



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID TLEMCEM
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE DE LA
TERRE ET DE L'UNIVERS
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



**Laboratoire de microbiologie appliquée à l'agroalimentaire, au biomédical et à
l'environnement « LAMAABE »**

Mémoire

Présenté par

M^{elle} CHOUIKHI Nedjwa Djazia

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Microbiologie Fondamentale

**L'inhibition de la formation de biofilm de bactéries à Gram
négatif d'origine hospitalière par des molécules bioactives**

Soutenue le 20/06/2024

Devant le jury

Présidente	HASSAINE Hafida	Professeur	U. de Tlemcen
Examineur	BENAMAR Ibrahim	MCB	U. de Laghouat
Encadrante	BELLIFA Samia	MCA	U. de Tlemcen

Remerciements

Je tiens à exprimer toute ma gratitude à l'ensemble des personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à l'aboutissement de ce mémoire. Leur soutien a été précieux tout au long de ce travail.

Ce mémoire a été effectuée dans le laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agro-alimentaire, au Biomédical et l'Environnement (LAMAABE), université AbouBekr Belkaid-Tlemcen, sous la direction du Monsieur le Professeur Rebiahi Sidahmed à la faculté des sciences de la nature et de la vie, sciences de la terre et de l'univers, Université AbouBekr Belkaid- Tlemcen.

Mes remerciements vont tout d'abord à ma directrice de mémoire, Mme Bellifa Samia maitre de conférences de Classe A, à la faculté des sciences de la nature et de la vie, sciences de la terre et de l'univers, Université AbouBekr Belkaid- Tlemcen, pour la confiance qu'elle m'a accordée en acceptant d'encadrer ce travail de mémoire de master. Ses qualités humaines et scientifiques, sa rigueur intellectuelle et sa disponibilité m'ont beaucoup appris. J'ai toujours pu compter sur ses conseils avisés et son écoute qui ont été déterminants dans la réalisation de ce travail.

Je remercie chaleureusement la Présidente du jury, Professeur Hassaine Hafida, à la faculté des sciences de la nature et de la vie, sciences de la terre et de l'univers, Université AbouBekr Belkaid- Tlemcen, qui a été à la fois mon enseignante et une source d'inspiration. C'est grâce à sa recommandation de travailler sur ce sujet que j'ai pu entreprendre cette recherche.

Un grand merci à Monsieur Benamar Ibrahim maitre de conférences de Classe B à l'université de l'Aghouat pour l'intérêt qu'il a porté à ce travail en acceptant d'en être l'un des rapporteurs et pour sa contribution, ses conseils précieux et le temps qu'il m'a consacré ont grandement enrichi ce travail.

Je n'oublie pas ma sœur, Doctorante en physique des polymères, dont le soutien et les encouragements ont été inestimables tout au long de ce parcours.

Mes remerciements vont également à toute l'équipe du laboratoire LAMAABE pour leur accueil bienveillant et les ressources mises à ma disposition tout au long de ce travail. Un merci particulier aux doctorants pour les échanges constructifs et les bons moments partagés. Je tiens

à mentionner spécifiquement Chiali Amel, Douili Zahra, et Boushaba Mohamed Soufiane, qui sont devenus des précieux amis et collègues.

Sans oublier mes amies Amina Mazigha Merci pour tout ce que vous avez fait pour moi. Votre soutien restera gravé en moi comme l'un des piliers qui m'ont permis d'arriver au bout de cette aventure. Vous êtes des amies en or.

Enfin, Je remercie Monsieur BENMANSOUR Boumediene, ingénieur de laboratoire LASNABIO sous la direction de Monsieur GHANEM, pour son assistance et son expertise qui ont apporté une valeur significative à ce travail.

Dédicace

Je dédie ce travail,

À mon cher père Chouikhi Sidi Mohammed,

Tu as été mon roc, ma source d'inspiration et de sagesse. Tes conseils avisés et ton amour inconditionnel ont sculpté la femme que je suis devenue. Je suis infiniment reconnaissante pour tout ce que tu as fait pour moi.

À ma chère mère Baba Ahmed Amina Zahra,

Ta tendresse, ta force et ton dévouement ont illuminé ma vie depuis le ma naissance. Tu es mon pilier, ma confidente et mon modèle de bienveillance. Je t'aime plus que les mots ne puissent le dire.

À mes chères sœurs Imene, Wassila et Manel,

Vous êtes mes complices, mes alliées et mes amies les plus fidèles. Nos liens familiaux sont un trésor que je chérirai toujours. Merci d'être les rayons de soleil de ma vie.

À mon neveu Salaheddine et mes nièces Selma, Djoumana et Hind,

Votre innocence, votre joie et votre amour sont une source infinie de bonheur pour moi. Vous êtes les étoiles qui illuminent mes nuits les plus sombres. Que la vie vous réserve le meilleur.

À mes beaux-frères Azzeddine et Habib,

Je vous considère comme des frères à part entière et je suis reconnaissante de vous avoir dans ma famille.

À mes amies les plus proches Imakhlaf Mazigha et Selmouni Amina,

Votre amitié sincère et votre présence réconfortante ont été un phare dans les moments les plus sombres. Je vous aime et vous remercie d'être les piliers sur lesquels je peux m'appuyer, d'autant plus que nous partageons cette aventure professionnelle ensemble.

Chouikhi Nedjwa Djazia

Table des matières

INTRODUCTION	1
Partie 1 : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	4
Chapitre I : Infections Liées aux Soins et Biofilms : Risques et Prévention	5
I. Infections liées aux soins	5
I.1 Définition des infections liées aux soins	5
I.2 Principales infections associées aux soins	5
I.2.1 Infection de site opératoire	5
I.2.2 Bactériémie associée aux soins	5
I.2.4 Infections respiratoires liées aux soins	6
I.2.5 Infection à Clostridium difficile	6
I.3 Les bactéries à Gram négatif impliquées dans les infections associées aux soins.....	6
I.4 Prévention des infections liées aux soins	7
II. Le biofilm dans le milieu médical	8
II.1 Définition de Biofilm	8
II.2 Composition de Biofilm	8
II.3 Rôle de biofilm dans les infections liées aux soins	8
II.4 Etapes de formation de biofilm sur les dispositifs médicaux	9
II.4.1 Conditionnement de surface	9
II.4.2 Adhésion initiale	9
II.4.3 Adhésion irréversible	9
II.4.4 Maturation du biofilm	9
II.4.5 Détachement	9
II.5 La résistance aux antibiotiques.....	10
II.6 Les diverses approches anti-biofilm	10
II.6.1 Utilisation d'antibiotiques	11
II.6.2 Polymères hydrophiles.....	11

II.6.3 Antiseptiques et désinfectants	11
II.6.4 Peptides antimicrobiens	11
II.6.5 Huiles essentielles	11
II.6.6 Les nanoparticules	12
Chapitre II : Nanoparticules : Stratégie d'inhibition des biofilms	13
I. La nanotechnologie.....	13
II. Généralités sur les nanoparticules	13
II.1 Définition des nanoparticules	13
II.2 Classification des nanoparticules.....	13
II.2.1 Les nanoparticules organiques	14
II.2.2 Les nanoparticules inorganiques	14
II.2.3 Les nanoparticules de carbone	14
II.3 Sources de nanoparticules	15
II.3.1 Les nanoparticules naturelles	15
II.3.2 Les nanoparticules non manufacturées	15
II.3.3 Les nanoparticules manufacturées	15
III. Synthèse des nanoparticules	16
III.1 Méthodes de synthèse des nanoparticules	16
III.1.1 Approches descendantes et ascendantes	16
IV. Activités biologiques des nanoparticules	21
IV.1 Mécanisme antibactérien des nanoparticules	21
IV.2 Propriétés physicochimiques influençant l'interaction nanoparticule-biofilm.....	23
IV.2.1 La charge de surface.....	23
IV.2.2 Hydrophobicité.....	23
IV.2.3 Taille	23
IV.2.4 La forme	23
IV.2.5 Stabilisation stérique	23

