'origine de bouffées épidémiques dans lesquelles la contamination de l'environnement des patients porteurs joue un rôle. Certaines souches épidémiques résistantes à l'imipénème conduisent à des impasses thérapeutiques (Vincent, 2000).

- *Pseudomonas aeruginosa* multirésistant : les souches de *P.aeruginosa* résistantes aux β lactamines (ticarcilline, ceftazidime ou imipenème) ont tendance à être résistantes aussi aux aminosides et aux fluoroquinolones. Dans les hôpitaux concernés, ces souches doivent faire l'objet d'une stratégie spécifique, notamment d'une politique de prescription des antibiotiques, et des mesures de contrôle de l'environnement (Vincent, 2000).

5.2.2. Communautaire

Les BMR communautaire sont des bactéries impliquées dans les infections survenant en dehors d'un établissement de santé, par opposition des BMR hospitaliers.

Ces germes sont caractérisés par une probabilité de résistances relativement faibles, les plus fréquentes de ce type de BMR sont les pneumocoques et les bacilles de la tuberculose (Znazen et al., 2006).

- *Streptococcus pneumoniae* : est un pathogène majeur, responsable d'infections communautaires à type de pneumonies, de bactériémies, de méningites, d'otites et de sinusites, la pneumocoque a acquis au cours des cinq dernières décennies de nombreuses résistances aux: sulfamides ,tétracyclines, érythromycine, pénicilline et chloramphénicol .La résistance du pneumocoque aux β -lactamines est liée à une modification des protéines de liaison aux pénicillines (PLP). La surveillance de la sensibilité du pneumocoque aux antibiotiques est nécessaire afin d'adapter les recommandations thérapeutiques des infections *pneumococciques*.
- Bacille de la tuberculose : Le bacille de la tuberculose peut devenir résistant aux antimicrobiens utilisés pour guérir la maladie, La tuberculose multi résistante (MR) est une tuberculose contre laquelle l'isoniazide et la rifampicine, les deux antituberculeux les plus puissants, ne sont pas efficaces, La mauvaise gestion du traitement antituberculeux et la transmission interhumaine expliquent la propagation de la tuberculose multi résistante (Znazen et al., 2006).

6. Conséquences de la multi-résistance aux antibiotiques

La multi-résistance bactérienne aux antibiotiques est un grave problème de santé publique mondiale dont les conséquences sont multiples :

6.1.Conséquences individuelles :

La survenue d'infection due à des espèces bactériennes ayant acquis des mécanismes de résistance peut être responsable de plusieurs phénomènes dont :

- Un retard thérapeutique,
- La nécessité d'utiliser des molécules récentes et coûteuses dont les modalités d'administration optimale et la toxicité ne sont pas encore bien identifiées,
- La prolongation de durée de séjour voire une surmortalité (Zahar, 2012).

6.2. Conséquences collectives :

Sur le plan collectif, les conséquences de la résistance sont plus difficilement évaluables. Toutefois, elles se résument en :

- Une modification des pratiques antibiotiques des cliniciens, les amenant à une surconsommation de molécules dites de réserves ou à large spectre,
- L'augmentation de la charge en soin,
- L'augmentation des coûts (Zahar, 2012).

II. Nouveaux agents antibactériens

Face aux dangers de contaminations d'épidémies ainsi qu'à l'émergence de nouvelles bactéries multi-résistantes aux antibiotiques et les infections causées par ces microbes multirésistants qui sont difficiles voire impossibles à guérir. Nous avons le plus grand besoin de trouver de nouveaux agents antimicrobiens efficaces, contre lesquels les bactéries seront incapables de développer une résistance. Une large gamme d'agents potentiellement dotés d'une activité antibactérienne a été étudiée, notamment les nanoparticules ces nouveaux agents sont des particules inorganique de taille nanométrique, semblent être des candidats de choix pour constituer une alternative aux antibiotiques et ouvrir la voie à une nouvelle stratégie antibactérienne à l'échelle industrielle.

1. Définition des nanomatériaux :

Selon la recommandation de la Commission Européenne du 8 Octobre 2011, un nanomatériau est défini comme : un matériau naturel formé accidentellement ou manufacturé contenant des particules libres, sous forme d'agrégat ou sous forme d'aggloméra, dont au moins une dimension externe est de l'ordre du nanomètre, c'est-à-dire entre environ 1 et 100 nm, ou présente des dimensions internes ou externes avec une structure de surface à l'échelle nanométrique (Ricaud et Witschger, 2012).

2. Les nanoparticules :

Une nanoparticule est définie comme étant une particule dont au moins une direction de l'espace à une dimension inférieure à 100 nm, qui lui confère des propriétés uniques. La particularité d'une nanoparticule réside dans le fait que la majorité des atomes qui la constitue se trouve en surface. Les nanoparticules présentent donc des surfaces d'échanges (surface spécifique) très importantes, de plusieurs centaines de mètres carrés par gramme de particule (Lanone et Boczkowski, 2010). (fig. 2)

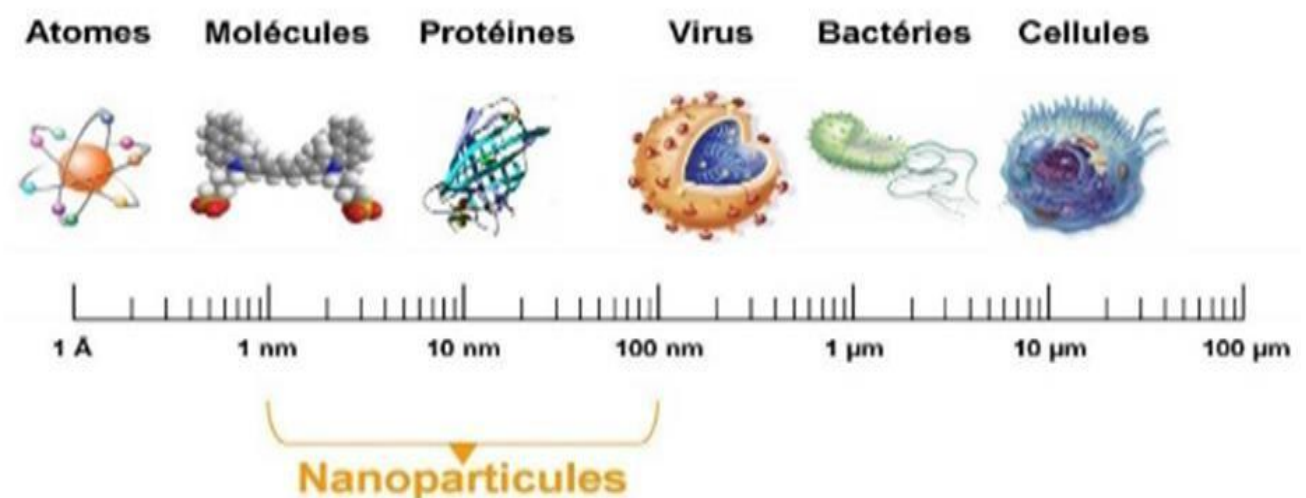


Figure 2 : Gamme de tailles des nanoparticules comparée à celle des principales structures (M.Goutayer, 2008).

3. Sources des nanoparticules

3.1. Nanoparticules naturelles

Un grand nombre de nanoparticules d'origine naturelle sont présentes dans l'environnement résultent essentiellement des phénomènes de nucléation et de condensation des gaz et vapeurs dans l'atmosphère comme les fumées volcaniques, les incendies de forêt. Parmi elles, il existe Les imogolites et allophanes qui sont des aluminosilicates structurés à courte distance résultant de l'altération de verres et de cendres volcaniques (Lanone et Boczkowski, 2010).

3.2. Nanoparticules produites par l'homme de façon non intentionnelle

Résultent de produits de combustion (diesel, fumée de tabac, fumées domestiques, fumées industrielles, fumées de soudure...) et réactions « gaz-solide » dans l'atmosphère : gaz naturels ou provenant des émissions anthropiques (Angélique, 2008).

3.3. Nanoparticules produites par l'homme de façon intentionnelle

Sont les nanoparticules produites dans les usines ou les laboratoires de recherche tels que les métaux, semi-conducteurs, oxydes métalliques.

4. Les méthodes de synthèse des nanoparticules

4.1. Méthode physique

- **Evaporation/condensation** : Cette méthode consiste à évaporer un métal par chauffage puis à condenser la vapeur métallique afin d'obtenir des nanopoudres formées de particules nanométriques dispersées, ce mode de préparation est employé au niveau de la production industrielle de nanopoudres métalliques et céramiques.
- **pyrolyse laser** : Cette méthode permet de synthétiser aisément des particules de 15 à 20 nm à un débit de 100 g/h en laboratoire.
- **Irradiation ionique / électronique** : En utilisant les irradiations, il est possible de synthétiser des nanostructures de façon originale.

4.2. Méthode chimique

- **Synthèse Sol-Gel** : Les techniques sol-gel permettent de produire des nanomatériaux à partir de solutions d'alkoxydes ou de solutions colloïdales.
- **Fluide supercritique avec réaction chimique** : Le procédé permet la synthèse de matériaux inorganiques finement divisés : métal, oxyde et nitrure.
- **Biosynthèse verte** : La synthèse des nanoparticules en utilisant des produits biologiques naturels tels que les plantes sous forme d'extraits ou sous forme d'huiles essentielles solubles (1).

5. Propriétés des nanoparticules :

Les principales propriétés des nanoparticules sont : optiques, électriques, catalytiques, thermiques, magnétiques, mécaniques ou encore biologiques (Zeyons, 2008). Nous allons présenter quelques-unes de ces propriétés afin d'expliquer l'intérêt que présentent les nanoparticules.

Les propriétés optiques des nanoparticules : Les artisans utilisaient en effet des nanoparticules pour donner un aspect brillant à leur poterie.

Les nanoparticules possèdent également des **propriétés électriques** particulières dans lequel l'ajout de nanotubes de carbone à des matrices composites augmente significativement la conductivité du matériau.

Les propriétés mécaniques des nanoparticules s'étendent de la superplasticité (ex : les matériaux constitués de cuivre nanocristallin) (Lu et al., 2000) à des résistances décuplées (ex

: le renforcement de matrices par des nanotubes de carbone) (Qi *et al.*, 2003). En effet, la dureté de nanotubes de carbones multi-parois peut atteindre celle du diamant.

L'interaction des nanoparticules de façon particulière avec les systèmes biologiques (protéines, membranes, cellules) grâce à leur petite taille. L'utilisation thérapeutique des nanoparticules y a déjà une vingtaine d'années et continue de susciter des recherches actives dans ce domaine notamment dans la libération contrôlée de médicaments (Couvreur et Puisieux, 1993 et Moghimi *et al.*, 2005).

Certaines nanoparticules d'oxydes métalliques ont également la particularité d'absorber dans les UV (Zeyons, 2008).

6. Domaines d'application des nanoparticules

La capacité de contrôler la composition, la structure, les propriétés et les fonctions des matériaux à l'échelle nanométrique peuvent leur donner une diversité d'applications dans de nombreux domaines des utilisations en constante expansion. Une liste non exhaustive des usages peut se concevoir sur la base de leur composition chimique ou bien des domaines d'application. Les principaux domaines sont les suivants (tab.2).

- Médical (imagerie, vectorisation de médicaments, dispositifs médicaux, etc.) ;
- Cosmétiques ;
- Transport et espace (peinture, pneumatiques, revêtements, etc.) ;
- Bâtiment (nouveaux matériaux, etc.) ;
- Agriculture (nanopesticides, nanocapteurs, etc.) ;
- Electronique ;
- Textiles (antibactérien...) ;
- Environnement (stockage pour batteries, traitement eaux...) ;
- Alimentation (additifs, emballage, nanocapteurs...) ;
- Loisir et sport (amélioration des équipements...) ;
- Défense nationale (nanorobots, exosquelettes...) (CPP, 2020).

Tableau 2 : Quelques nanoparticules et leurs applications majeures (Poole *et al.*, 2003).

Nanoparticules	Applications
Oxyde d'aluminium	-Polissage optique, cosmétiques et vêtements.
Céramique	-Électronique, antioxydants, et polissage automobile.
Gold	-Étiquettes pour l'immunocytochimie et la détection des risques biologiques.
Cuivre ou oxyde de cuivre	-Additif pour huile de lubrification, électronique et traitement informatique, revêtement conducteurs, encres pour imprimantes, additifs de frittage. Crème anti-âge et revitalisant pour la peau.
Oxyde de fer	-Ultrafiltration et oxydation réduction catalysât.
Isolateurs	-Nanocristaux et médicaments.
Polymères	- Thérapeutiques, revêtements et pigments.
Argent	-Antibactérien utilisé dans le traitement de l'eau, adoucissant textile, vêtements, jouets mous, pansements.
Nano-vitamines	-Vitamine E : aliments, boissons et cosmétiques. -Vitamines B12 et E : cosmétiques.
Oxyde de zinc	-Crème solaire, produits cosmétiques, produits cosmétiques pour le pied. déodorant et cire pour voiture.

7. Mécanismes d'action des nanoparticules

Le mécanisme létal des nanoparticules métalliques est toujours en discussion, mais trois mécanismes principaux sont supposés (fig.3) :

7.1. Contact avec la paroi

La première étape du mécanisme antibactérien est constituée par les ions métalliques de la gamme nanométrique qui parviennent à la cellule via une protéine transmembranaire. Après fixation aux cellules bactériennes, on constate la production de changements structurels dans la membrane cellulaire et un blocage des canaux de transport. Ensuite, les NPs peuvent être internalisées, produire une ionisation à l'intérieur de la cellule et endommager les structures intracellulaires, entraînant la mort cellulaire (Dadi, 2019).

7.2. Génération des espèces oxydantes réactives (ROS) :

Les ROS sont constitués d'oxydants à vie courte, tels que les radicaux superoxydes (O_2^-), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), les radicaux hydroxyles (OH^{\cdot}) et l'oxygène singulet (O^{\cdot}), ces ROS peuvent endommager le peptidoglycane et les membranes cellulaires, l'ADN, l'ARNm, les ribosomes et les protéines.

7.3. Inactivation des protéines et destruction de l'ADN

Les ions métalliques ont tendance à se fixer à l'ADN, une fois qu'ils pénètrent dans la cellule, les atomes se lient au groupe thiol des enzymes et à désactivent la fonction des enzymes, ensuite les ions métalliques se fixent entre les paires de bases pyrimidine et purine, perturbant ainsi la liaison de l'hydrogène entre deux brins antiparallèles et détruisant la molécule d'ADN (Dadi, 2019).