IV.3 Mécanisme d'interaction des nanoparticules avec les biofilms.....	23
IV.4 Inhibition du quorum sensing : mécanisme cible des nanoparticules métalliques contre les biofilms	24
Partie 2 : MATERIEL ET METHODES	26
1.Lieu d'étude	27
2.Prélèvements	27
3.Mise en culture et isolement	27
4. Identification des souches bactériennes	27
4.1 Caractères morphologiques	27
4.1.1 Examen macroscopique des caractères cultureux	27
4.2 Caractères biochimiques	27
5.Conservation des souches	28
6.Etude de la formation de biofilm	28
6.1 Méthode de plaque de culture de tissus (TCP).....	28
6.1.1 Technique.....	28
6.1.2 Lecture	29
7.Biosynthèse de nanoparticules d'argent et de magnésium par Bacillus spp	30
7.1 Biosynthèse des nanoparticules d'argent	30
7.1.1 Préparation des souches bactériennes.....	30
7.1.2 Purification des souches	30
7.1.3 Préparation des cultures.....	30
7.1.4 Préparation des solutions d'argent	30
7.1.5 Biosynthèse des nanoparticules	31
7.1.6 Purification et récupération des nanoparticules.....	31
7.2 Biosynthèse des nanoparticules de Magnésium	31
8. Caractérisation des nanoparticules biosynthétisées	32
8.1 La spectrophotométrie UV-visible	32

8.2 La spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)	33
9. Activités biologiques des nanoparticules biosynthétisées	33
9.1 L'activité antibactérienne des nanoparticules d'argent de magnésium et mélange d'argent et de magnésium sur <i>Klebsiella pneumoniae</i>	33
9.2 L'activité anti-biofilm des nanoparticules d'argent de magnésium et mélange d'argent et de magnésium sur <i>Klebsiella pneumoniae</i>	34
Partie 3 : RESULTATS ET DISCUSSIONS	36
1. Prélèvements.....	37
2. Identification des souches bactériennes	37
2.1 Caractères macroscopique des souches bactériennes.....	37
2.2 Caractères biochimiques des souches bactériennes	39
2.3 Etude de la formation de biofilm	43
4. Biosynthèse des nanoparticules d'argent et de magnésium.....	47
4.1 Préparation des souches productrices.....	47
4.2 Production des biosynthétisés	47
4.3 Récupération et centrifugation	48
4.4 Préparation des solutions d'argent et de magnésium.....	48
4.5 Biosynthèse des nanoparticules.....	48
4.6 Purification et récupération des nanoparticules	51
5. Caractérisation des nanoparticules biosynthétisées	51
5.1 La spectrophotométrie UV-visible	51
5.2 La spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)	52
5.2.1 Les nanoparticules d'argent.....	52
5.2.2 les nanoparticules de magnésium	53
6. Activités biologiques des nanoparticules biosynthétisées.....	54
6.1 Activité antibactérienne des nanoparticules biosynthétisées.....	54
6.1.1 Activité antibactérienne des nanoparticules d'argent	54
6.1.2 Activité antibactérienne des nanoparticules de magnésium	56

6.1.3	Activité antibactérienne des nanoparticules d'argent avec de magnésium.....	56
6.2	Activité anti-biofilm des nanoparticules biosynthétisées	57
6.2.1	Activité anti-biofilm des nanoparticules d'argent	57
6.2.2	Activité anti-biofilm des nanoparticules de magnésium.....	59
6.2.3	Activité anti-biofilm des nanoparticules d'argent avec de magnésium.....	61
	CONCLUSION.....	63
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	65
	ANNEXES.....	75
	RESUMES	83

Liste des abréviations

AgNPs :	Nanoparticules d'argent
BGN :	Bactéries Gram négatif
CAUTI :	Infections urinaires associées aux cathéters
CMI :	Concentration Minimale Inhibitrice
CMIB :	Concentration Minimale Inhibitrice de Biofilm
CVC :	Cathéters Veineux Centraux
DO :	Densité optique
EPS :	Exopolymères extracellulaires
ERO :	Espèces réactives de l'oxygène
FTIR :	La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier
MDR :	Multi Drug Résistant
MEP :	Matrice Extracellulaire Polymérique
MgNPs :	Nanoparticules de Magnésium
MgSO₄ :	Sulfate de magnésium
NP :	Nanoparticule
NPM :	Nanoparticules Manufacturées
PDR :	PanDrug-Resistant
PVP :	VinylPyrrolidone
PUF :	Particules Atmosphériques Ultrafines
SARM :	<i>Staphylococcus aureus</i> Résistant à la Méricilline
TCP :	Méthode de plaque de culture de tissus
UV :	Ultraviolet
XDR :	Extensively Drug-Resistant

Liste des figures

Figure 1 : Les étapes de formation de biofilm	10
Figure 2 : Gamme de tailles des nanoparticules comparée à celle des principales structures chimiques et biologiques.....	13
Figure 3 : Approches descendantes et ascendantes.....	18
Figure 4 : La synthèse verte des nanoparticules d'argent	19
Figure 5 : Les actions antibactériennes des nanoparticules	22
Figure 6 : Formation de biofilm en microplaque PVC	29
Figure 7 : Lecteur ELISA	29
Figure 8 : La spectrophotométrie UV-visible	32
Figure 9 : La spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier.....	33
Figure 10 : Répartition des prélèvements dans les services au niveau de CHU	37
Figure 11 : Aspect macroscopique des colonies de <i>Klebsiella pneumoniae</i> sur Mac Conkey	37
Figure 12 : Aspect macroscopique des colonies d' <i>Enterobacter cloacae</i> sur Mac Conkey	38
Figure 13 : Aspect macroscopique des colonies d' <i>Acinetobacter baumannii</i> sur Mac Conkey	38
Figure 14 : Aspect macroscopique des colonies d' <i>Escherichia coli</i> sur Mac Conkey.....	39
Figure 15 : Identification des souches bactériennes par la galerie API20E.....	42
Figure 16 : Evaluation de la production de biofilm par la méthode TCP	43
Figure 17 : Capacité de formation de biofilm chez les souches de <i>Klebsiella pneumoniae</i> ...	44
Figure 18 : Capacité de formation de biofilm chez les souches d' <i>Escherichia coli</i>	45
Figure 19 : Capacité de formation de biofilm chez les souches d' <i>Enterobacter cloacae</i>	45
Figure 20 : Capacité de formation de biofilm chez les souches d' <i>Acinetobacter baumannii</i> .	46
Figure 21 : Aspect macroscopique de la souche E4.....	47
Figure 22 : Aspect macroscopique de la souche E2.....	47
Figure 23 : Cultures bactériennes de E2 et E4.....	47
Figure 24 : Résultats de centrifugation	48
Figure 25 : Solution de sulfate de magnésium.....	48
Figure 26 : Solution de nitrate d'argent.....	48
Figure 27 : Avant incubation ($\text{AgNO}_3/4\text{mmol}$).....	49
Figure 28 : Après incubation ($\text{AgNO}_3/4\text{mmol}$).....	49
Figure 29 : Avant incubation ($\text{AgNO}_3/2\text{mmol}$).....	49
Figure 30 : Après incubation ($\text{AgNO}_3/2\text{mmol}$)	49

Figure 31 : Avant incubation (MgSO ₄ /4mmol).....	50
Figure 32 : Après incubation (MgSO ₄ /4mmol).....	50
Figure 33 : Avant incubation (MgSO ₄ /2mmol).....	50
Figure 34 : Après incubation (MgSO ₄ /2mmol)	50
Figure 35 : AgNPs sec/solution-MgNPs sec/solution.....	51
Figure 36 : Spectres d'absorption UV visible des nanoparticules d'argent et de magnésium	52
Figure 37 : Spectre FTIR de nanoparticules d'argent.....	53
Figure 38 : Spectre FTIR de nanoparticules de magnésium	53
Figure 39 : Activité antibactérienne des nanoparticules biosynthétisées.....	54
Figure 40 : Activité anti-biofilm des nanoparticules biosynthétisées	54
Figure 41 : Activité antibactérienne AgNPs	55
Figure 42 : Activité antibactérienne MgNPs.....	56
Figure 43 : Activité antibactérienne AgNPs+MgNPs	57
Figure 44 : Activité anti-biofilm des AgNPs	58
Figure 45 : Activité anti-biofilm des MgNPs.....	60
Figure 46 : Activité anti-biofilm des AgNPs+MgNPs	61
Figure 47 : Prélèvements	76
Figure 48 : Préparation de milieu de culture.....	78

Liste des tableaux

Tableau 1 : Préparation des solutions de AgNO ₃	31
Tableau 2 : Préparation des solutions de MgSO ₄	32
Tableau 3 : Espèces bactériennes avec biotypes.....	42
Tableau 4 : Des données relatives aux prélèvements.....	76
Tableau 5 : Préparation et l'inoculation de la galerie API20E	79
Tableau 6 : Fiche technique des galeries API20E.....	80
Tableau 7 : Capacité de formation de biofilm dans chaque microplaque DOt=0.045.....	81

INTRODUCTION

Les infections associées aux soins (IAS) constituent un défi majeur pour les systèmes de santé à l'échelle mondiale. Ces infections, souvent provoquées par des micro-organismes opportunistes, se développent en dehors de leur habitat écologique normal, notamment dans les environnements hospitaliers où la contamination persistante contribue à leur transmission. Parmi les mécanismes favorisant cette transmission, la formation de biofilm.