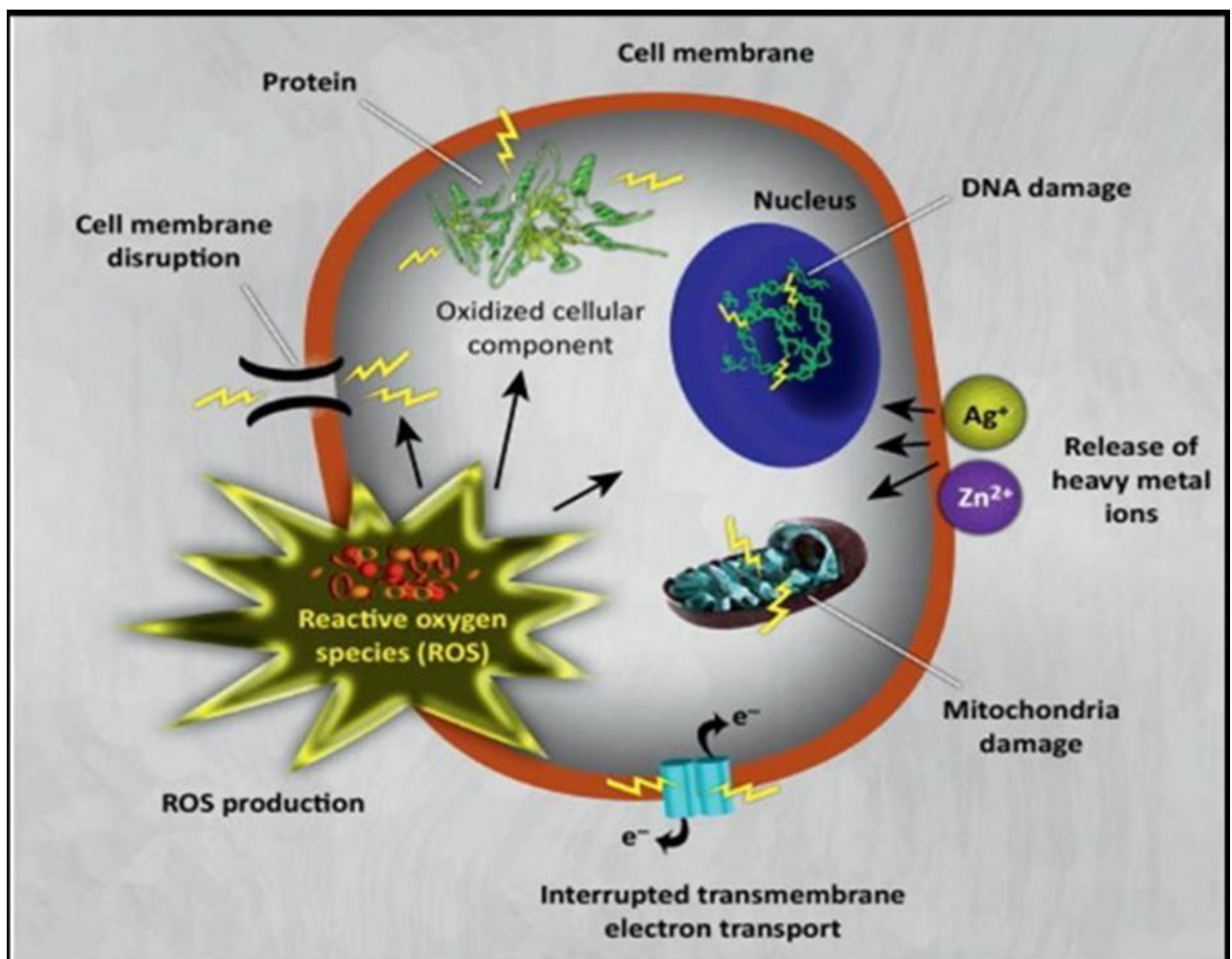


Figure 3: Mécanismes d'action des nanoparticules (NP) contre les bactéries (Hajipour *et al.*, 2012).

8. Facteurs influençant l'activité antibactérienne

Les propriétés physicochimiques des nanoparticules incluent leur taille, leur charge, leur potentiel zêta, leur morphologie de surface et leur structure cristalline, qui sont des éléments importants qui régulent les actions des nanoparticules sur les cellules bactériennes. Ainsi que, les conditions environnementales, la souche bactérienne et le temps d'exposition sont d'autres facteurs importants qui influencent les effets antibactériens des nanoparticules (Dadi, 2019).

9. Toxicité des nanoparticules :

La toxicité des nanoparticules dépend de multiples paramètres physico-chimiques : la composition chimique, la taille, la forme, la structure... et chaque nanoparticule possède son propre profil toxicologique. Les études épidémiologiques et les essais chez l'homme en condition d'exposition contrôlée sur ce type de particules suggèrent la possibilité de survenue d'effets respiratoires et cardiovasculaires, notamment chez les personnes fragilisées. De tels effets sont suspectés en cas d'exposition à certains nanomatériaux manufacturés.

9.1. Voies de pénétration dans l'organisme

- **Inhalation :**

La principale voie de pénétration des nanomatériaux dans l'organisme humain. Une fois inhalés, les nanomatériaux peuvent soit être exhalés, soit se déposer dans les différentes régions de l'arbre respiratoire, Les particules de diamètre compris entre 10 et 100 nm se déposent majoritairement dans le poumon profond et les particules plus petites se déposent principalement dans les voies aériennes supérieures et dans une moindre mesure dans la région trachéo-bronchique.

- **Le passage transcutané :**

La pénétration des particules est peu probable sauf dans le cas où la peau est endommagée c'est une hypothèse encore à l'étude. Les données sur le sujet sont cependant parfois contradictoires et ne permettent pas d'exclure formellement tout risque de passage transcutané.

D'après les résultats des études expérimentales certains nanoparticules inhalés sont de surcroît capables de traverser la paroi alvéolaire, migrer vers la plèvre, les structures ganglionnaires, rejoindre les systèmes sanguin et lymphatique et atteindre différents organes comme le foie, le cœur ou la rate. Ils peuvent également dans certains cas traverser la muqueuse nasale et être transportés via les nerfs jusqu'au cerveau (INRS 2022). (fig.4)

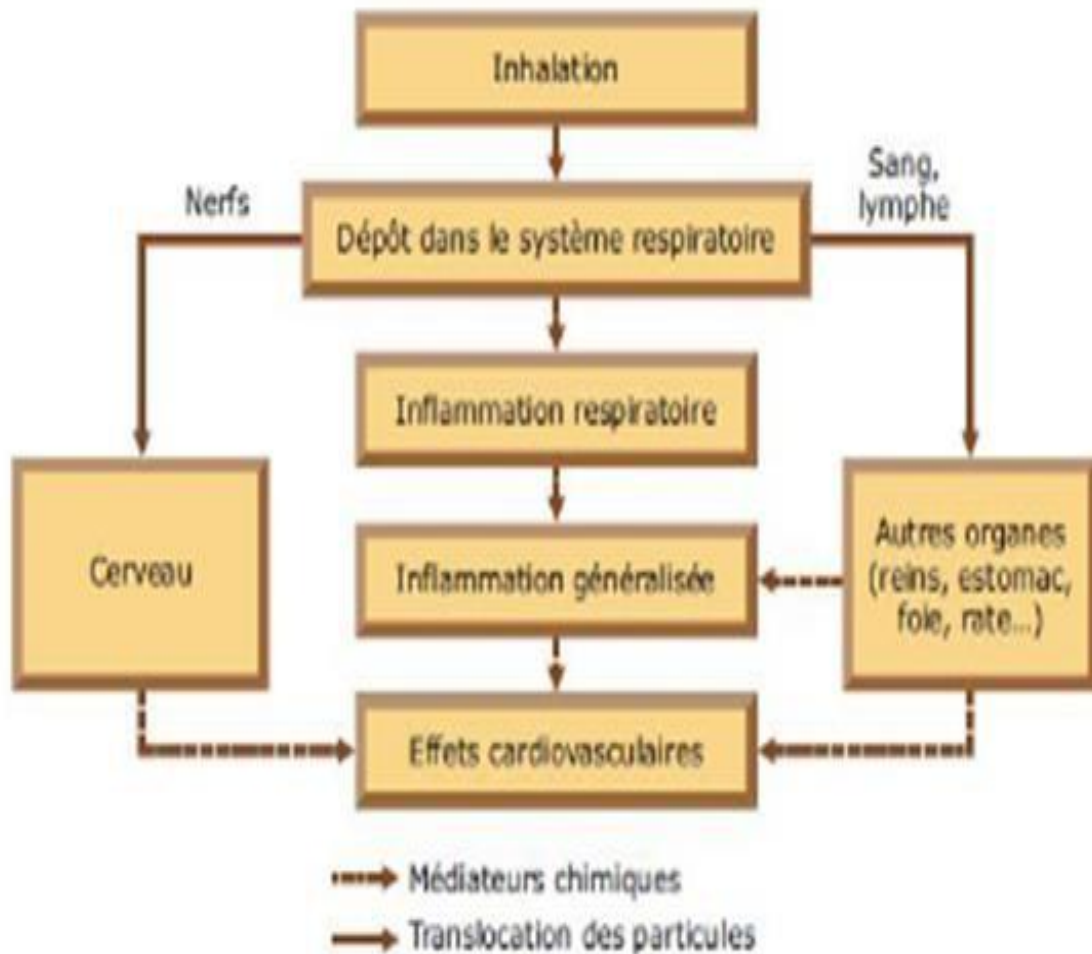


Figure 4 : Effets potentiels des Nps inhalés (INRS 2022).

9.2. Principaux facteurs responsables des effets toxicologiques

- **Facteurs liés aux Nps :** La composition chimique, la taille, la surface, le nombre, la forme, la solubilité, Degrés d'agrégation et d'agglomération...
- **Facteurs liés à l'exposition :** voies de pénétration dans l'organisme, importance et durée de l'exposition.
- **Facteurs liés l'organisme exposé :** susceptibilité individuelle, charge physique.

Un certain nombre d'études démontrent déjà clairement que les nanomatériaux présentent une toxicité plus grande et sont à l'origine d'effets inflammatoires plus importants que les objets micrométriques de même nature chimique (INRS 2022).

10. Les nanoparticules inorganiques

10.1. Les métaux

La majorité des métaux ont été ou peuvent être produits dans des dimensions nanométriques. Parmi ceux-ci, les NP d'or sont particulièrement utilisés pour le diagnostic médical ou comme agent de traitement contre le cancer et l'argent nanométrique est aussi utilisé surtout pour ses propriétés antimicrobiennes (ICON, 2008 ; Hansen, 2009). Ainsi que, Le platine, le palladium et le rhodium nanométriques sont utilisés dans les convertisseurs catalytiques, le fer, le nickel et le cobalt comme catalyseurs notamment pour la synthèse de nanomatériaux carbonés, l'aluminium comme combustible, le fer comme métal dopant et le cuivre en électronique. Enfin, d'autres nanofils ont été élaborés à base de différents métaux, oxydes, sulfures et nitrures.

10.2. Les oxydes métalliques

Plusieurs oxydes métalliques de dimensions nanométriques ont été créés mais les plus courants, car produits à grande échelle, sont probablement la silice, l'oxyde de titane et l'oxyde de zinc.

D'autres oxydes métalliques sont également produits dont les oxydes de cérium, de fer, de cuivre, de zirconium, d'aluminium, de nickel, d'antimoine, d'yttrium, de baryum, de manganèse de même que des nano-argiles (ICON, 2008).

III. Nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO)

Le ZnO est un matériau polyvalent grâce à ses diverses propriétés chimiques et physiques uniques telles qu'une grande stabilité chimique et thermique, une longue durabilité, une haute sélectivité, un coefficient de couplage élevé (Rokbani, 2018). Il a des propriétés optiques, électriques et thermiques spécifiques qui sont attrayantes pour une gamme d'applications très diverses. Par exemple, son indice de réfraction élevé (1.95-2.10) est utile dans les applications de pigments, il peut être un conducteur électrique lorsqu'il est convenablement dopé et il est thermiquement stable à des températures extrêmement élevées (avoisinant les 1800°C) (Fan, 2005).

1. Méthodes de synthèse des NPs de ZNO

Il existe plusieurs méthodes différentes qui peuvent être utilisées pour synthétiser les nanoparticules d'oxyde de zinc. Ces méthodes peuvent être divisées en deux types : les méthodes chimiques et les méthodes physiques.

1.1. Méthodes physiques

Les méthodes physiques, sont des méthodes dites « Top-Down », car elles partent généralement du matériau massif pour aller vers les plus petites tailles. Ces méthodes nécessitent l'emploi de haute température et la mise en œuvre de lourdes infrastructures (Lakhdari, 2019).

1.2. Méthodes chimiques

Les méthodes chimiques, quant à elles, sont dites « Bottom-Up », car elles partent de molécules et utilisent les atomes métalliques comme briques de construction des particules, et elles ont l'avantage d'être plus simple à mettre en œuvre (Lakhdari, 2019).

2. Les applications de ZnO

En raison de ses diverses propriétés à la fois chimiques et physiques, le ZnO est largement utilisé dans de nombreux domaines. Les nanoparticules de ZnO ont démontré une toxicité sélective envers une large gamme de bactéries à Gram-positif et Gram-négatif incluant les pathogènes d'origine alimentaire, tels que *E.coli* O157:H7, *Salmonella enterica serovar Typhimurium* (*S. Typhimurium*), *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) et *S. aureus*. Grâce à leur taille nanométrique et à leur réactivité de surface, ces nanoparticules peuvent doter les matériaux d'emballage alimentaire d'une activité antimicrobienne pour empêcher la prolifération d'une flore d'altération et pathogènes dans les aliments (Adams et al., 2006).

Les nanoparticules sont appliquées également dans :

- Peinture ;
- Diodes laser UV ;

- Cellules photovoltaïque ;
- Des traceurs biologiques ;
- L'alimentation du bétail ;
- L'industrie pharmaceutique ;
- L'industrie du caoutchouc et plastique ;
- Dispositif à onde acoustique de surface ;
- Capteurs à gaz conducteurs ;
- Diodes électroluminescentes ;
- Cellules solaires basé sur le Si-H ;
- Sondes de gaz ;
- Fenêtres optiques comme électrodes pour des piles solaires. ([wahab et al., 2010](#), [Raghupathi et al., 2011](#)).

3. Mécanismes d'action antibactérienne de ZnO NPs

L'activité antibactérienne est un mécanisme qui fait intervenir des cellules vivantes (fig.6).