Les biofilms, structures complexes formées par l'association de micro-organismes et de matrices polymères extracellulaires, offrent une protection aux bactéries contre les conditions environnementales défavorables. Leur formation en plusieurs étapes, de l'adhésion à la maturation, les rend particulièrement résistants aux antibiotiques conventionnels (**Watkin et al., 2023**). Cette résistance accrue résulte en des infections persistantes et chroniques, augmentant ainsi la morbidité et les coûts des soins de santé.

Parallèlement, l'usage intensif des antibiotiques a conduit à l'émergence de bactéries multirésistantes, constituant un autre défi majeur en santé publique. Ces bactéries présentent une capacité à résister à de nombreux antibiotiques, compromettant ainsi l'efficacité des traitements conventionnels et augmentant les risques pour les patients (**Bouyahya et al., 2017**).

Face à ces défis, la nanotechnologie émerge comme un domaine de recherche prometteur offrant de nouvelles approches pour la prévention et le traitement des infections, ainsi que pour la lutte contre la résistance aux antibiotiques. Les nanoparticules, en particulier les nanoparticules biosynthétisées, présentent des propriétés antimicrobiennes et anti-biofilms remarquables et offrent des opportunités prometteuses dans le domaine médical (**Gebresslassie et Gebremeskel, 2024**). Ces nanoparticules, produites grâce à des méthodes de synthèse "verte" utilisant des processus biologiques tels que les extraits de plantes, les bactéries ou les champignons, offrent une alternative intéressante aux approches conventionnelles pour lutter contre les infections et la résistance aux antibiotiques (**Dousari et al., 2023**).

Face à l'ampleur des défis posés comment les nanoparticules biosynthétisées peuvent-elles contribuer à la lutte contre la résistance aux antibiotiques et la prévention des infections associées aux soins liées à la formation de biofilms sur les dispositifs médicaux ?

L'objectif de cette étude est d'isoler des souches bactériennes à Gram négatif à partir de dispositifs médicaux contaminés, afin de caractériser leur capacité à former des biofilms, et en deuxième lieu, étudier le potentiel inhibiteur de nanoparticules biosynthétisées sur ces biofilms bactériens.

Le mémoire est présenté au travers de trois parties. La première est une synthèse bibliographique qui présente en premier lieu les infections liées aux soins, le biofilm dans le milieu médical et les bactéries à Gram négatif responsables de ces infections, ensuite une revue bibliographique est faite sur les nanoparticules comme stratégie d'inhibition de biofilm pour lutter contre les infections liées aux soins. La deuxième partie détaille le matériel et les méthodes ; elle décrit les conditions expérimentales utilisées. Dans la dernière partie nous exposons les résultats obtenus en les discutant. Enfin une conclusion générale permet de résumer les résultats obtenus et de discuter les perspectives.

SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Infections Liées aux Soins et Biofilms : Risques et Prévention

I. Infections liées aux soins

I.1 Définition des infections liées aux soins

Les infections liées aux soins désignent des infections contractées dans un établissement de santé par un patient au cours de la réalisation de soins (**Huang et al., 2020**) ou d'actes médicaux (procédures chirurgicales, passage en réanimation, cathétérisme, implant de matériel médical...) qui favorisent l'acquisition d'un micro-organisme pathogène (**Tacconelli et al., 2019**).

Les signes et symptômes apparaissent généralement 48 heures ou plus après l'admission du patient à l'hôpital (**Jenkins, 2021**), et les infections n'étaient ni présentes ni en cours d'incubation à l'admission (**Lequien, 2009**). Pour les infections de site opératoire, les signes/symptômes doivent être apparus dans les 30 jours ou 1 an en cas d'implant (**Huang et al., 2020**).

On considère également qu'il s'agit d'une infection liée aux soins si elle survient au cours ou après une prise en charge médicale (diagnostic, traitement, prévention, éducation) d'un patient (**Lequien, 2009**).

I.2 Principales infections associées aux soins

I.2.1 Infection de site opératoire

Est définie comme une infection qui survient au niveau ou à proximité du site d'incision chirurgicale dans les 30 jours qui suivent l'opération ou après 12 mois si un implant a été posé pendant l'intervention (**Abdu Seid et al., 2024**). Elle est diagnostiquée cliniquement par un clinicien et traitée par des antibiotiques (**Knisely et al., 2024**). Les infections de site opératoire sont catégorisées selon les définitions standard des centres de contrôle des maladies et de prévention en infections superficielles, profondes ou de l'espace opératoire (**Morikane, 2024**).

I.2.2 Bactériémie associée aux soins

Est définie par la présence d'un micro-organisme pathogène dans le sang, justifiée par des signes cliniques et révélée par au moins une hémoculture positive à ce micro-organisme. Elle correspond à une acquisition soit en établissement de santé, auquel cas il s'agit d'une bactériémie nosocomiale, soit lors de soins réalisés en dehors d'un établissement de santé, (**Nguyen et al., 2011**) telles que les bactériémies liées au cathéter d'hémodialyse qui sont fréquentes et constituent la deuxième cause de mortalité chez les patients hémodialysés (**Acquier et al., 2022**).

I.2.3 Infections urinaires liées aux soins

Leur forme majoritaire sont les infections urinaires associées aux cathéters qui se définissent par la présence d'un cathéter urinaire depuis plus de deux jours associés à des signes cliniques d'infection urinaire et une culture d'urine positive à plus de 10⁵ UFC/mL (Asmare *et al.*, 2024). Les principaux facteurs de risque sont la durée prolongée du cathétérisme urinaire, le sexe féminin en raison de l'anatomie, l'âge avancé ainsi que la présence d'un diabète (Nasrollahian *et al.*, 2024).

I.2.4 Infections respiratoires liées aux soins

Désignent les infections qui surviennent chez les patients hospitalisés dont la cause la plus fréquente est le biofilm dans le cathéter endotrachéal (Percival *et al.*, 2015).

I.2.5 Infection à *Clostridium difficile*

Est une infection causée par une bactérie anaérobie opportuniste qui provoque des diarrhées souvent associées à des antibiothérapies. La perturbation de la flore intestinale lors d'un traitement antibiotique facilite la colonisation et la surinfection par *C. difficile* acquis le plus souvent pendant une hospitalisation. L'infection se manifeste par une diarrhée aqueuse pouvant devenir hémorragique (Percival *et al.*, 2015).

I.3 Les bactéries à Gram négatif impliquées dans les infections associées aux soins

Les entérobactéries et les bactéries non fermentaires sont deux grandes familles de bactéries à l'origine d'un grand nombre d'infections associées aux soins. Les entérobactéries sont des bacilles à Gram négatif telles que *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, et *Enterobacter cloacae* qui fermentant les glucides, elles colonisent le tube digestif de l'homme et sont une cause fréquente d'infections urinaires ou abdominales. Les bactéries non fermentaires regroupent notamment *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*. Elles sont caractérisées par leur résistance naturelle ou acquise aux antibiotiques, ce qui en fait des pathogènes hospitaliers majeurs responsables de pneumonies et bactériémies (Tacconelli *et al.*, 2019).

- ***Escherichia coli***

Possède une forte capacité à former des biofilms, ce qui contribue à son pouvoir pathogène. La formation de biofilms lui confère une meilleure résistance aux défenses immunitaires et aux antibiotiques, favorisant le développement d'infections récurrentes ou chroniques lorsqu'elle colonise durablement le matériel médical comme les cathéters et les sondes. Cela peut causer des infections urinaires ou respiratoires nosocomiales (Gunathilaka *et al.*, 2024).

- ***Klebsiella pneumoniae***

Est capable de former des biofilms efficacement, ce qui contribue à sa pathogénicité et à sa propagation dans les milieux hospitaliers. Ces biofilms se développent facilement sur les surfaces des cathéters, sondes et autres matériels médicaux, ce qui provoque des infections associées aux soins comme des bactériémies et des pneumopathies chez les patients hospitalisés (**Galdiero et al., 2021**).