Ces dernières étant fonctionnelles (présence d'activité biochimique) et en constante évolution, le mode d'action des agents antibactériens du ZnO soulève de vives discussion dans la littérature. Les principales hypothèses énoncées sont données ci-dessous :

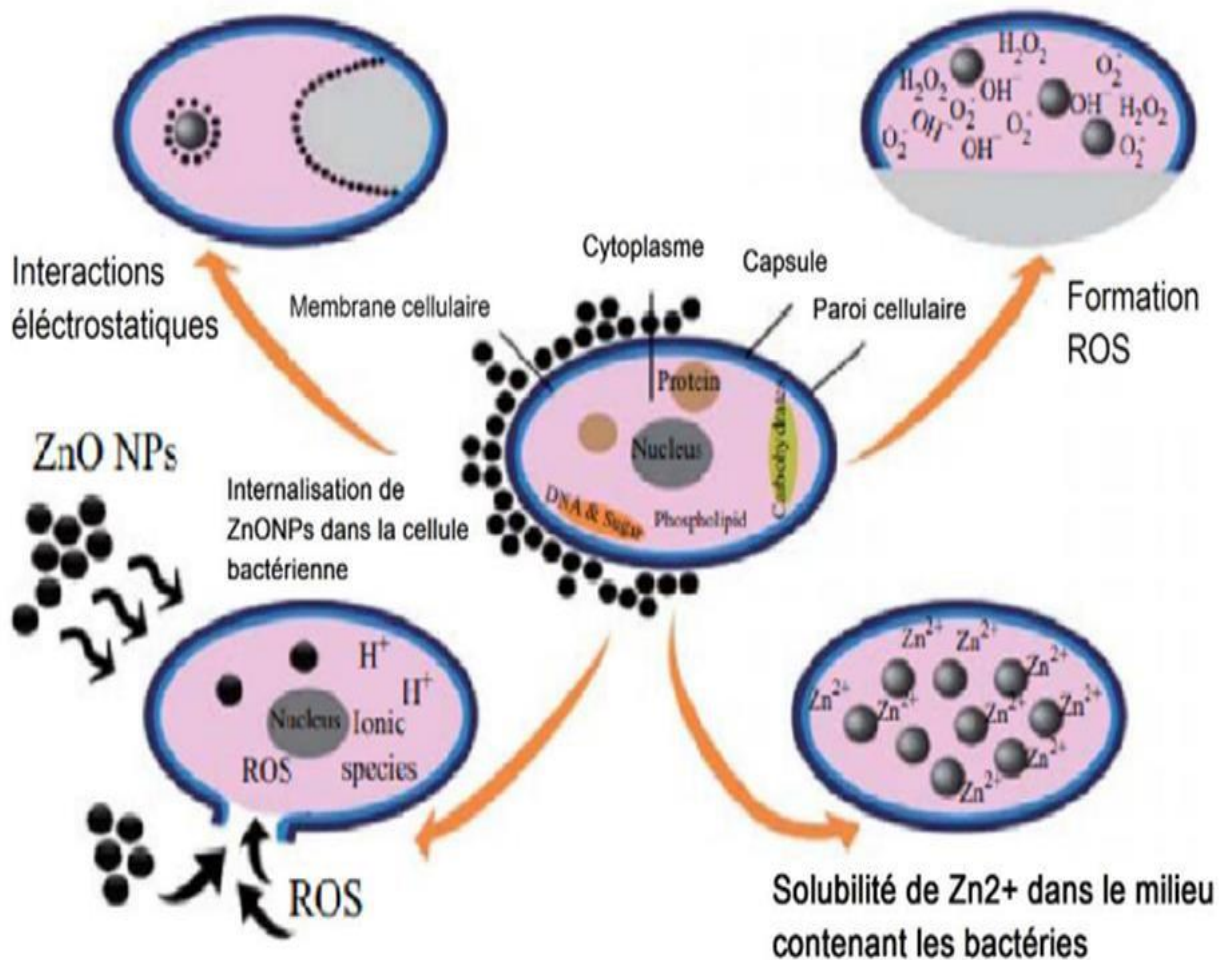


Figure 6 : Les différents mécanismes responsables de l'activité antibactérienne des nanoparticules de ZnO (Sirelkhatim *et al.*, 2015).

3.1. Génération des espèces oxydantes réactives (ROS)

La production d'espèces oxydantes réactives (ROS) par les NPs métalliques joue un rôle important dans leur efficacité antibactérienne. Les ROS sont constituées d'oxydants à vie courte, tels que les radicaux superoxydes (O_2^-), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), les radicaux hydroxyles (OH^{\cdot}) et l'oxygène singulet (O_2). En raison de la haute réactivité de ces espèces, les ROS peuvent endommager le peptidoglycane et les membranes cellulaires, l'ADN, l'ARNm, les ribosomes et les protéines. Les ROS peuvent également inhiber la transcription donc la mort de cellule. Certains NPs d'oxydes métalliques reposent sur la génération de ROS en tant que mécanisme principal de toxicité (Dadi, 2019).

3.2. Interaction entre les bactéries et les oxydes métalliques (ZnO) :

Dans la littérature, on retrouve que les forces électrostatiques sont impliquées dans l'attraction entre les bactéries et les oxydes métallique (Stoimenov *et al.*, 2002) ont proposé qu'une adhésion électrostatique entre les nanoparticules d'oxyde métallique et les bactéries induisent la mort directe de ces dernières par rupture de la membrane cytoplasmique. On peut aussi supposer que l'attraction électrostatique sera plus importante pour les *Staphylococcus aureus* car ils ont une charge électro négative plus importante que pour les *E. coli*. Ces résultats ci-ont été obtenus avec des poudres d'oxydes métalliques en suspension dans l'eau (Doumbia, 2012).

3.3. Libération des ions Zn^{2+} :

Parmi les principaux mécanismes antibactériens proposés pour l'activité des nanoparticules de ZnO. La libération des ions Zn^{2+} dépend essentiellement des propriétés physicochimiques des nanoparticules telles que la taille, la concentration et la morphologie ainsi que le pH et le temps d'exposition. La solubilité des ions Zn^{2+} dans le milieu incluant les bactéries pourrait affecter le transport actif, le métabolisme aminoacide ainsi que le fonctionnement enzymatique des bactéries. Lors d'une étude comparative, (Reddy *et al.*, 2007) ont constaté une augmentation du nombre d'*E. coli* (UFC) traitée avec 1 mm de ZnO par rapport au contrôle. La population d'*E. coli* a été complètement inhibée à une teneur de ZnO supérieure ou égale à 3,4 mm, alors que celle de *S. aureus* nécessitait seulement une concentration supérieure ou égale à 1 mm pour une inhibition complète (Bouhalata, 2021).

4. Sensibilité des bactéries à Gram-positif versus Gram-négatif

L'efficacité antibactérienne des nanoparticules de ZnO contre les bactéries à Gram-négatif et les bactéries à Gram-positif a suscité beaucoup de controverse dans la littérature. Certains auteurs ont clamé que *E. coli* est plus sensible que *S. aureus* au traitement avec les nanoparticules de ZnO. La différence de sensibilité a été attribuée à la différence du contenu intracellulaire antioxydant à l'intérieur de *S. aureus* qui procure une meilleure résistance à l'oxydation ainsi qu'à la présence d'agents de désintoxication puissants au sein des bactéries à Gram-positif. (fig.7)

D'autres études ont rapporté que *S. aureus* a une plus grande susceptibilité que *E. coli* envers le ZnO (Applerot *et al.*; 2009 ; Reddy *et al.*; 2007).

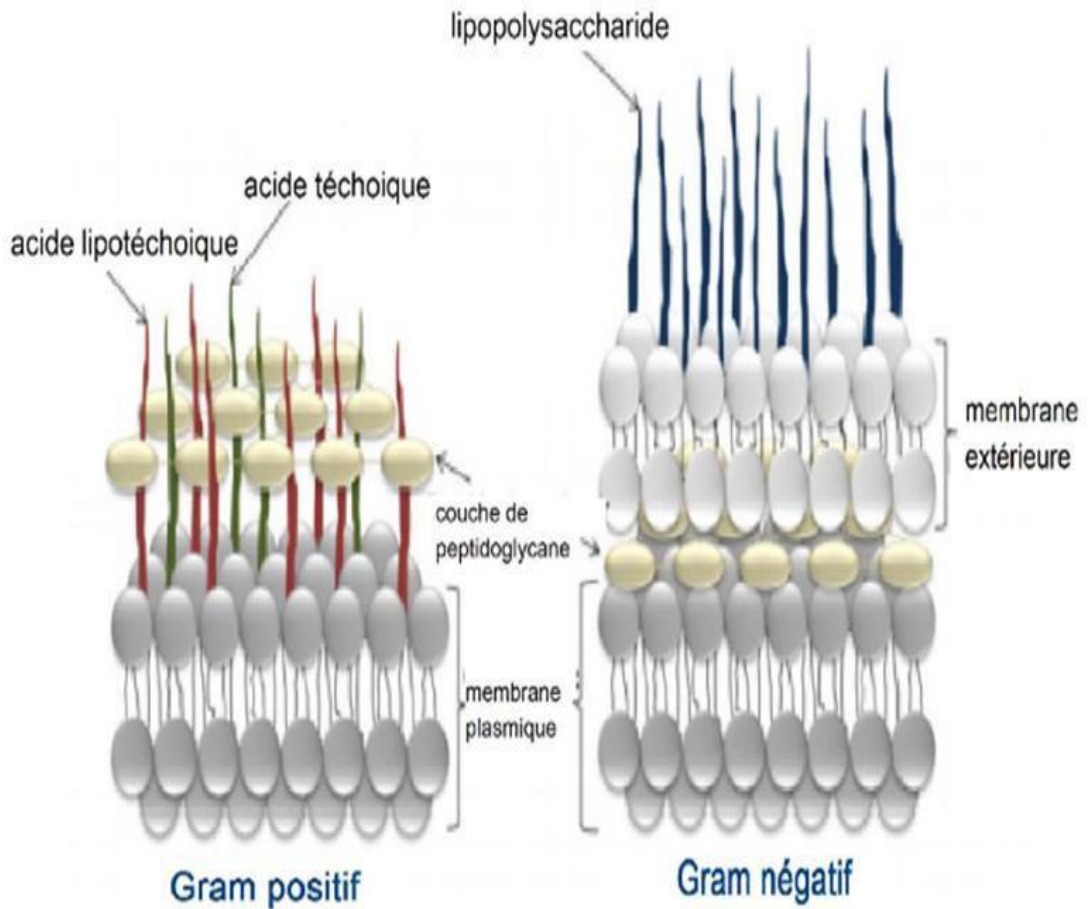


Figure 7 : Paroi bactérienne des bactéries à Gram-négatif et des bactéries à Gram-positif

Partie II

Expérimentation

Les nanoparticules d'oxydes métalliques notamment l'oxyde de zinc, sont apparues comme des candidats prometteurs pour une nouvelle génération de composés actifs. La recherche pour la conception et le développement de nouvelles substances à activité antibactérienne alternatives aux antibiotiques conventionnels constitue un enjeu scientifique très important. Dans ce contexte, le présent travail porte sur l'évaluation de l'activité antibactérienne de nanoparticules d'oxyde de Zinc (ZnO) contre 16 souches bactériennes.

L'ensemble des expérimentations a été réalisé au niveau du laboratoire de Microbiologie, Faculté SNV SNTU Université 8 mai 1945 Guelma laboratoire de Microbiologie, Faculté SNV SNTU- Université 8 mai 1945 Guelma

I. Matériel

I.1. Matériel biologique

I.1.1. Souches bactériennes

Les souches bactériennes ont été procurées du laboratoire de microbiologie de l'institut des sciences médicales ISM- Badji Mokhtar - Annaba. Les souches ont été repiquées sur gélose nutritive et conservées au réfrigérateur à 4°C pour des tests ultérieurs. Le Gram et le pouvoir pathogène de ces micro-organismes sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 4 : Pathogénicité des souches testées.

Souche	Gram	Pouvoir pathogène
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 160404	Gram+	-Toxi-infections alimentaires.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gram -	-Infections nosocomiales. -Infections chez les immunodéprimés.
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	Gram -	-Fièvre typhoïdes et paratyphoïde.
<i>Escherichia coli</i> BLSE	Gram -	-Infections urinaires, diarrhées, cholécystites. -Des infections hospitalières et communautaires.
<i>Escherichia coli</i> mcr1	Gram -	-Infections urinaires -Infections du tractus -Infections nosocomiales
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Gram -	-Gastro entérite infantile.
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Gram+	-Résistants aux acides, ce qui leur permet de passer la barrière stomacale. -Infections urinaires. -Les endocardites lentes ou subaiguës. -Infections des plaies septicémies
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	Gram+	-Infections cutanées : furoncles, abcès. -Infections ORL -Infections des plaies. -Infections urinaires.
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	Gram+	Voir <i>S. aureus</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Gram -	-Abcès pyogènes du foie -Infections intestinales et urinaires -Infections nosocomiales -Infections respiratoires communautaires
<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Carbapenemase</i>	Gram -	-La « super-bactérie » <i>Klebsiella pneumoniae</i> .
<i>Souche clinique</i> BLSE	Gram -	-Bactéries productrices de bêta-lactamases sont responsables d'une résistance aux pénicillines
<i>Elizabeth kingia</i>	Gram -	-Infections du tractus Respiratoire.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gram -	Voir <i>P.aeruginosa</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> VIM	Gram -	-VIM (pour verona IMipénémase) responsable de la résistance à divers B-lactamine - Même pouvoir pathogène de <i>Ps. aeruginosa</i>

I.2. Matériel chimique

Les nanoparticules d'Oxyde de Zinc (NPs de ZnO) sont synthétisées par la technique de précipitation chimique à partir de deux solutions : l'acétate de Zinc déshydraté et l'hydroxyde de sodium.

II. Méthodes

II.1. Synthèse de nanoparticules de ZnO par la méthode de Co-précipitation

Dans un premier temps, préparer deux solutions : acétate de Zinc déshydraté (0,1 M : 5,487g dans un volume de 250 ml de l'eau déminéralisée) et solution de NaOH (0,2 M : 2g dans un volume de 250 ml d'eau déminéralisée) individuellement à une température ambiante. La dissolution se fait sous agitation magnétique à froid durant 1 heure. Par la suite les deux précurseurs (l'acétate de zinc ($\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) et l'hydroxyde de sodium (NaOH)) ont été mélangés instantanément avec des proportions volumiques adéquates (par exemple 25 ml avec 25 ml) sous agitation magnétique continue et sous une température de 60°C pendant deux heures du temps. Au bout de 2 heures, la solution initialement transparente est devenue blanc laiteux. (fig.8 et 9)

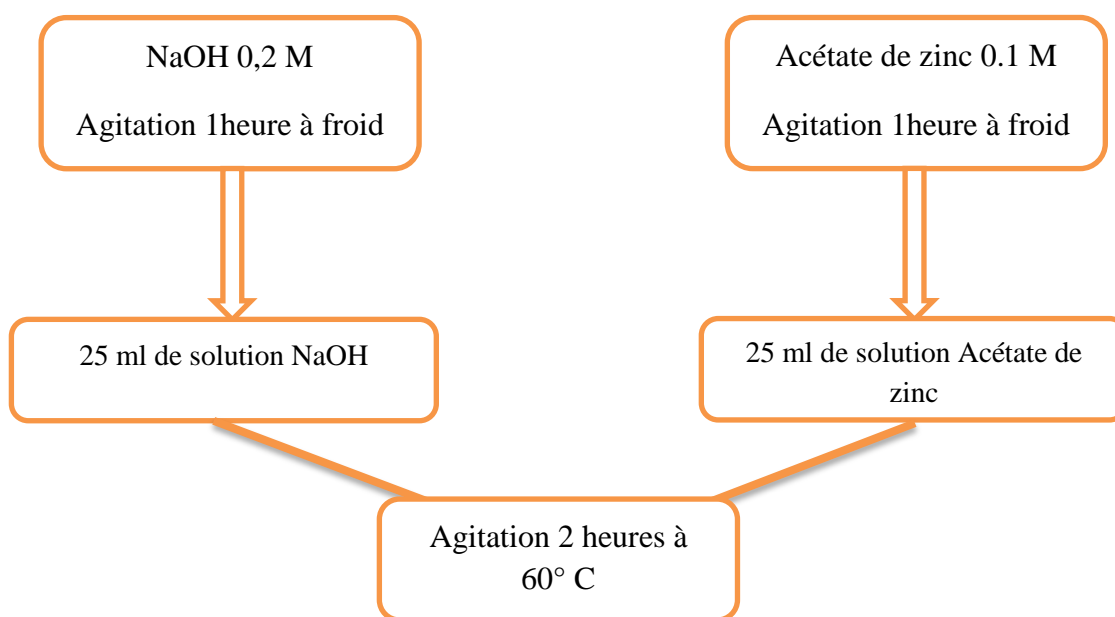


Figure 8: Technique de synthèse des nanoparticules de ZnO.

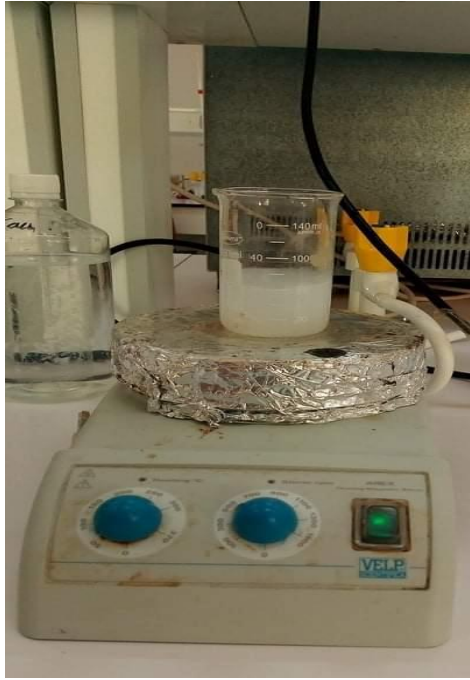


Figure 9 : Suspension de nanoparticules de ZnO.

La solution laiteuse qui en résulte est ensuite centrifugée à 3500 rpm pendant 5 minutes à l'aide d'une centrifugeuse type (Hettich® EBA 21, Germany), pour précipiter les nanoparticules de ZnO. La poudre obtenue a été ensuite lavée plusieurs fois avec de l'eau distillée et de l'éthanol, puis séchée dans une étuve à 60°C pendant une nuit. Enfin, les NPs de ZnO ont été obtenues après avoir soumis la poudre à une calcination dans un four à moufle (Nabertherm, Germany) à 500 °C pendant 4 h. (fig.10).



Figure 10 : La poudre de nanoparticules synthétisée.

II.3. Préparation des souches bactériennes

Pour chacune des souches procurées, un inoculum a été réalisé sur bouillon nutritif, à partir du milieu de conservation puis incubé 24 heures à 37°C. Après 24 heures d'incubation, les différentes souches ont étéensemencées sur gélose nutritive par la méthode des stries, puis incubées dans l'étuve à 37° C pendant 24 heures, afin d'obtenir une culture jeune et des colonies bien isolées servant à préparer d'éventuels inoculum bactériens.

II.4. Activité antibactérienne

II.4.1. Antibiogramme

○ Principe

C'est un technique qui permet de tester la sensibilité d'une [souche bactérienne](#) vis-à-vis d'un ou plusieurs [antibiotiques](#), nous avons appliqué la méthode de diffusion classique de disques d'antibiotiques sur gélose Muller Hinton (MH) qui est un milieu standardisé pour toutes les bactéries sauf quelques souches exigeantes. La méthode consiste à placer des disques d'un ou des antibiotiques chargés d'une dose connue sur une souche bactérienne standardensemencée préalablement dans une boîte de Pétri contenant la gélose MH suivi d'une incubation à 37°C pendant 18 à 24 h ([Joffin et Leyral, 2003](#)).

○ Standardisation de la charge bactérienne

A l'aide d'une anse de platine, quelques colonies ont été prélevées à partir d'une culture fraîche de 18 à 24 heures, puis immerger dans de l'eau physiologique stérile jusqu'à l'obtention d'une charge bactérienne de l'ordre de 0,5 Mc Farland ($\approx 1 \times 10^8$ CFU/ml), équivalente à une densité optique de 0.08 à 0.10 lue à 625 nm, L'ensemencement a été effectué dans la zone stérile et dans les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum.

○ Ensemencement

Le milieu Mueller-Hinton est fondu dans un bain-marie et ramené en surfusion puis coulé dans des boites de Pétri. Après solidification, plonger l'écouvillon stérile dans la suspension et éliminer l'excès de liquide en tournant l'écouvillon sur les parois du tube. Frotter la surface entière de la boîte de Pétri trois fois, en faisant tourner la boîte d'environ 60 ° C entre les stries pour assurer une distribution uniforme.

○ Application des disques d'antibiotique

Les disques d'antibiotiques choisis ont été déposés avec une pince stérile sur la gélose MHensemencée au préalable. Appliquer une légère pression avec une pince ou une aiguille stérile pour assurer un contact complet du disque avec la gélose. Retourner les boîtes et les incuber idéalement dans les 15 min qui suivent le dépôt des disques, sans dépasser 30 min, puis, Incuber 16-24 heures à $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ en aérobiose.

La lecture des résultats se fait par la mesure (en mm), à l'aide d'une règle, du diamètre d'inhibition caractérisé par une zone dépourvue de croissance bactérienne autour du disque. En se référant aux valeurs critiques des antibiotiques (CASFM 2020). Les bactéries sont classées comme étant : sensibles et/ou résistante selon le tableau suivant.

Tableau 5 : Liste des antibiotiques utilisés et leur charge et les diamètres critiques (SFM, 2020).

Antibiotiques	Code	Charge des disques	Diamètres critiques	
			Sensible	Résistante
Amoxicilline	AMX	30 μg	≥ 21	< 14
chloramphénicol	C	30 μg	≥ 22	< 19
Pénicilline G	P	10 μg	≥ 29	< 29
Vancomycine	VA	30 μg	> 17	< 17

II.4.2. Activité antibactérienne des nanoparticules d'oxyde de zinc

L'effet antibactérien des ZnO Nps a été évalué suivant la méthode de diffusion sur puits

○ Principe

Cette technique permet de mesurer la diffusion radiale d'une solution à partir d'un puits, en donnant une zone d'inhibition claire et facilement mesurable. Elle consiste à creuser

des puits dans la gélose, à l'aide de billes en verre stériles d'un diamètre de 8 mm. Un volume de 100µl de la solution de NPs est ensuite introduit dans le puits d'agar perforé et l'incubation est réalisée à une température et une durée optimales en fonction du micro-organisme testé (Das et al., 2010).

○ Mode opératoire (CASFM, 2020)

- ✓ Liquéfier le Muller Hinton (MH) par ébullition puis maintenu à une température de 45 °C jusqu'au moment de l'emploi.
- ✓ À partir d'une culture pure de 18 à 24 h sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide d'une anse de platine flambée et refroidie quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
 - ✓ Bien décharger l'anse dans 2 ml d'eau physiologique stérile.
 - ✓ Bien homogénéiser la suspension bactérienne à l'aide d'un vortex, son opacité doit être équivalente à 0.5 Mc Farland ou à une DO de 0.08 à 0.10 lue à 625 nm.

Pour la préparation des solutions de ZnO

- ✓ Peser à l'aide d'une balance la poudre de NPs de ZnO et la diluer dans le DMSO afin d'obtenir des concentrations de : 50, 200, 400, 600 ,800 et 1000 µg/ml.
- ✓ Faire une sonication dans un bac à ultrason (Bandelin sonorex, Germany) pendant 30 minutes (fig.11).



Figure 11. Sonicateur de type Bandelin sonorex (Germany).

- ✓ Sur des boites de Pétri contenant du MH à une hauteur de 4 mm et semi refroidi, on place des billes en verre stériles d'un diamètre de 8 mm afin de former des puits.
- ✓ Après gélification, les billes sont retirées à l'aide d'une pince flambée.

- ✓ Obtention de puits d'une profondeur adéquate pour introduire les concentrations de NPs de ZnO et les témoins positifs et négatifs.
- ✓ Après ensemencement par écouvillonnage de la suspension bactérienne, 100 µl de chaque concentration des NPs de ZnO sont versée dans les puits correspondants.
- ✓ Incuber les boîtes à $35^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$ pendant 24 h (fig.12). Tous les essais sont réalisés en triplicatas.

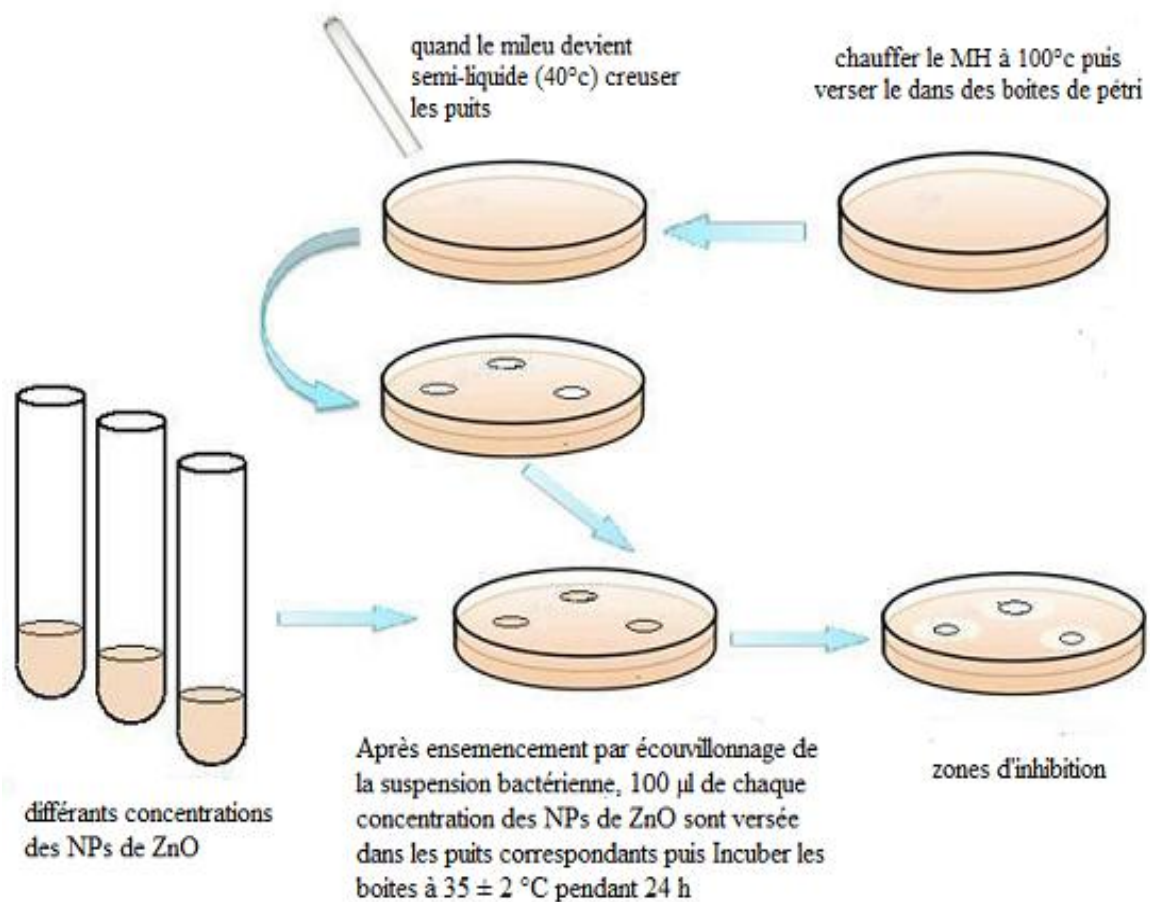


Figure 12. Activité antibactérienne des nanoparticules (méthode des puits).

Résultats et discussion

I. Résultats de l'antibiogramme

Après 24 heures d'incubation de la culture bactérienne en présence des ATBs sélectionnées selon les souches, des zones d'inhibition caractéristiques de l'effet de ces ATBs sont apparues. La mesure du diamètre de ces zones est représentée par le tableau xx et les figures 1.2.3 et 4. Selon les recommandations du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (CA-SFM), on a pu classer les bactéries dans l'une de ces catégories suivantes: Sensible- Résistante -Intermédiaire (Joffin et Leyral, 2003).

D'après le tableau ci-dessous, on constate une divergence dans la réponse des souches vis-à-vis des antibiotiques testés. Cependant, les espèces *Bacillus cereus*, *E. coli* BLSE, souche clinique BLSE, *E. coli mcr1* et *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 se montrent tolérantes vis-à-vis des quatre antibiotiques testés.

Tableau 6: Résultats de l'antibiogramme

Souches	Antibiotique	Diamètre (mm)			Classe clinique	Moyenne	Ecart type
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 160404	Vancomycine (VA)	0	0	0	R	0	0
	Chloramphénicol (C)	15	16	15	R	15,33	0,57
	Pénicilline G (P)	0	0	0	R	0	0
	Amoxicilline (AMX)	0	0	0	R	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	VA	21	22	22	S	21,66	0,57
	C	23	23	23	S	23	0
	P	0	0	0	R	0	0
	AMX	8	7	8	R	7,33	0,57
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	VA	22	22	23	S	22,33	0,57
	C	26	26	26	S	26	0
	P	0	0	0	R	0	0
	AMX	0	0	0	R	0	0
<i>Escherichia coli</i> BLSE	VA	0	0	0	R	0	0

	C	21	21	21	R	21	0
	P	0	0	0	R	0	0
	AMX	0	0	0	R	0	0
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	VA	0	0	0	R	0	0
	C	25	24	25	S	24,66	0,57
	P	0	0	0	R	0	0
	AMX	12	10	10	R	10	1,15
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	VA	0	0	0	R	0	0
	C	32	33	30	S	31,66	1,52
	P	0	0	0	R	0	0
	AMX	16	17	17	R	16,66	0,57
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	VA	21	22	21	S	21,33	0,57
	C	28	29	31	S	29,33	1,52
	P	0	0	0	R	0	0
	AMX	0	0	0	R	0	0
<i>Souche clinique BLSE</i>	VA	12	12	11	R	11,66	0,57
	C	21	22	21	R	21,33	0,57
	P	0	0	0	R	0	0
	AMX	8	7	7	R	7,33	0,57
<i>Escherichia coli mcr1</i>	VA	9	9	10	R	9,33	0,57
	C	13	13	12	R	12,66	0,57
	P	0	0	0	R	0	0
	AMX	7	8	7	R	7,33	0,57

<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	VA	9	9	10	R	9,33	0,57
	C	24	24	22	S	23,33	1,15
	P	0	0	0	R	0	0
	AMX	10	9	9	R	9,33	0,57
<i>K.p.carbapenemase</i>	VA	10	14	10	R	11,33	2,30
	C	13	13	13	R	13	0
	P	7	7	7	R	7	0
	AMX	7	7	7	R	7	0
<i>Elizabeth kingia</i>	VA	35	34	40	S	36,33	3,21
	C	25	22	24	S	23,66	1,52
	P	0	0	0	R	0	0
	AMX	0	0	0	R	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> VIM	VA	25	23	25	S	24,33	1,15
	C	23	23	22	S	22,66	0,57
	P	0	0	0	R	0	0
	AMX	8	7	10	R	8,33	1,52
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> VIM2	VA	15	15	15	R	15	0
	C	23	24	24	S	23,66	0,57
	P	0	0	0	R	0	0
	AMX	7	7	7	R	7	0
<i>BGN BLSE</i>	VA	21	21	21	S	21	0
	C	25	25	25	S	25	0
	P	0	0	0	R	0	0
	AMX	0	0	0	R	0	0

P.A.H	VA	22	21	22	S	21,66	0,57
	C	26	25	25	S	25,33	0,57
	P	0	0	0	R	0	0
	AMX	0	0	0	R	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	VA	15	17	20	S	17,33	2,51
	C	21	22	21	R	21,33	0,57
	P	0	0	0	R	0	0
	AMX	0	0	0	R	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	VA	26	25	26	S	25,66	0,57
	C	23	23	22	S	22,66	0,57
	P	0	0	0	R	0	0
	AMX	7	7	8	R	7,33	0,57

I.1. Activité antibactérienne de l'amoxicilline

D'après la présentation graphique ci-dessous, on remarque que l'action de l'amoxicilline diffère d'une bactérie à une autre et plus de la moitié des souches sont résistantes à l'égard de cette drogue avec des diamètres d'inhibition qui s'échelonnent entre 7 et 14 (fig.13). En revanche une action positive est signalée contre la souche *S. aureus* ATCC 43 300.