- ***Enterobacter cloacae***

Également a la capacité de former des biofilms, lui permettant de s'implanter et persister sur les surfaces. Et peut coloniser durablement le matériel médical implanté chez les patients via ses substances polymériques extracellulaires. Cela le rend responsable d'infections difficiles à éliminer comme une endocardite infectieuse sur une valve cardiaque (**Annappah et al., 2022**).

- ***Pseudomonas aeruginosa***

A la capacité de former des biofilms, Elle peut alors causer des infections des voies urinaires, des pneumonies ou des bactériémies chez les patients hospitalisés ou immunosupprimés. Sa résistance accrue lorsqu'elle vit en biofilm en fait l'une des bactéries les plus problématiques dans les établissements de santé où elle est une cause majeure d'infections associées aux soins (**Bergeron et al., 2017**).

- ***Acinetobacter baumannii***

Est souvent impliquée dans les infections associées aux soins de par sa forte capacité à former des biofilms. Cela rend l'infection très difficile à traiter et cause de longs délais de guérison. La formation de biofilm peut être directement liée à la persistance des infections et complexifier leur traitement. De plus, sa résistance aux antibiotiques en fait une bactérie particulièrement problématique une fois implantée sous forme de biofilm (**Williams et al., 2020**).

I.4 Prévention des infections liées aux soins

La prévention des infections liées aux soins repose sur plusieurs mesures. Il s'agit notamment d'éviter l'introduction de pathogènes dans l'environnement hospitalier et chez les patients en identifiant les profils à risque via l'examen clinique et les dépistages microbiologiques. Les patients infectieux doivent être isolés, en particulier ceux avec une infection respiratoire transmissible par aérosols qui seront placés dans une chambre individuelle à pression négative. Un environnement clinique propre doit être maintenu via le respect des normes de nettoyage et des méthodes de décontamination renforcées comme la vapeur d'eau oxygénée. Il faut également prévenir la translocation bactérienne vers les sites

d'infection en limitant les dispositifs médicaux invasifs et en procédant à la désinfection cutanée (Jenkins, 2021). Par ailleurs, la responsabilisation des patients peut contribuer à la prévention via leur éducation, leur adhésion aux règles d'hygiène et leur participation ciblée comme le port de chaussons (Donskey, 2023). Enfin, la formation du personnel sur les situations à risque et les bonnes pratiques fait également partie intégrante de la prévention (Jenkins, 2021).

II. Le biofilm dans le milieu médical

II.1 Définition de Biofilm

Les infections associées aux soins sont principalement causées par la formation de biofilms sur les dispositifs médicaux implantés tels que les cathéters veineux centraux (CVC) (Cangui-Panchi et al., 2022). Un biofilm est une communauté structurée de micro-organismes, principalement des bactéries (Kadirvelu et al., 2024), associés à une surface et à d'autres micro-organismes par l'intermédiaire d'une matrice extracellulaire qu'ils sécrètent (Römling et al., 2014). Elle confère au biofilm des propriétés mécaniques leur permettant de rester attachées durablement à la surface (Weber et al., 2023).

II.2 Composition de Biofilm

Le biofilm est principalement constitué de micro-organismes tels que des bactéries, aussi bien Gram positives que Gram négatives (McFadden et al., 2023). Ces micro-organismes sont enchâssés dans une matrice d'exopolymères extracellulaires (EPS) sécrétés par les cellules, composée majoritairement de polysaccharides extracellulaires, de protéines extracellulaires, d'ADN extracellulaire et de lipides. Les EPS confèrent aux biofilms leurs propriétés mécaniques et leur permettent de protéger les cellules contre les forces externes comme le cisaillement. L'ADN extracellulaire renforce la stabilité de la structure du biofilm en interagissant avec les polysaccharides. La composition peut varier selon le type de biofilm mais ces éléments (micro-organismes, EPS) sont généralement présents (Lu et al., 2024).

II.3 Rôle de biofilm dans les infections liées aux soins

Lorsque les microorganismes associés aux biofilms sont pathogènes, la capacité des microorganismes à s'agréger en biofilms devient un facteur de virulence important. Comme l'ont noté Prinzi et Rohde, «la vaste majorité des infections humaines sont en réalité médiées par des biofilms». Les infections par biofilm sont souvent liées à des dispositifs médicaux (par ex. : prothèses de genou, cathéters, implants, lentilles de contact, valves et articulations prothétiques). Les infections liées aux biofilms réapparaissent dans 65-80% des

cas. Il est important de noter que les biofilms peuvent impacter l'efficacité des antimicrobiens, ainsi que la réponse immunitaire, contribuant à la résistance aux antimicrobiens et permettant l'établissement d'infections persistantes ou chroniques (**Weber et al., 2023**).

II.4 Etapes de formation de biofilm sur les dispositifs médicaux

Les biofilms posent des problèmes majeurs sur le plan médical, il est important de comprendre leur processus de formation sur les dispositifs implantés. La figure 1 illustre les différentes étapes de formation d'un biofilm bactérien.

II.4.1 Conditionnement de surface

Une fois le dispositif médical inséré, des composants tels que les protéines, molécules organiques et ions viennent s'adsorber sur sa surface abiotique, formant un film conditionnant (**Rathinam et al., 2022**).

II.4.2 Adhésion initiale

Ce film modifie les caractéristiques de surface et promeut l'adhésion initiale et réversible des microorganismes via des caractéristiques comme la motilité et l'hydrophobicité (**Rathinam et al., 2022**).

II.4.3 Adhésion irréversible

Au fil du temps, les microorganismes sécrètent des facteurs favorisant leur adhésion stable et irréversible aux surfaces (**Rathinam et al., 2022**).

II.4.4 Maturation du biofilm

Avec la prolifération microbienne, un biofilm aux structures tridimensionnelles complexes se forme, avec des canaux de nutriments acheminés aux micro-colonies (**Rathinam et al., 2022**).

II.4.5 Détachement

Certains microorganismes peuvent se détacher du biofilm mature pour repasser en mode de vie planctonique et coloniser de nouveaux sites (**Rathinam et al., 2022**).

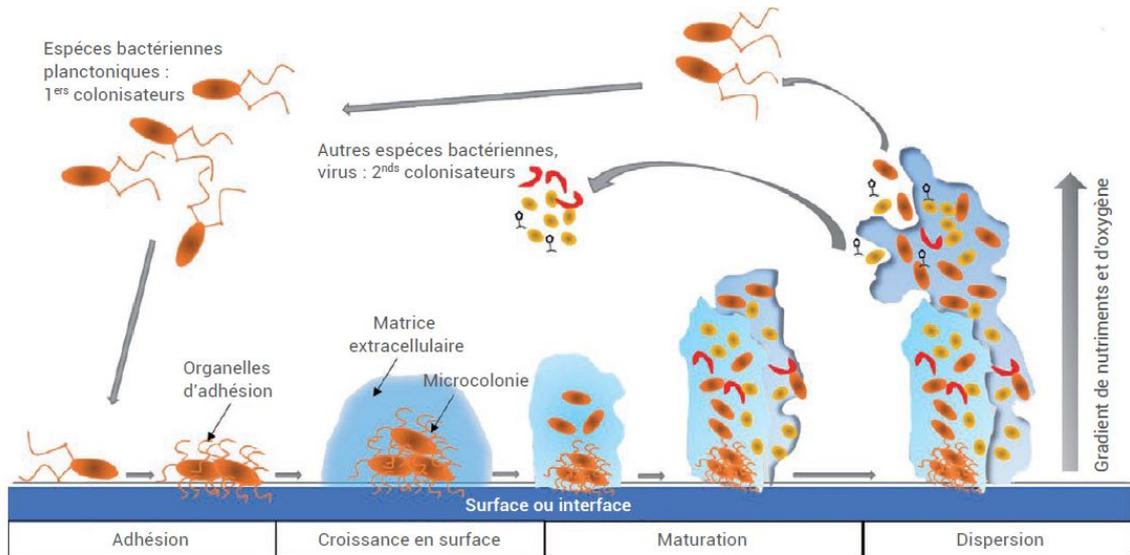


Figure 1 : Les étapes de formation de biofilm (Douarche et al., 2018)

II.5 La résistance aux antibiotiques

La résistance aux antimicrobiens est un enjeu majeur dans les infections associées aux soins, fréquemment causées par des bactéries multirésistantes (MDR) aux nombreuses classes d'antibiotiques. Cela nécessite l'usage empirique d'antibiotiques à large spectre comme la vancomycine, les céphalosporines de troisième génération et les carbapénèmes, favorisant la persistance de pathogènes MDR. Les organismes résistants sont classés selon leur niveau de résistance : MDR, résistant à au moins 3 catégories d'antibiotiques, XDR à toutes sauf 2, et PDR à toutes les catégories. Les principales bactéries MDR sont *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline SARM, les entérocoques résistants à la vancomycine et les bacilles à Gram négatif multirésistants comme les Entérobactéries produisant des carbapénémases (EPC), *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* (Jenkins, 2021). La résistance dans les biofilms bactériens s'explique par des mécanismes de surface, au sein du microenvironnement et cellules persistantes, influencés par des facteurs biochimiques, moléculaires et liés à l'hôte (Weber et al., 2023).

II.6 Les diverses approches anti-biofilm

Les approches anti-biofilm constituent un domaine crucial de la recherche médicale et de la lutte contre les infections. Ces approches visent à développer des méthodes pour contrôler et éliminer les micro-organismes pathogènes, tels que les bactéries, les virus et les champignons, afin de prévenir les maladies infectieuses et de promouvoir la santé publique (Kadirvelu et al., 2024).

II.6.1 Utilisation d'antibiotiques

Les antibiotiques restent l'un des principaux outils pour lutter contre les infections en biofilm, même si leur efficacité est limitée. En effet, les bactéries au sein du biofilm sont jusqu'à 1000 fois plus résistantes aux antibiotiques à cause de la matrice extracellulaire et de leur métabolisme ralenti. Des concentrations élevées, souvent supérieures aux doses classiques, sont nécessaires pour parvenir à réduire significativement le biofilm. Néanmoins, l'éradication complète d'un biofilm par les seuls antibiotiques demeure souvent difficile à obtenir (**Lin et al., 2024**).

II.6.2 Polymères hydrophiles

Polymères bioactifs synthétisés sont chargés négativement du fait des groupements ioniques sulfonate et carboxylate qu'ils portent, capables d'inhiber l'adhérence bactérienne (**Ben Aissa et al., 2009**).

II.6.3 Antiseptiques et désinfectants

Sont des substances chimiques ou préparations utilisées pour leur propriété antibactérienne et anti-biofilm. Elles permettent de détruire ou d'inhiber la croissance des micro-organismes pathogènes afin d'empêcher la contamination ou le développement d'infections (**Kadirvelu et al., 2024**).

II.6.4 Peptides antimicrobiens

Les défensines sont un exemple caractéristique de peptides antimicrobiens, définis comme de courts polypeptides cationiques produits par les cellules immunitaires et épithéliales exerçant une activité antimicrobienne aux conditions physiologiques par interaction électrostatique avec les membranes microbiennes, entraînant leur perméabilisation ; les défensines forment une famille majeure de ces peptides antimicrobiens chez les mammifères, où elles sont riches en cystéines et produites de manière abondante. De plus, certaines études ont montré que les défensines étaient capables d'inhiber la formation de biofilm et de désagréger des biofilms préexistants, grâce à leur action sur les membranes bactériennes même au sein d'une matrice extracellulaire (**Ganz, 2004**).

II.6.5 Huiles essentielles

Sont des mélanges complexes de molécules volatiles obtenus par extraction à la vapeur d'eau de certaines parties de plantes aromatiques, possédant des propriétés biologiques dues à leur composition chimique variable (**Alitonou et al., 2004**). Certaines huiles essentielles sont

capables d'inhiber la formation des biofilms bactériens ou de déstructurer les biofilms déjà formés comme l'huile essentielle de théier (**Iseppi et al., 2023**).

II.6.6 Les nanoparticules

Font partie des approches émergentes dans la lutte contre les biofilms. Différents types de nanoparticules sont étudiés pour leur capacité à inhiber la formation ou détruire les biofilms préexistants. Les nanoparticules d'argent notamment ont montré un effet anti-biofilm marqué contre de nombreuses bactéries. Cet effet serait lié à la libération d'ions argent qui interfèrent avec le métabolisme et l'adhésion bactérienne. D'autres nanoparticules comme le dioxyde de titane ou l'oxyde de zinc présentent également des propriétés antiadhésives et antitriches limitant l'établissement du biofilm (**Shkodenko et al., 2020**).

Chapitre II : Nanoparticules : Stratégie d'inhibition des biofilms

I. La nanotechnologie

La nanotechnologie est un domaine interdisciplinaire qui exploite les propriétés uniques des nanoparticules. Celles-ci acquièrent de nouvelles caractéristiques lorsque leur taille diminue, ce qui ouvre des perspectives pour le développement de nanomatériaux à fort potentiel, notamment pour des applications antimicrobiennes.

La nanotechnologie verte émerge pour développer des méthodes de synthèse plus durables. L'exploitation de ressources naturelles comme les plantes et les microorganismes apparaît encourageante à cet égard (Pourmadadi et al., 2024).

II. Généralités sur les nanoparticules

II.1 Définition des nanoparticules

Les nanoparticules NPs sont des objets dont la taille se situe entre 1 et 100 nanomètres (Figure 2). De par leur petite taille à l'échelle nanométrique, elles présentent un rapport surface/volume élevé leur conférant des propriétés physico-chimiques spécifiques. Les nanoparticules peuvent revêtir diverses formes (sphérique, tubulaire, etc.) et compositions chimiques (organiques, inorganiques, etc.). Ce sont des éléments structurels essentiels de la nanotechnologie qui interagissent de manière originale avec leur environnement biologique, notamment avec les bactéries, leur conférant des propriétés antibactériennes spécifiques (Kumar et al., 2023).

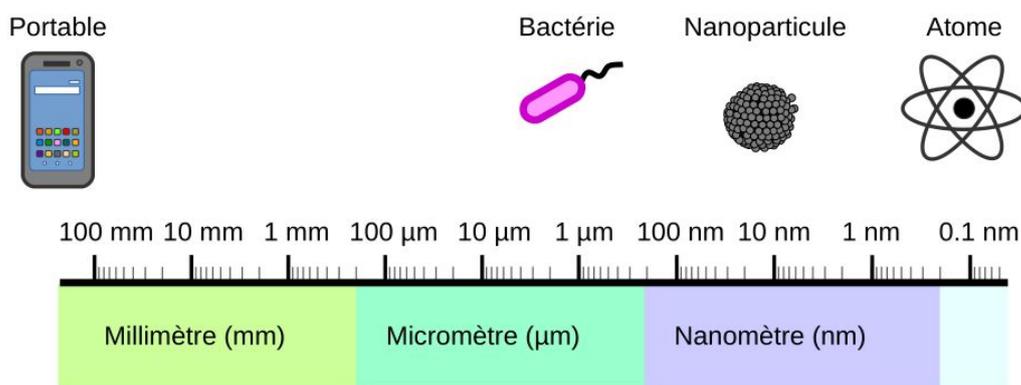


Figure 2: Gamme de tailles des nanoparticules comparée à celle des principales structures chimiques et biologiques (Kumar et al., 2023)

II.2 Classification des nanoparticules

Les nanoparticules peuvent être classées selon leur composition et leurs propriétés. On distingue principalement les nanoparticules organiques, inorganiques et à base de carbone (Khadanga et Mishra, 2024).

II.2.1 Les nanoparticules organiques

II.2.1.1 Les nanoparticules polymères

Correspondent à des nanomatériaux organiques contenant des substances actives adsorbées ou piégées, utilisés comme nano-sphères ou nano-capsules notamment pour la vectorisation médicamenteuse (**Namakka et al., 2023**).

II.2.1.2 Les nanoparticules lipidiques

Sont des nanomatériaux stables de 10-100nm composés de lipides, pour applications biomédicales et thérapeutiques (**Namakka et al., 2023**).

II.2.2 Les nanoparticules inorganiques

II.2.2.1 Les nanoparticules métalliques

Dérivées de précurseurs purs comme l'or, l'argent et le cuivre présentent des propriétés électriques uniques liées à la résonance plasmonique de surface, les rendant aptes à la récolte d'énergie solaire et la photocatalyse (**Khan et al., 2019**).

II.2.2.2 Les nanoparticules céramiques

Sont de petits solides inorganiques obtenus par chauffage-refroidissement, présentant une grande surface spécifique exploitée en catalyse et photocatalyse (**Namakka et al., 2023**).