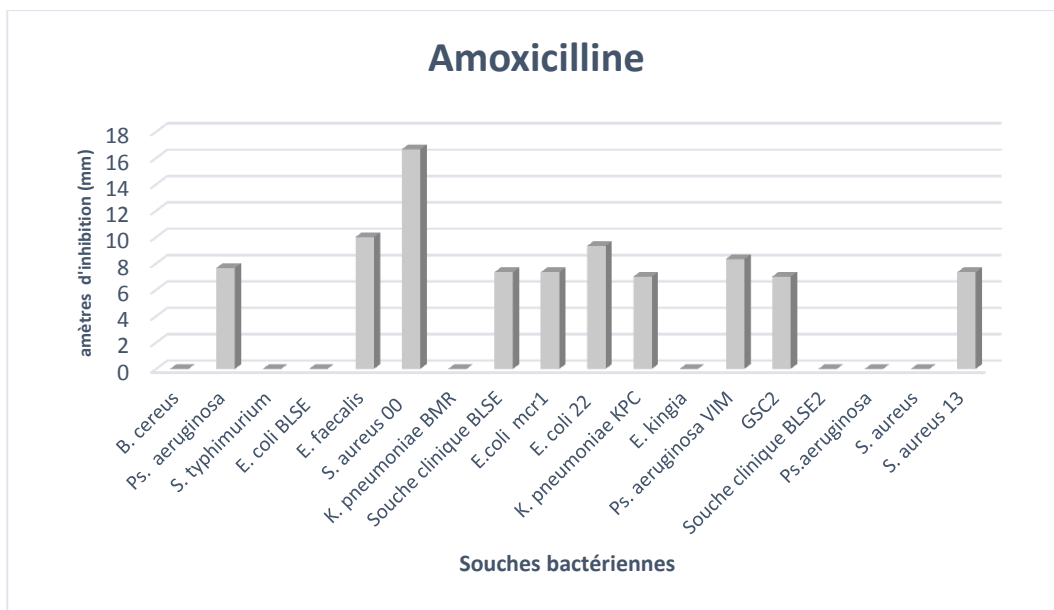


Figure 13 : Pouvoir antibactérien de l'amoxicilline.

I.2. Activité antibactérienne de la pénicilline G

Nos résultats illustrés par la figure 14, montrent que la pénicilline G ne présente aucune efficacité sur l'ensemble des souches bactériennes testées.

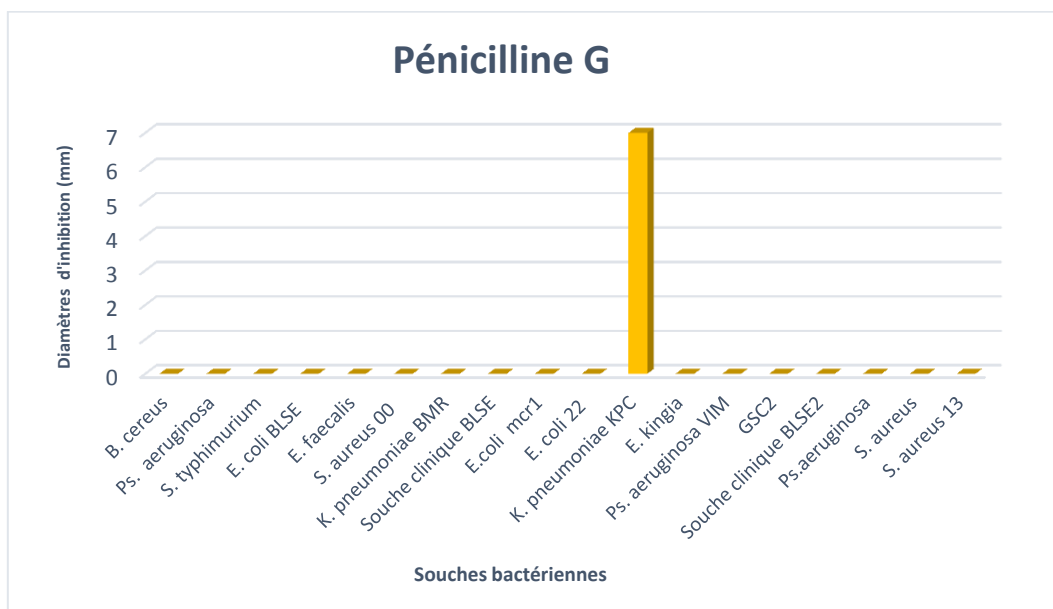


Figure 14 : Pouvoir antibactérien de la pénicilline G

I.3. Activité antibactérienne du chloramphénicol

En se basant sur les diamètres critiques de l'SFM (2020), on peut dire que seules les souches *Bacillus cereus* ATCC 160404, *E.coli* mcr1 et *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase sont résistantes. Les souches restantes présentent des zones d'inhibition généralement supérieures à 21 mm.

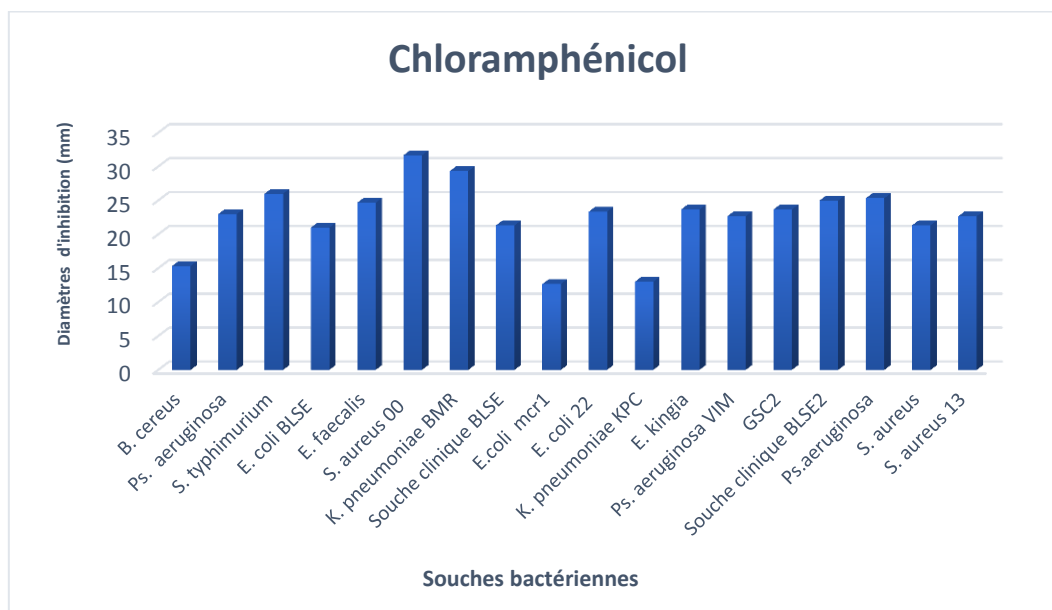


Figure 15 : Pouvoir antibactérien du chloramphénicol.

I. 4. Activité antibactérienne de la vancomycine

Sur la totalité de 18 souches testées, la vancomycine se montre inactif contre 11 souches, les zones d'inhibition relatives sont inférieures à 17 mm.

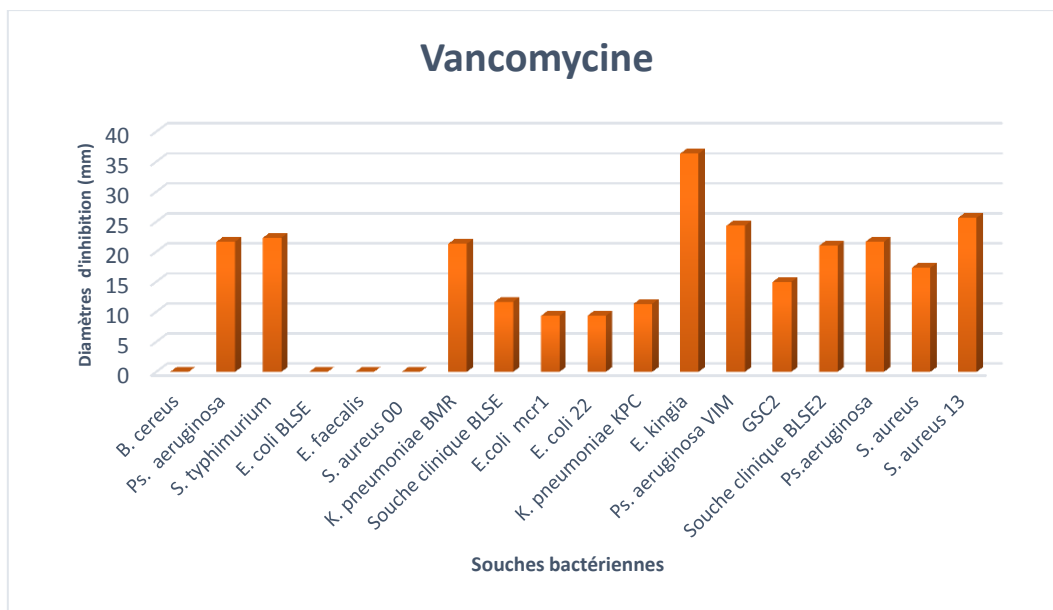
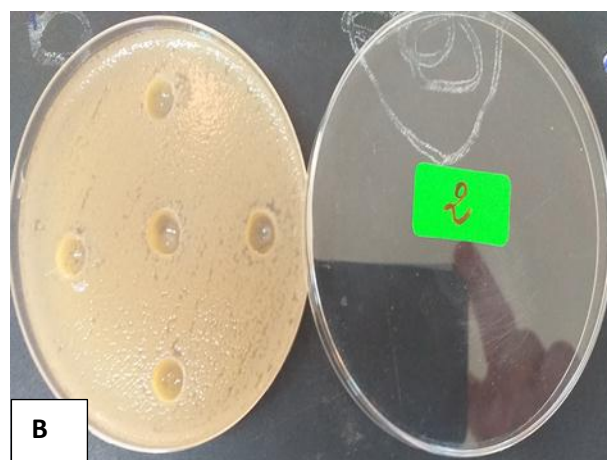
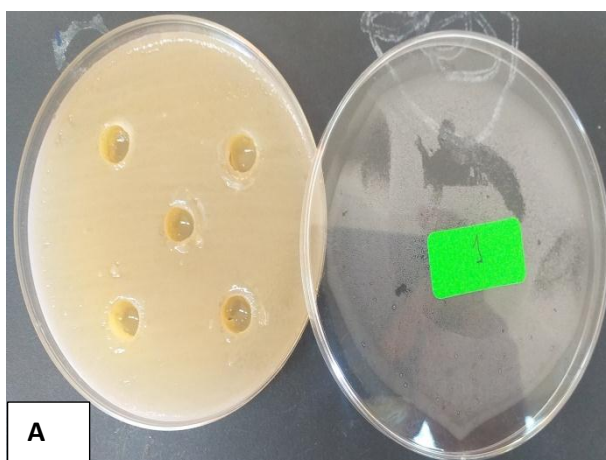


Figure 16: Pouvoir antibactérien de la vancomycine.

II Résultats de l'activité antibactérienne des nanoparticules

Nos expérimentations réalisées dans le but de trouver un autre moyen de lutte contre la résistance bactérienne aux antibiotiques, montrent que les nanoparticules de Zn O appliquées par la méthode de diffusion sur puits avec différentes concentrations allant de 50 à 1000µg/ml n'exercent aucun effet positif sur les souches sélectionnées. Les résultats de son présentés par les figures (fig17.18.19)



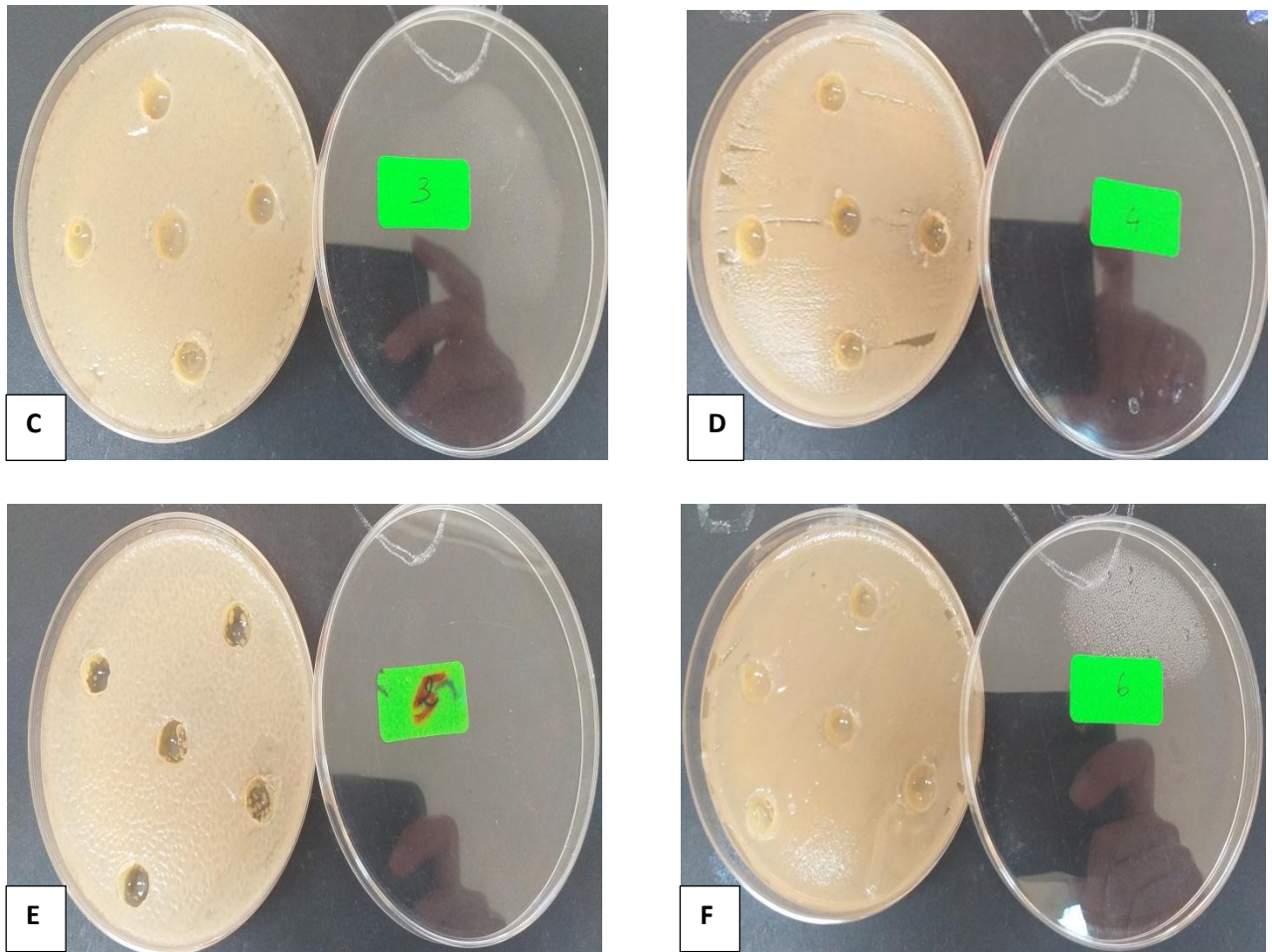
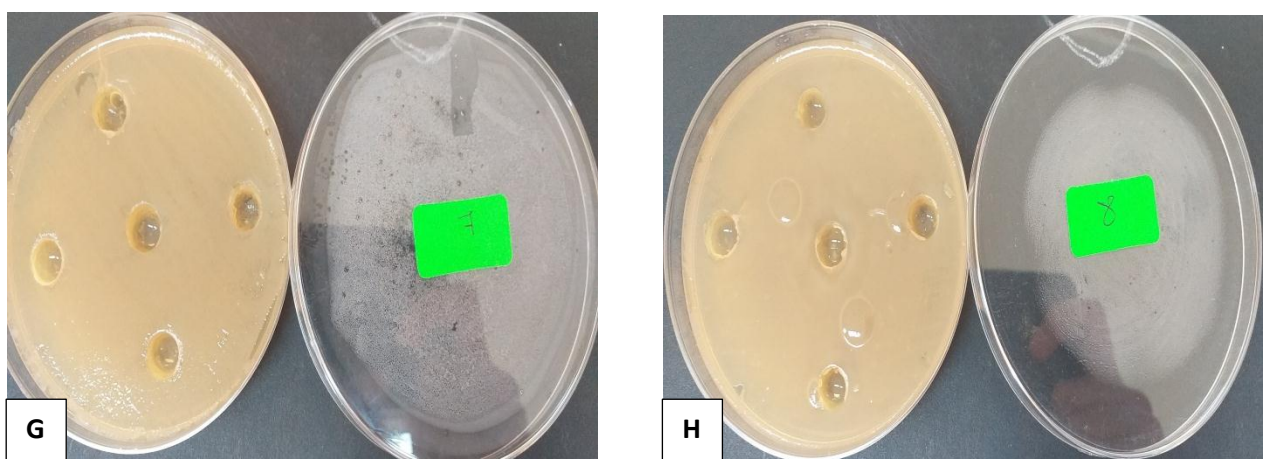


Figure 17 : Profils de l'action des nanoparticules sur les souches **A** *bacillus*, **B** *Pseudomonas aeruginosa*, **C** *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, **D** *Escherichia coli* BLSE, **E** *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, **F** *Staphylococcus aureus* ATCC 29213.



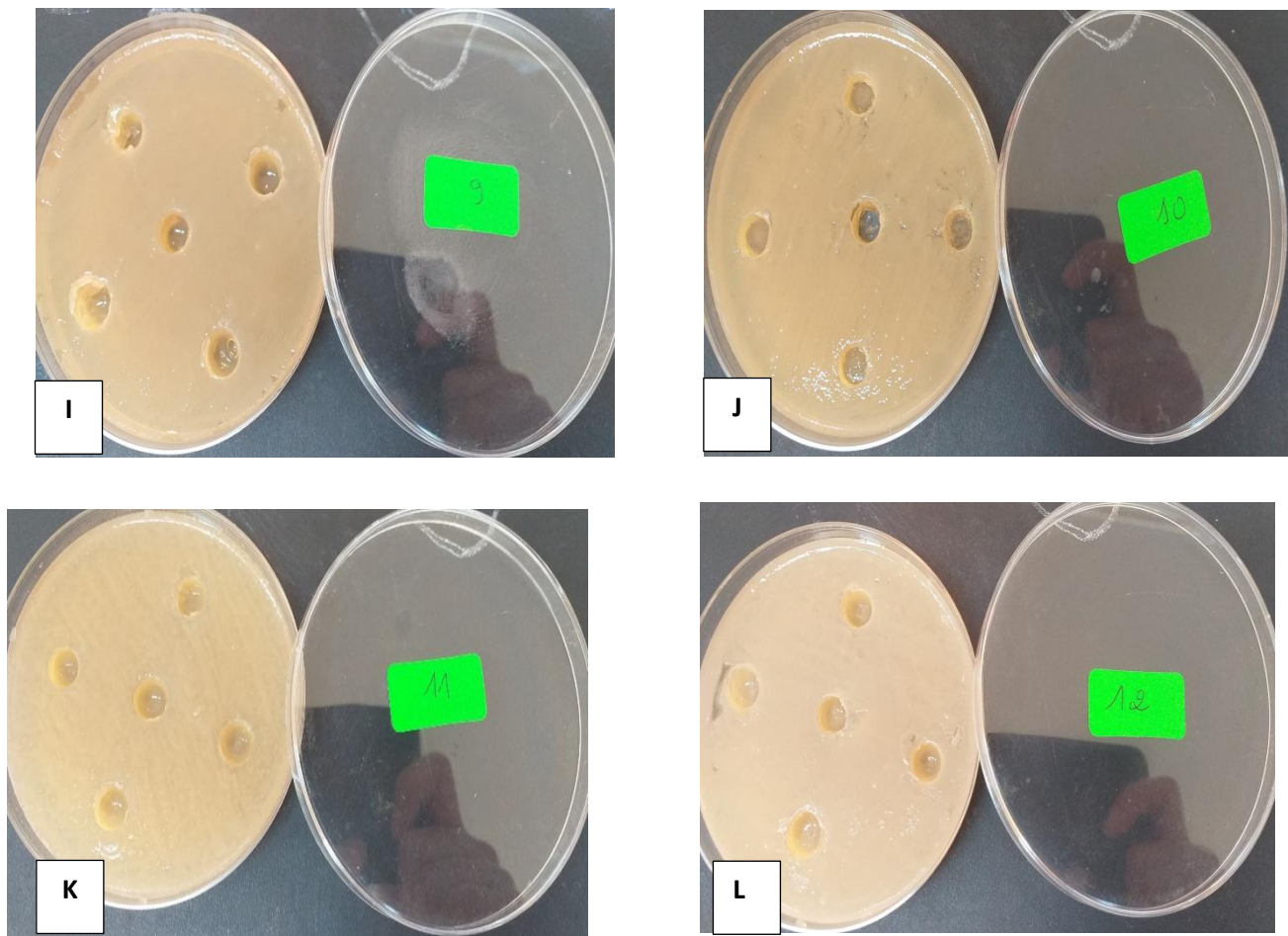
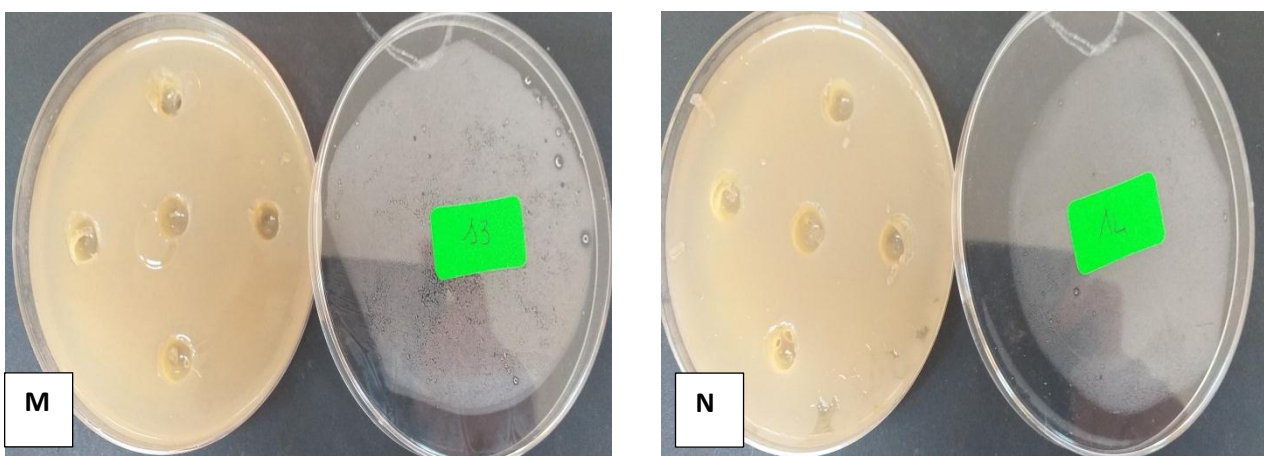


Figure 18 : Profils de l'action des nanoparticules sur les souches **G** *Klebsiella pneumoniae*, **H** Souche clinique BLSE, **I** *Escherichia coli* mcr1, **J** *Escherichia coli* ATCC 25922, **K** *K.p.carbapenemase*, **L** *Elizabeth kingia*.



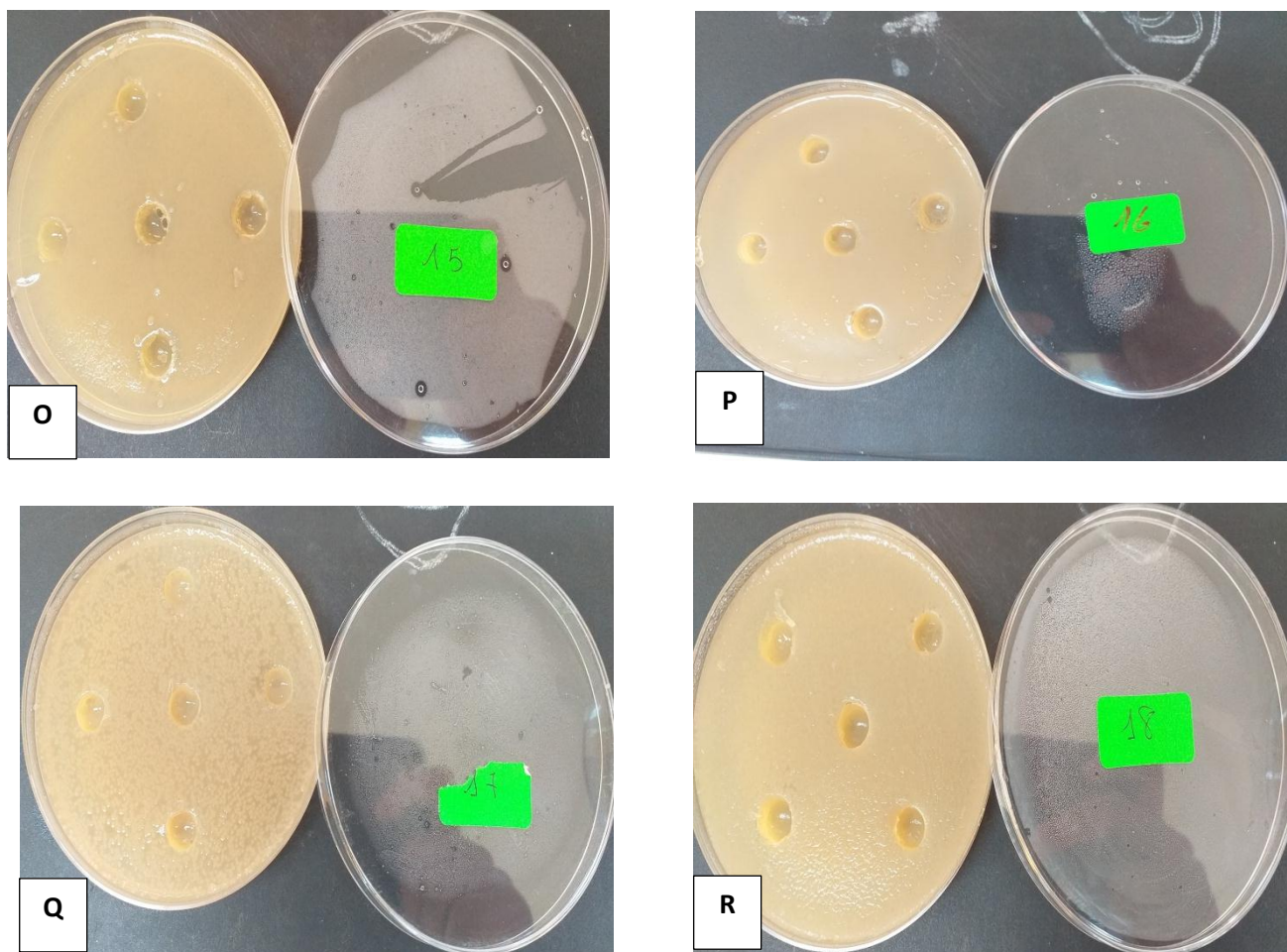


Figure 19 : Profils de l'action des nanoparticules sur les souches **M** *Pseudomonas aeruginosa* VIM, **N** *Pseudomonas aeruginosa* VIM2, **O** BGN BLSE, **P** P.A.H, **Q** *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, **R** *Staphylococcus aureus*.

Discussion

Nos résultats d'antibiogramme montrent la résistance nette des souches testées vis-à-vis d'un ou plus de deux antibiotiques. Ce phénomène constitue une véritable inquiétude. Les bactéries résistantes à plusieurs antibiotiques sont classées en fonction du nombre de famille d'antibiotiques n'ayant plus d'activité sur elles. Par ce mode de classification basé sur le phénotype des bactéries, on distingue les multi résistances de type MDR (Multi Drug resistant), XDR (Extensive Drug resistant) et PDR (Pandrug resistant). Selon l'ECDC (European Center for Disease prevention and Control) (2011), les bactéries multi résistantes de type MDR se définissent comme résistantes à au moins trois familles différentes d'antibiotiques. Les multirésistants de type XDR se caractérisent par leur sensibilité à une seule famille d'antibiotique préconisée pour leur traitement. Enfin, les bactéries multi résistantes de type PDR sont résistantes à toutes familles d'antibiotiques disponibles (Magiorakos et al., 2011).