II.2.2.3 Les nanoparticules semi-conductrices

Montrent des propriétés métalliques et non métalliques avec absorption/émission lumineuse pour les cellules solaires (**Khan et al., 2019**).

II.2.3 Les nanoparticules de carbone

II.2.3.1 Les fullerènes

Sont des cages creuses globulaires formées de carbone, ont une structure sphérique à une ou plusieurs parois et sont caractérisées par la présence d'atomes de carbone (**Khan et al., 2019**).

II.2.3.2 Les nanotubes de carbone

Ont une structure allongée et tubulaire à une ou plusieurs parois.

II.2.3.3 Les nanofibres de carbone

Les nanofibres de carbone sont des nanoparticules unidimensionnelles de carbone sous forme de fines fibrilles carbonées (**Khadanga et Mishra, 2024**).

II.3 Sources de nanoparticules

Les sources de nanoparticules peuvent être classées en trois grandes catégories en fonction de leur origine : les nanoparticules produites naturellement, que l'on peut trouver dans les plantes, les animaux et les corps humains. Ou les nanoparticules qui sont produites incidemment comme sous-produit de processus industriels tels que les gaz d'échappement des moteurs de véhicules, ou encore les nanoparticules manufacturées qui ont été fabriquées par les humains pour avoir certaines propriétés requises pour les applications souhaitées (**Jeevanandam et al., 2018**).

II.3.1 Les nanoparticules naturelles

Les nanoparticules naturelles sont produites dans la nature par des espèces biologiques ou par des activités anthropiques. Les NPs d'origine naturelle sont présentes dans les sphères terrestres (c'est-à-dire dans l'hydrosphère, l'atmosphère, la lithosphère et même dans la biosphère) (**Jeevanandam et al., 2018**), elles sont essentiellement le résultat des phénomènes de nucléation et de condensation des gaz et vapeurs dans l'atmosphère. Indépendamment des actions humaines (**Simon-Deckers, 2009**).

II.3.2 Les nanoparticules non manufacturées

Les nanoparticules non manufacturées sont produites par l'homme de façon non intentionnelle ; dans cette catégorie nous retrouvons les particules atmosphériques «ultrafines» (PUF). En milieu urbain, les PUF peuvent être formées de plus de 80 % de suies fines (inférieur à 1) et ultrafines provenant de la combustion des carburants fossiles. Ces particules, émises notamment par les véhicules Diesel, les véhicules à essence et les chauffages urbains et le soudage (**Simon-Deckers, 2009**).

II.3.3 Les nanoparticules manufacturées

Les nanoparticules manufacturées sont produites par l'homme de façon intentionnelle car le développement récent des nanotechnologies, regroupement de l'ensemble des techniques visant à concevoir, caractériser et produire des matériaux à l'échelle du nanomètre, il a commencé à élargir les sources de nanoparticules avec la production accrue de nanomatériaux manufacturés, dont des nanoparticules manufacturées (NPM). En raison des propriétés nouvelles des matériaux ainsi produits, les nanotechnologies connaissent un essor

particulièrement important depuis ces dernières années à l'échelle internationale, où l'on observe un investissement grandissant de la part de pays de plus en plus nombreux (**Simon-Deckers, 2009**).

III. Synthèse des nanoparticules

III.1 Méthodes de synthèse des nanoparticules

III.1.1 Approches descendantes et ascendantes

Afin de mieux comprendre les différentes méthodes de synthèse des nanoparticules, intéressons-nous aux approches descendantes et ascendantes (Figure 3).

III.1.1.1 Approche descendante, ou top-down

Est une méthode destructive où l'on part d'une molécule plus grande que l'on décompose en unités plus petites à l'aide de méthodes physiques comme l'ablation laser, la pulvérisation cathodique magnétron, la lithographie, le broyage mécanique et l'irradiation, Cette dernière consiste à soumettre la matière à un bombardement de particules ionisantes (ions, électrons) ou de rayonnements électromagnétiques (UV, rayons X, gamma), ce qui cause sa fragmentation par un mécanisme d'amorphisation on parle alors d'un processus physique, Mais l'irradiation peut aussi causer des ionisations ou excitations électroniques du matériau, au niveau chimique. Ces modifications de la structure électronique peuvent entraîner des réarrangements atomiques ou des réactions chimiques initiées par la création de radicaux. On parle alors de processus chimique (**Khan et al., 2019**).

III.1.1.1.1 L'ablation laser

Consiste à focaliser un laser pulsé sur une cible métallique immergée dans un liquide. L'énergie lumineuse éjecte des atomes métalliques de la cible qui se condensent ensuite pour former des nanoparticules dans le liquide. Cette méthode permet un meilleur contrôle de la taille et de la forme des nanoparticules formées grâce aux paramètres du laser comme la longueur d'onde, la fréquence, la fluence etc... (**Nyabadza et al., 2023**).

III.1.1.1.2 La pulvérisation cathodique magnétron

Repose sur la pulvérisation d'une cible métallique par des ions générés dans un plasma sous basse pression. Les atomes éjectés se déposent ensuite sur un substrat pour former les nanoparticules. Cette méthode permet de synthétiser une grande variété de matériaux mais à une échelle peu élevée (**Nyabadza et al., 2023**).

III.1.1.1.3 Le broyage mécanique

Permet via l'utilisation de billes et d'un broyeur, de fracturer graduellement le matériau de départ en fragments de plus en plus petits pour former des nanoparticules, et sa durée influence la taille finale obtenue, par exemple le broyage de poudres de coquilles de noix de coco pour produire des nanoparticules de coquilles de noix de coco (**Khan et al., 2019**)

III.1.1.1.4 La lithographie

Est une technique qui peut être utilisée en aval pour la structuration et le dépôt organisé des nanoparticules déjà formées, ce qui permet de contrôler leur organisation spatiale sur une surface (**Namakka et al., 2023**).

III.1.1.2 Approche ascendante, ou bottom-up

Consiste à synthétiser des atomes ou molécules individuelles à l'aide de méthodes chimiques comme la méthode sol-gel, méthode polyol, Synthèse hydro/solvothermale, la précipitation, Dépôt chimique en phase vapeur, de méthodes physiques comme l'irradiation, Celle-ci peut par exemple être utilisée pour induire la formation de clusters lors de l'irradiation d'une solution ou d'un gaz. On peut également employer des méthodes biologiques en utilisant des systèmes vivants comme des bactéries, des virus ou des cellules pour synthétiser les NPs de manière douce et respectueuse de l'environnement c'est la synthèse verte (**Khan et al., 2019**).

III.1.1.2.1 Méthode sol-gel

Le procédé sol-gel implique la formation d'un sol, une dispersion colloïdale stable de NP dans un liquide. Les sols peuvent être préparés par précipitation chimique, synthèse hydrothermale ou coprecipitation. L'étape de gélification permet de transformer le sol en gel, par réticulation chimique, solvataion ou autoassemblage induit par évaporation. Les principales étapes sont l'hydrolyse, la polycondensation, le vieillissement, le séchage et la décomposition thermique (**Nyabadza et al., 2023**).

III.1.1.2.2 Méthode polyol

Un polyol comme le glycérol sert à la fois de solvant et d'agent réducteur. Un agent stabilisant comme un surfactant ou un agent de recouvrement est souvent présent lors de la réaction. La réaction se déroule généralement à des températures élevées (entre 160 et 280°C) (**Nyabadza et al., 2023**).

III.1.1.2.3 La synthèse hydro/solvothermale

Est une méthode de chimie douce permettant de synthétiser des nanoparticules dans des conditions de haute pression et haute température. Elle consiste à placer les précurseurs (sels métalliques, acides, bases, etc.) dans un solvant (eau ou solvant organique) dans une enceinte fermée (un autoclave). L'enceinte est ensuite chauffée au-delà du point d'ébullition du solvant, créant ainsi des conditions hydro/solvothermales, c'est-à-dire une pression autogène élevée due à la chaleur (Khan *et al.*, 2019).

III.1.1.2.4 La précipitation

Elle consiste à faire précipiter le précurseur souhaité sous forme de nanoparticules par addition lente d'un réactif tel qu'un réducteur, un agent stabilisant ou un changement de pH qui va faire précipiter le précurseur sous forme de nanoparticules (Khan *et al.*, 2019).

III.1.1.2.5 Le dépôt chimique en phase vapeur (CVD)

Est une technique de synthèse qui consiste à faire réagir des précurseurs gazeux sur un substrat chauffé, pour former une couche mince ou des nanoparticules du matériau désiré (Khan *et al.*, 2019).

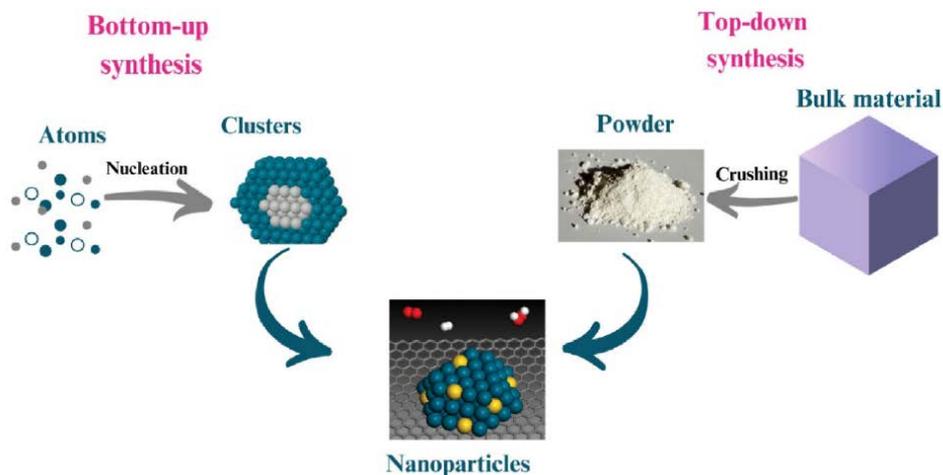


Figure 3 : Approches descendantes et ascendantes (Zulfiqar *et al.*, 2024)

III.1.1.2.6. La synthèse verte des nanoparticules

III.1.1.2.6.1 Méthode de synthèse

Fait référence à une méthode de synthèse respectueuse de l'environnement utilisant des systèmes biologiques au lieu de produits chimiques (Prakash *et al.*, 2011) (Figure 4), Tels que

les bactéries, les extraits de plantes, les champignons ou les algues (Khan et al., 2019). Ces entités biologiques contiennent naturellement diverses biomolécules comme des protéines, des polysaccharides, des polyphénols et des acides aminés qui possèdent des propriétés réductrices et stabilisantes (Prakash et al., 2011). La synthèse biologique des nanoparticules par les micro-organismes peut se produire selon deux mécanismes, intracellulaire ou extracellulaire. Dans le mécanisme intracellulaire, les ions sont tout d'abord assimilés par les micro-organismes tels que les bactéries via leur paroi cellulaire, puis réduits à l'intérieur de la cellule par l'action d'enzymes, ce qui conduit à la formation de germes de nanoparticules piégées dans la cellule. Dans le mécanisme extracellulaire, la réduction des ions a lieu dans le milieu extracellulaire sous l'action d'enzymes excrétées par les microorganismes, permettant l'obtention de nanoparticules de petite taille bien dispersées. Ces nanoparticules extracellulaires sont stabilisées par des molécules libérées par les micro-organismes comme des protéines ou peptides, qui les empêchent de s'agréger une fois formées dans le milieu environnant. Dans les deux cas, la réduction enzymatique intra ou extracellulaire contrôlée par les micro-organismes conduit à la synthèse des nanoparticules. Les nanoparticules ainsi formées peuvent ensuite être caractérisées par diverses techniques comme la microscopie électronique, la spectroscopie UV-Visible ou la diffraction des rayons X afin d'analyser leur taille, forme, structure et composition (Kumar et al., 2023).

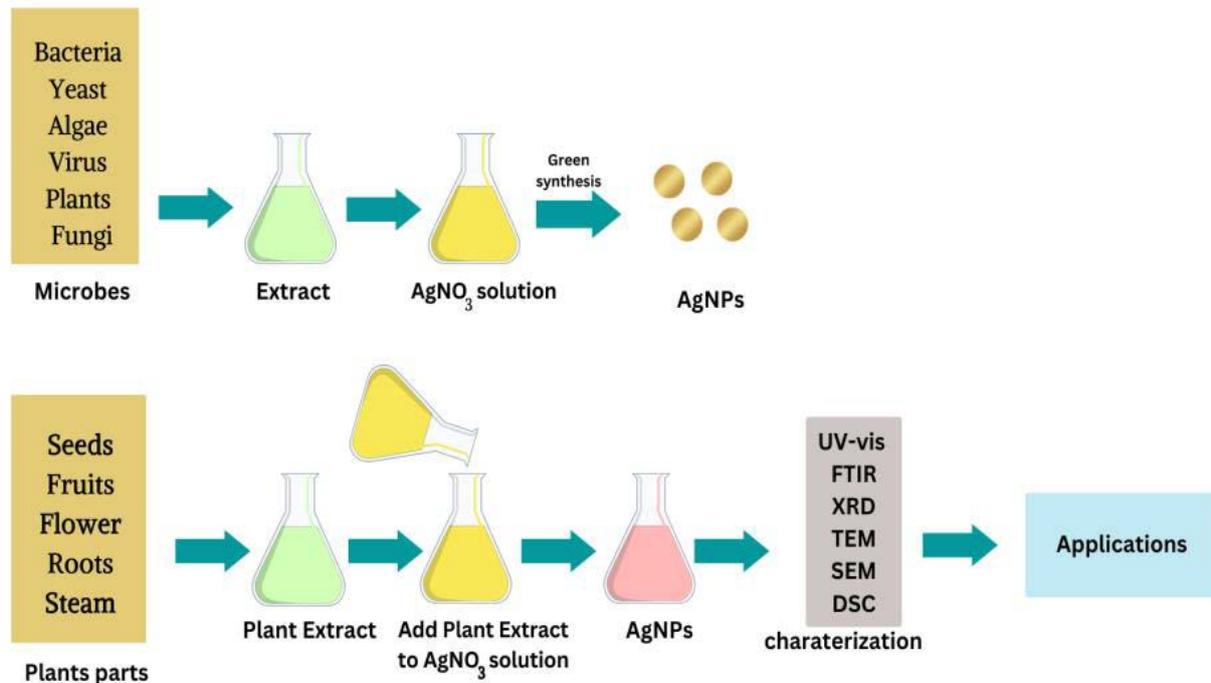


Figure 4 : La synthèse verte des nanoparticules d'argent (Yin et al., 2020)

III.1.1.2.6.2 Avantages de la synthèse verte des nanoparticules

La synthèse verte présente de nombreux avantages par rapport aux méthodes physiques et chimiques conventionnelles de synthèse des nanoparticules :

➤ **Respect de l'environnement**

Cette méthode utilise des systèmes biologiques renouvelables comme les plantes, les bactéries au lieu de produits chimiques toxiques. Elle est donc plus écologique et respectueuse de l'écosystème (**Khan et al., 2019**).

➤ **Faible toxicité**

Les nanoparticules synthétisées de manière verte présentent une menace de toxicité réduite du fait de l'absence de produits chimiques lors du processus de synthèse (**Zulfiqar et al., 2024**).

➤ **Simplicité et rapidité**

La synthèse se fait par des processus naturels sans étapes complexes. Elle est plus simple et rapide à mettre en œuvre (**Prakash et al., 2011**).

➤ **Economie**

Cette approche est plus économique car elle exploite des ressources locales et renouvelables, contrairement aux méthodes physiques et chimiques coûteuses (**Prakash et al., 2011**).

➤ **Stabilité et rendement**

Les nanoparticules produites sont bien stabilisées par les molécules organiques présentes dans les systèmes biologiques, assurant un meilleur rendement (**Zulfiqar et al., 2024**).

➤ **Moins d'énergie**

Étant donné sa simplicité, la synthèse verte nécessite moins d'énergie que les méthodes chimiques et physiques énergivores (**Zulfiqar et al., 2024**).

III.1.1.2.6.4 Exemples de nanoparticules biosynthétisées

➤ **Les nanoparticules d'argent (AgNPs)**

Les AgNPs font moins de 100 nm et sont composées de 20 à 15000 atomes d'argent, possédant diverses propriétés physico-chimiques et biologiques (**Kapoor et al., 2024**).