L'acquisition des gènes de multi résistance se fait majoritairement par transferts génétique, il arrive même dans le cas d'une mutation chromosomique, la mutation affecte les porines et cela induit des résistances simultanées comme par exemple celles aux β -lactamines chez des souches de *Pseudomonas aeruginosa*. On note aussi par ce même mécanisme des résistances simultanées aux β -lactamines, aux quinolones, au chloramphénicol et au niveau des souches de *Klebsiella spp.*

La relation entre l'usage des antibiotiques et l'augmentation du nombre de souches bactériennes résistantes a été également révélée lors d'une autre étude dans des hôpitaux des Etats-Unis. Il s'agit d'une étude qui met en évidence l'augmentation du taux des *Staphylococcus* initialement résistants à la méthicilline devenus résistants à la vancomycine après une consommation accrue de cet antibiotique). Ces observations ont également été faites sur l'évolution de la résistance à l'imipénème des *Klebsiella* initialement résistants aux céphalosporines en fonction de la quantité de cet antibiotique consommée (Aboya Moroh, 2014).

De même, de nombreuses souches de staphylocoques dorés (*Staphylococcus aureus*), à l'origine d'abcès ou de septicémies, sont devenues multi-résistantes. Elles sont insensibles à plusieurs antibiotiques, y compris à la **vancomycine**, qui était, encore très récemment, utilisée comme le médicament du dernier recours. La situation est identique pour les entérocoques

(*Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*), des bactéries présentes normalement dans l'intestin, qui peuvent aussi causer de graves endocardites et septicémies.

Aux niveaux physiologique et moléculaire, la résistance bactérienne est attribuée à :

- la diminution de la concentration intracellulaire en antibiotique par diminution de la perméabilité membranaire et/ou sur-activation de l'efflux bactérien (fig. xxx)
- l'inactivation des antibiotiques par dégradation ou modification enzymatique et l'altération de leurs cibles cellulaires.

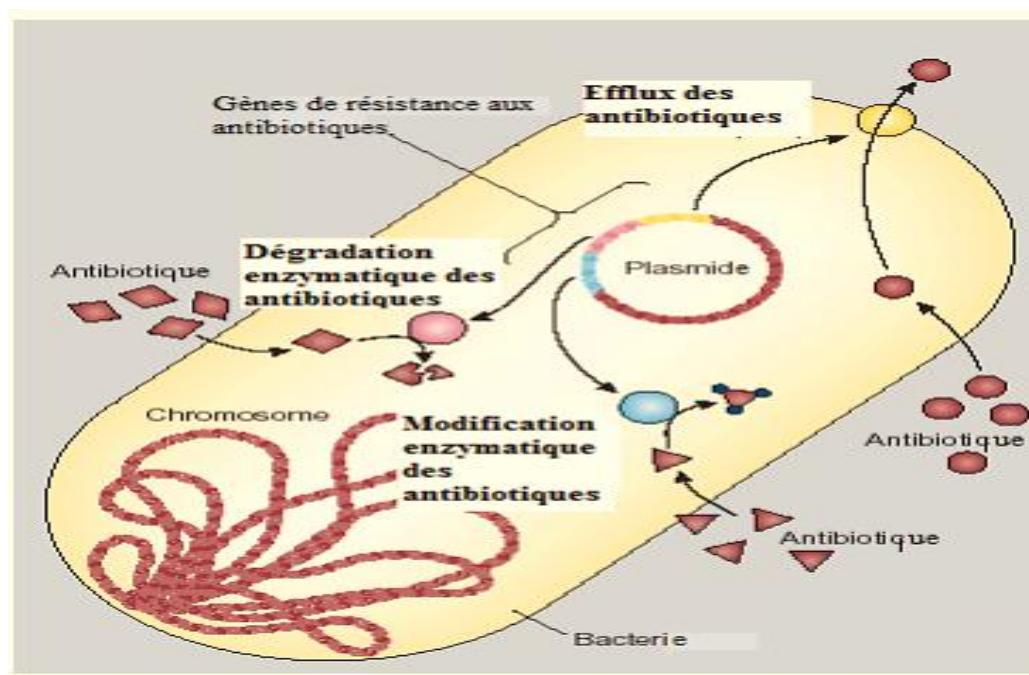


Figure 20 : Modes de résistance bactérienne aux antibiotiques (Levy et Marshall, 2004)

En comparant l'activité antibactérienne des nanoparticules d'oxyde de zinc avec celle de l'antibiotique : on distingue que ces molécules synthétisées ne présentent aucun effet inhibiteur contre les 18 souches testées, contrairement aux antibiotiques qui ont donné des effets divers mais positifs pour la majorité. L'effet des NPs reste encore mal connu précisément jusqu'à l'heure actuelle. Le présent travail ne concorde pas avec un ensemble de travaux qui rapportent un pouvoir antibactérien potentiel des nanoparticules et particulièrement celles d'oxyde de zinc.

L'étude d'Aldeen *et al.* (2022) indique que les NPs ZnO ont une activité antibactérienne importante avec des zones d'inhibition maximales de 21,4 mm pour *S. typhi*, 15,8 mm pour *E. coli*, 15,1 mm pour *S. pneumoniae* et 15 mm pour *S. aureus*. D'après ces résultats on observe

que l'échantillon biosynthétisé présentait de meilleurs résultats contre les bactéries Gram⁻ négatives par rapport aux bactéries Gram-positives. Ce résultat était cohérent avec ceux rapportés précédemment et peut être attribué à l'épaisseur de la paroi cellulaire bactérienne [4, 20]. Les bactéries Gram-positives ont une paroi cellulaire épaisse avec un peptidoglycane couche, ce qui les rend plus résistantes que les bactéries Gram-négatives. Un autre facteur est l'interaction entre les ions Zn chargés positivement et la surface chargée négativement des bactéries Gram-négatives. L'étude de [Aysa et al., \(2016\)](#) ont testé l'activité de 3 concentrations de NPs ZnO (20-30-40 µg/mL) contre trois isolats de *Pseudomonas aeruginosa* par la technique de diffusion d'agar. Les résultats obtenus étaient meilleurs avec une zone d'inhibition de 35,5 mm à une concentration de 40 µg/ml et 33,2 mm sont obtenues avec les concentrations de 30 µg/ml, tandis que la zone d'inhibition la plus faible était de (16 mm) à une concentration de 20 µg/ml. Respectivement. Ses résultats confirment que le ZnO a une activité antibactérienne et que l'augmentation de la concentration de l'agent nano ZnO entraîne une augmentation des zones d'inhibitions.

Par ailleurs, [Sedira et al. \(2014\)](#) ont montré que l'ajout de nanoparticules de ZnO et l'acide acétique améliorer l'effet bactéricide des Ag NPs contre *P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumonia* et *S. aureus*. Dans le même sens l'étude de [Selvinsimpson et al. \(2021\)](#) testant l'activité antibactérienne de nanoparticules dopées à 5% de Sn sur les souches *S. typhi*, *K pneumoniae* et *V. cholerae* indique que la taille et la morphologie influencent significativement l'effet bactéricide. En effet, Les nanoparticules de ZnO dopées à 5% de Sn produisent un radical oxygène toxique et pénètrent dans le puits du micro-organisme qui en résulte dans le contrôle efficace de la croissance bactérienne ([Sharifalhoseini et al., 2015](#)). Les ions Zn et Sn chargés positivement se lient aux bactéries chargées négativement dans l'intracellulaire et entraînent la mort.

L'étude de [Vidic et al. \(2013\)](#) indique que les nanoparticules de ZnO appliquées avec de concentrations variant de (0,001-1 mg/ mL) contre *E. coli* et *B. subtilis* en milieu LB durant 5h de traitement inhibent la croissance des deux bactéries. Par contre, l'incubation des bactéries pendant 5 h avec les NPs MgO a entraîné un taux relativement faible d'inactivation de la croissance bactérienne pour une concentration inférieure 1 mg/mL.

Dans une autre étude, [Vidic et al. \(2013\)](#) explorent les effets antibactériens des nanopoudres de ZnO, MgO et ZnMgO sur la croissance des bactéries *E. coli* (Gram négative) et *B. subtilis* (Gram positive), Après 24h d'incubation, le complexe ZnMgO inhibe

complètement *B. subtilis* et partiellement *E. coli*. Cela suggère qu'il y a une sélectivité entre les bactéries de type Gram positive contrairement aux cellules traitées au ZnO où les deux types de bactéries ont été détruits. Cette spécificité est probablement due à la différence des structures membranaires des deux types de bactéries.

En guise de conclusion, L'effet négatif des NPs est attribué à des facteurs mal compris tels que la compétence des souches bactériennes, temps d'incubation, la taille et la morphologie des nanoparticules.

Conclusion et perspectives

La principale cause de la résistance bactérienne résultant de l'utilisation prolongée d'antibiotiques est aujourd'hui considérée comme l'une des menaces les plus graves pour la santé mondiale, cela nuit à notre capacité à traiter les maladies les plus infectieuses.

Ce travail nous a permis de mettre en évidence l'activité antibactérienne des nanoparticules (NPs) du monoxyde de zinc (ZnO) synthétisées par méthode de Co-précipitation chimique à partir de deux solutions : zinc déshydraté (0,1M) et hydroxyde de sodium (0,2M) pour arriver à la calcination.

En guise de conclusion on peut dire que :

- Les résultats de l'antibiogramme effectué avec 4 antibiotiques (Chloramphénicol, amoxicilline, vancomycine et la pénicilline G) contre 18 souches bactériennes testées à savoir : *Bacillus cereus* ATCC 160404, *E. coli* BLSE, *E. coli* ATCC 259 22, *E. faecalis* ATCC 29212, souche clinique 1 et 2 BLSE, *E. coli mcr1*, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *S. aureus* ATCC 43 300, *S. aureus K. pneumoniae* BMR, *K. pneumoniae* KPC, *Elizabeth kingia*, *Ps. aeruginosa* ATCC 278 53, *Ps. aeruginosa* VIM et VIM2 et *S. typhimurium* ATCC 14028, montrent la résistance des souches à un ou plus de deux antibiotiques citons l'exemple de la pénicilline G qui était inactive contre l'ensemble des souches. La même chose est constatée pour l'amoxicilline, seule la souche *S. aureus* ATCC 43 300 s'est manifestée sensible à l'égard de cette antibiotique. Pour les chloramphénicols seuls les souches *Bacillus cereus* ATCC 160404, *E.coli mcr1* et *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase sont résistantes. Et enfin, pour la vancomycine, sur les 18 souches testées, 11 s'avèrent résistantes. Par conséquent l'ensemble des souches peuvent être classées comme MDR (Multi Drug Resistant).

- Les nanoparticules d'oxyde de Zinc (ZnO) appliquées contre les souches bactériennes à des concentrations de 50, 200, 400, 600, 800 et 1000µg/ml par méthode de diffusion sur puit ne présentent aucune efficacité antibactérienne qui pourrait être attribué à des facteurs mal compris tels que la compétence des souches bactériennes, temps d'incubation, la taille et la morphologie des nanoparticules synthétisées. Cela n'enlève rien à son efficacité et leur activité antibactérienne relevées par de nombreuses recherches et études qui montrent leur potentiel effet contre les bactéries à de faibles concentrations.

En perspectives, il serait judicieux de :

- Faire une caractérisation des nanoparticules d'oxyde de zinc par des méthodes plus développées ;
- Faire des tests sur des biofilms qui constituent des structures qui peuvent protéger les bactéries qui les composent contre les attaques des agents antimicrobiens, ses tests seraient très intéressants surtout pour le domaine hospitalier ;
- Tester l'activité antibactérienne de NPS de ZnO en association avec les rayons ultraviolets (UV) sur d'autres souches bactériennes ;
- Tester l'effet antibactérien de nanoparticules synthétisées à base des huiles et extraits de plantes médicinales ;
- Evaluer l'effet antimicrobien de d'autres types de nanoparticules.

Références bibliographiques

Adams L.K., Lyon D.Y., Alvarez P.J. (2006). Comparative eco-toxicity of nanoscale tio₂, sio₂, and zno water suspensions. *Water Rev.*, 40, 3527-3532.

AFSSA (2010). Agence française de sécurité sanitaire des aliments. Avis du 27 mai 2010 relatif à la pertinence d'une révision de la définition des STEC pathogènes, précisée par l'avis Afssa du 15 juillet 2008. Maisons-Alfort: Afssa 19p.

Aldeen T. S., Ahmed Mouhamed H. E., Maaza M. (2022). ZnO nanoparticles prepared via a green synthesis approach: Physical properties, photocatalytic and antibacterial activity. *Journal of physics and chemistry of solids*.

Anagnostakos K., Hitzler P., Pape D., Kohn D., Kelm J. (2008). Persistence of bacterial growth on antibiotic-loaded beads: is it actually a problem? *Acta Orthop* .79(2): 302-307.

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. 7-24.

Applerot G. N., Perkas G., Amirian O., Girshevitz., Gedanken A. (2009). "Coating of glass with ZnO via ultrasonic irradiation and a study of its antibacterial properties," *Applied surface science*, vol. 256, pp. S3-S8.

Avorn J. L., Barrett, J.F., Davey P. G., McEwen S. A., O'Brien T. F., Levy S. B. (2001). Organisation mondiale de la santé (OMS). Antibiotic resistance: synthesis of recommendations by expert policy groups: alliance for the prudent use of antibiotics, 2001.

Aysa N. H., Salman H.D. (2016). Antibacterial activity of modified zinc oxide nanoparticles against *Pseudomonas aeruginosa* isolates of burn infections. *World Scientific News*.

Berkane F., Chanti R. (2017). Contribution à l'étude de l'effet des nanomatériaux sur les bactéries, Université des Frères Mentouri Constantine, Algérie. P1.

Bertrand X., Costa Y., Pina P. (2005). Surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques dans les bactériémies : données de l'observatoire national de l'épidémiologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques (ONERBA). *Med. Maladies. Infect.* 35 (6) : 329–334.

- Bouhalata R., Ghouar H. (2021).** Activités biologiques des nanoparticules : Activité antimicrobienne du ZnO. Mémoire master Université Larbi Ben M'Hidi Oum el Bouaghi.
- Bush K., Courvalin P., Dantas G. (2011).** Tackling antibiotic resistance. *Nat.Rev. Microbiol.* 9(12) : 894-6.
- Carattoli A. (2001).** Importance of integrons in the diffusion of resistance. *Veterinary Research.* 32, 243-259.
- CASFM (2020).** Comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie.
- CDC (2022).** The Centers for Disease Control and Prevention. « Campaign to prevent antimicrobial resistance in healthcare settings ». <http://www.cdc.gov/drugresistance/healthcare/ha/slideset.htm> (consulté le 01 avril 2022).
- Chopra I., O'Neill A. J., Miller K. (2003).** The role of mutators in the emergence of antibiotic-resistant bacteria. *Drug Resistance Updates,* 6(3), 137-145.
- CPP. (2020).** Comité de la Prévention et de la Précaution. Nanotechnologie – Nanoparticules : Quels dangers, quels risques ? Rapport du Comité de la Prévention et de la Précaution (CPP), [PDF], disponible sur : <https://www.ecologique-solidaire.gouv.fr/comite-prevention-et-precaution>, page consultée le 29/04/2020.
- Courvalin P., Denis F., Ploy M. C., Garilhe M. P. D., Trieu-Culot P et Universalis. (2001).** "Antibiotiques. "Retrieved 24 mai, 2013, from <http://www.universalisedu.com/encyclopedie/antibiotiques/>.
- Couvreur P., Puisieux F. (1993).** Nanoparticles and microparticles for the delivery of polypeptides and proteins. *Advanced Drug Delivery Reviews,* 10(2-3):141–162.
- Dadi R. (2019).** Synthèse de nanoparticules d'oxydes métalliques et leur activité antibactérienne. Thèse de doctorat, Université Paris-Nord-Paris XIII
- Das K., Tiwari R.K.S., and Shrivastava D., (2010).** Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends. *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 4(2), pp. 104-111, 18 January, 2010.
- Davies J. E. (1997).** Origins, acquisition and dissemination of antibiotic resistance determinants. In *Ciba Found Symp* Vol. 207, pp. 15-27.
- Doumbia A. S. (2012).** Développement de filaments nanocomposites à base de polylactide PLA : Application aux textiles antibactériens. Thèse de Doctorat. Université Lille 1.

- Fan Z., Lu J. G. (2005).** Zinc oxide nanostructures: synthesis and properties. *J. Nanosci.Nanotechnol.*;5(10):1561–1573
- George G., Khachatourians B. A. (1998).** Agricultural use of antibiotics and the evolution and transfer of antibiotic-resistant bacteria. *Canadian Medical Association.*159, 1129-1136.
- Goutayer M. (2008).** «Nano-émulsions pour la vectorisation d'agents thérapeutiques diagnostiques ; étude de la biodistribution par imagerie de fluorescence in vivo», Thèse de doctorat, Université Pierre et Marie Curie.
- Hajipour M. J., Fromm K. M., Ashkarran A. A., Aberasturi D. J., Larramendi I. R., Hansen SF, (2009).** Regulation and Risk Assessment of Nanomaterials – Too Little, Too Late? Thèse de doctorat, Université technique du Danemark, p 130.
- ICON. (2008).** Towards Predicting Nano-Biointeractions: An International Assessment of Nanotechnology Environment, Health and Safety Research Needs. International Council on Nanotechnology, Number 4, May 1, 2008, p 80.
- INRS (2022).** Nanomatériaux, nanoparticules, Effets sur la santé page 14–15
- Joffin J.N. and Leyral G., (2003).** Microbiologie technique : Dictionnaire des techniques. CRDP d'Aquitaine. 3ème édition. Bordeaux. 320p. ISBN: 2-86617-387-2.
- Julie B. (2014).** Utilisation raisonnées des antibiotiques en élevage porcin, démarche d'accompagnement dans sept élevages, science vétérinaire, école nationale vétérinaire d'Alfort, p11.
- Kulkarni S. B., Patil U. M., Salunkhe R. R., Joshi S. S., Lokhande C. D. (2011).**"Temperature impact on morphological evolution of ZnO and its consequent effect on physico-chemical properties," *Journal of Alloys and Compounds*, vol. 509, pp. 3486-3492, 2011/02/24/.
- Lakhdari M. (2009).** Elaboration et caractérisation physico-chimique de nanostructures d'oxyde de Zinc (ZnO) en vue d'applications photoélectrocatalytique, thèse doctorat, Université Ferhat Abbas Setif-1, Algérie.
- Lanone S., Boczkowski J. (2010).** Les sources de nanoparticules. *Rev .Fr. Allergol.* 50 (3): 211– 213.

- Levy S. B., Marshall B. (2004).** Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. *Nat .Med.*10 (12):S122–9.
- Lu L., Sui M. L., and Lu K. (2000).** Superplastic extensibility of nanocrystalline copper at room temperature. *Science*, 287(5457):1463–1466.
- Mali Z. (2019).** Résistance bactérienne aux antibiotiques en urologie. Thèse de doctorat. Université Mohammed v de rabat.
- Meskin A., Benabdelkader Lina. (2016).** Etude de la résistance et la multirésistance aux antibiotiques de souches isolées du milieu hospitalier, Université des Frères Mentouri Constantine, Algérie, p17.
- Messai A. (2006).** Analyse Critique des Pratiques de L’antibiothérapie en Elevages Avicoles. Graduation of Magister in Veterinary Medicine, Option Pathology, Specialty Poultry and Avian Pathology, University Mentouri, Constantine, Algeria.
- Murthy R.M. (2001).** Implementation of Strategies to Control Antimicrobial Resistance. *Chest.*;119(2):405S-411S. doi:10.1378/chest.119.2.
- OMS (2017).** Organisation mondiale de la santé, Qu’est-ce que la résistance aux antimicrobiens?, juillet 2017.
- Poole J. C. P., Owens F. J. (2003).** Introduction to nanotechnology. *JWS*.
- Qi K., Daoud W., Xin J. C. L. M., Tanga, W., Cheunga W. (2006).** Selfcleaning cotton. *Journal of Materials Chemistry*, 16:4567–4574.
- Raghupathi K. R., Koodali R. T., Manna A. C. (2011).**Size-dependent bacterial growth inhibition and mechanism of antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles. *Langmuir*, 27, 40204028.
- Reddy K.M., Feris K., Bell J., Wingett D. G., Hanley C., Punnoose A. (2007).** Selective toxicity of zinc oxide nanoparticles to prokaryotic and eukaryotic systems. *Applied physics letters*.
- Ricaud M., Witschger O. (2012).** Les nanomatériaux : Définitions, risques toxicologiques, caractérisation de l’exposition professionnelle et mesures de prévention. Institut National de Recherche et de Sécurité.

- Rojo T., Mahmoudi M. (2012).** Antibacterial properties of nanoparticles. *Trends Biotechnol.* 30(10) :499-511.
- Rokbani H. (2018).** Élaboration de nouveaux matériaux nanocomposites antibactériens à base de nanoparticules d'oxyde de zinc. Thèse de Doctorat. École Polytechnique de Montréal.
- Rybak M.J. (2004).** Bacterial resistance to antimicrobial agents: An update. *Pharmacotherapy*; 24, 12 pt 2.
- Sedira S., Ayachi A. A., Lakehal S., Fateh M., Achour S. (2014).** Silver nanoparticles in combination with acetic acid and zinc oxide quantum dots for antibacterial activities improvement-A comparative study. *Applied surface science*.
- Selvinsimpson S., Gnanamozhi p., Pandiyan V., Govindasamy M., Mohamed A., Habila M. A., AlMasoud N., Chen Y. (2021).** Synergetic effect of Sn doped ZnO nanoparticles synthesized via ultrasonication technique and its photocatalytic and antibacterial activity. *Environmental Research*.
- Shi, Z.-H., Zheng L. W., Zhao Y.-F., Jin Y.-F., Tang Z.-X. (2014).** "Synthesis, antibacterial activity, antibacterial mechanism and food applications of ZnO nanoparticles: a review," *Food Additives & Contaminants: Part A*, vol. 31, pp. 173-186.
- Simonsen G. S., Tapsall J. W., Allegranzi B., Talbot E. A., Lazzari S. (2004).** The antimicrobial resistance containment and surveillance approach – a public health tool. *Bulletin of World Health Organization*;82:928-34.
- Sirelkhatim A., Mahmud A., Seeni N. H. M., Kaus L. C., Ann S. K. M., Bakhori., et al., (2015).** Review on zinc oxide nanoparticles: antibacterial activity and toxicity mechanism. *Nano-Micro Letters*. 7, 219-242.
- Stephanie F. (2009).** Transfert d'un gene de resistance aux beta-lactamines blaCTX-M-9 entre Salmonella et les enterobacteries de la ore intestinale humaine : inuence d'un traitement antibiotique. Medication.Universite Rennes 1.French.
- Stoimenov P.K., Klinger R. L., Marchin G. L., Klabunde K. J. (2002).** Metal oxide nanoparticles as bactericidal agents. *Langmuir*, 18(17), 6679-6686.
- Sylvie-Carle. (2009).** La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important. *Pharmactuel*. 42 : 6-21.

Torche S., Bensegueni L. (2020). Les antibiotiques, Pharmacologie spéciale, Institut des sciences vétérinaires, Université Mentouri Constantine 1, Algérie, p1.

Vidic J., Stankic S., Haque F., Ciric D., Le Goffic R., Vidy A., ... et Delmas B. (2013). Selective antibacterial effects of mixed ZnMgO nanoparticles. *Journal of Nanoparticle Research*.

Vincent J. (2000). Bactéries multirésistantes dans les hôpitaux français : bilan en 2000 et perspectives de surveillance nationale dans le cadre du Réseau d'Alerte d'Investigation et de Surveillance des Infections Nosocomiales (RAISIN).

Wahab R., Mishra A., Yun S.-I., Hwang I., Mussarat J., Al-Khedhairi A. A., Kim, Y.-S., Shin H.-S. (2012). Fabrication, growth mechanism and antibacterial activity of zno microspheres prepared via solution process. *Biomass Bioenergy*, 39, 227-236.

Yala D., Merad A. S., Mohamedi D., OuarKorich M. N. (2001). Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb*, 91(1), 5.

Zahar J. R. (2012). Epidémiologie et conséquences des infections nosocomiales en réanimation : Impact et conséquences de la résistance bactérienne en réanimation. Thèse de doctorat en Médecine humaine et pathologie. Université de Grenoble, France, 124p.

Zeyons O. (2008). Etudes des interactions physicochimiques et biologiques entre des nanoparticules manufacturées et des bactéries de l'environnement. Thèse de doctorat de l'université Paris VI -Pierre et Marie Curie. p 23-24.

Zhour K., (2013-2014), Elaboration et Caractérisation des nanopoudres de ZnO par Voie Chimique Sol-gel. Mémoire de Master, Université Med Khider Biskra. 2013-2014.

Znazen A et al., (2004 – 2006). Résistance de streptococcus pneumoniae aux antibiotiques en Tunis : étude multicentrique, Laboratoire de Microbiologie, CHU Habib Bourguiba, Sfax. Laboratoire de Microbiologie, Hôpital d'enfant, Tunis. Laboratoire de Microbiologie, CHU Charles Nicolle, Tunis.

Sites web :

1) www.azonano.com .

Résumé

L'utilisation croissante et parfois inappropriée des antibiotiques, donne lieu à de nombreuses souches bactériennes qui ont commencé à s'adapter et à développer des résistances face à cette thérapeutique. À l'heure de l'augmentation de ces résistances, la recherche de nouvelles molécules et alternatives paraissent aujourd'hui essentielles. Dans ce contexte, le présent travail porte sur l'évaluation de l'activité antibactérienne de nanoparticules d'oxyde de Zinc (ZnO) apparues comme candidates prometteuses actives contre la multi-résistance des germes.

Les résultats de l'antibiogramme effectué avec 4 antibiotiques (Chloramphénicol, amoxicilline, vancomycine et la pénicilline G) contre 18 souches testées à savoir : *Bacillus cereus* ATCC 160404, *E. coli* BLSE, *E. coli* ATCC 259 22, *E. faecalis* ATCC 29212, souche clinique 1 et 2 BLSE, *E. coli mcr1*, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *S. aureus*, *K. pneumoniae* BMR, *K. pneumoniae* KPC, *Elizabeth kingia*, *Ps. aeruginosa* ATCC 278 53, *Ps. aeruginosa* VIM et VIM2 et *S. typhimurium* ATCC 14028, montrent la résistance des souches à un ou plus de deux antibiotiques ce qui permet de les classer comme MDR. Les nanoparticules d'oxyde de Zinc (ZnO) appliquées contre les souches bactériennes à des concentrations de 50, 200, 400, 600, 800 et 1000 µg/ml par méthode de diffusion sur puits ne présentent aucune efficacité antibactérienne qui pourrait être attribuée à des facteurs mal compris tels que la compétence des souches bactériennes, temps d'incubation, la taille et la morphologie des nanoparticules synthétisées.

Mots clés : Nanoparticule ZnO ; activité antibactérienne ; MDR ; antibiotiques

Abstract

The increasing and sometimes inappropriate use of antibiotics gives rise to numerous bacterial strains which have begun to adapt and develop resistance to this therapy. At a time of increasing resistance, the search for new molecules and alternatives now seems essential. In this context, the present work focuses on the evaluation of the antibacterial activity of zinc oxide (ZnO) nanoparticles which appeared as promising active candidates against the multi-resistance of germs.

The results of the antibiogram carried out with 4 antibiotics (Chloramphenicol, amoxicillin, vancomycin and penicillin G) against 18 strains tested, namely: *Bacillus cereus* ATCC 160404, *E. coli* ESBL, *E. coli* ATCC 259 22, *E. faecalis* ATCC 29212 , *ESBL clinical strain 1 and 2*, *E. coli mcr1*, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *S. aureus*, *K. pneumoniae* BMR, *K. pneumoniae* KPC, *Elizabeth kingia*, *Ps. aeruginosa* ATCC 278 53, *Ps. aeruginosa* VIM and VIM2 and *S. typhimurium* ATCC 14028, show resistance of strains to one or more of two antibiotics which allows them to be classified as MDR. Zinc oxide (ZnO) nanoparticles applied against bacterial strains at concentrations of 50, 200, 400, 600, 800 and 1000µg/ml by well diffusion method show no antibacterial efficacy which could be attributed to factors poorly understood such as competence of bacterial strains, incubation time, size and morphology of synthesized nanoparticles.

Keywords: ZnO nanoparticle; antibacterial activity; MDR; antibiotics.

ملخص :

يؤدي الاستخدام المتزايد والمناسب أحياناً للمضادات الحيوية إلى ظهور العديد من السلالات البكتيرية التي بدأت في التكيف وتطوير مقاومة لهذا العلاج ، وفي وقت تزداد فيه المقاومة ، يبدو البحث عن جزيئات وبدائل جديدة أمراً ضرورياً اليوم. في هذا السياق ، يركز العمل الحالي على تقييم النشاط المضاد للبكتيريا لجسيمات أكسيد الزنك النانوية (ZnO) التي ظهرت كمرشحين فعالين واعدن ضد المقاومة المتعددة للجراثيم.

نتائج اختبار المضاد الحيوي باستخدام 4 مضادات حيوية (الكلورامفينيكول ، الأموكسيسيلين ، الفانكوميسين والبنسلين G) ضد 18 سلالة تم اختبارها ، وهي:

Bacillus cereus ATCC 160404, *E. coli* BLSE, *E. coli* ATCC 259 22, *E. faecalis* ATCC 29212, souche clinique 1et 2 BLSE, *E. coli* mcr1, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *S. aureus*, *K. pneumoniae* BMR, *K. pneumoniae* KPC, *Elizabeth kingia*, *Ps. aeruginosa* ATCC 278 53, *Ps. aeruginosa* VIM et VIM2 et *S. typhimurium* ATCC 14028

، مقاومة السلالات لواحد أو أكثر من اثنين من المضادات الحيوية مما يسمح بتصنيفها على أنها MDR. أكسيد الزنك (ZnO) المطبق ضد السلالات البكتيرية بتركيزات 50 و 200 و 400 و 600 و 800 و 1000 ميكروغرام / مل بطريقة الانتشار الجيد لا يظهر أي فعالية مضادة للبكتيريا والتي يمكن أن تعزى إلى عوامل غير مفهومة مثل كفاءة السلالات البكتيرية ووقت الحضانة وحجم وتشكل الجسيمات النانوية المركبة.

الكلمات الرئيسية: جسيمات نانوية ZnO ؛ نشاط مضاد للجراثيم؛ مقاومة للأدوية المتعددة؛ مضادات حيوية.