La production d'AgNPs implique différentes formes (sphériques, irrégulières, agglomérées) et tailles jouant un rôle clé dans la détermination de leurs propriétés et applications. Leurs caractéristiques comme la stabilité, l'efficacité dépendent de leur forme. Une compréhension des formes et tailles est essentielle pour personnaliser leurs propriétés selon les usages. Leur morphologie peut impacter leur interaction avec le vivant (Zulfiqar et al., 2024).

➤ **Les nanoparticules de Magnésium (MgNPs)**

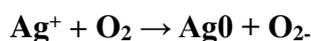
Sont des structures cristallines de magnésium à l'échelle nanométrique, ce qui signifie qu'elles ont des dimensions extrêmement petites, généralement inférieures à 100 nanomètres. Ces nanoparticules présentent des propriétés uniques par rapport à leur homologue à l'échelle macroscopique en raison de leur taille réduite, ce qui peut influencer leurs caractéristiques physiques, chimiques et biologiques (Shkodenko et al., 2020).

IV. Activités biologiques des nanoparticules

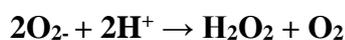
IV.1 Mécanisme antibactérien des nanoparticules

Les nanoparticules sont capables de pénétrer à l'intérieur des micro-organismes grâce à leur petite taille nanométrique (Yin et al., 2020), Une fois internalisées, les nanoparticules se dissocient et libèrent des ions métalliques toxiques selon le métal constituant la nanoparticule (argent, cuivre, fer, zinc...). Tout d'abord l'endommagement de la paroi cellulaire dû aux interactions électrostatiques, et les ions métalliques exercent alors leurs effets nocifs de diverses manières : perturber directement le fonctionnement de certaines cibles cellulaires essentielles comme les ribosomes, les enzymes ou l'ADN, affectant des processus vitaux comme la synthèse protéique ou la réplication de l'information génétique comme il est résumé dans la figure 5 (Gao et al., 2023).

Comment ? les ions métalliques jouent le rôle de catalyseurs et génèrent la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) au sein des cellules via des réactions d'oxydo-réduction. Plus précisément, les ions comme l'argent Ag^+ peuvent réagir avec l'oxygène moléculaire O_2 pour former des anions superoxyde O_2^- selon la réaction :



Ces anions superoxyde O_2^- se dismutent ensuite en peroxyde d'hydrogène H_2O_2 :



Le peroxyde d'hydrogène, en présence d'ions argent Ag^+ via la réaction de Fenton, génère des radicaux hydroxyles $\text{HO} \cdot$:



Les ERO ainsi formées, comme les radicaux hydroxyles ou le peroxyde d'hydrogène, peuvent endommager les constituants cellulaires comme les membranes lipidiques en stimulant leur peroxydation lipidique, ou les acides nucléiques en oxydant leurs bases. L'accumulation de ces dommages à différents niveaux du fonctionnement cellulaire mène in fine à la destruction de l'intégrité structurale et fonctionnelle des micro-organismes, aboutissant à leur mort. C'est donc par la libération d'ions toxiques et la génération de stress oxydant que les nanoparticules exercent leur effet microbicide (**Gebreslassie et Gebremeskel, 2024**).

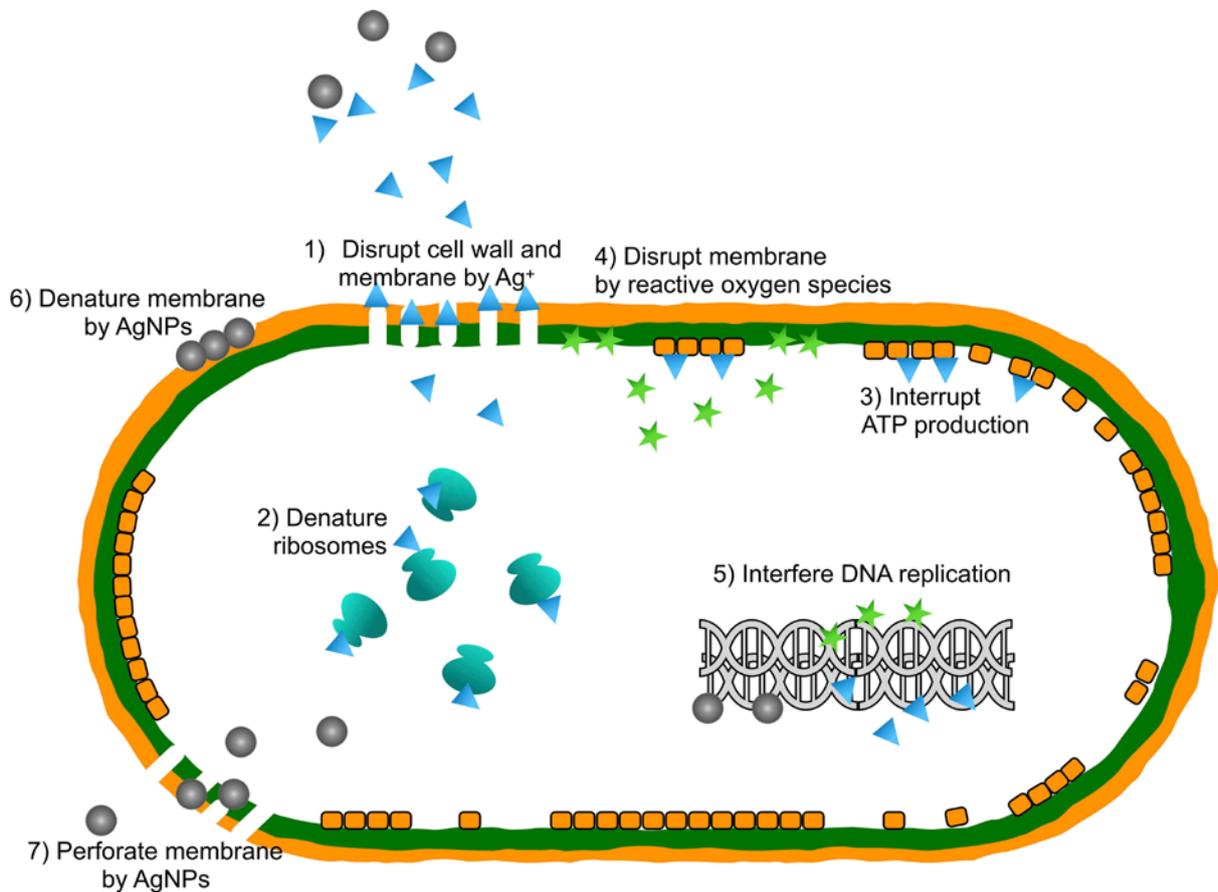


Figure 5 : Les actions antibactériennes des nanoparticules (**Yin et al., 2020**)

IV.2 Propriétés physicochimiques influençant l'interaction nanoparticule-biofilm

L'interaction entre les nanoparticules (NPs) et les biofilms bactériens est modulée par les propriétés physicochimiques à la fois des particules et du biofilm. Ces propriétés incluent les charges, l'hydrophobicité, la taille et la forme des NPs et la stabilisation.

IV.2.1 La charge de surface

Les NPs chargées positivement ont plus d'affinité pour les substances composant la matrice du biofilm comme les polysaccharides, protéines et acides qui sont généralement chargés négativement, ainsi que pour la paroi cellulaire des bactéries également chargées négativement (**Fulaz et al., 2019**).

IV.2.2 Hydrophobicité

Les NPs hydrophobes ont également tendance à interagir avec les membranes bactériennes. En effet, de par leur hydrophobicité, les nanoparticules ont une affinité pour les membranes cellulaires bactériennes qui présentent elles aussi un caractère hydrophobe dû aux chaînes carbonées apolaires de leurs lipides membranaires. Cette complémentarité chimique entre les surfaces apolaires respectives des NPs et des membranes favorise le contact entre les deux, permettant ainsi aux NPs hydrophobes d'interagir plus facilement avec la bactérie via la membrane (**Fulaz et al., 2019**).

IV.2.3 Taille

De plus, les petites NPs de taille inférieure à 10-20nm sont plus facilement internalisées dans les bactéries et donc généralement plus actives (**Fulaz et al., 2019**).

IV.2.4 La forme

Joue également un rôle, les NPs à arêtes vives étant plus susceptibles de perforer les membranes (**Fulaz et al., 2019**).

IV.2.5 Stabilisation stérique

Par des ligands chargés négativement comme le poly(vinylpyrrolidone) (PVP) peut contribuer aux interactions par des effets électrostatiques (**Fulaz et al., 2019**).

IV.3 Mécanisme d'interaction des nanoparticules avec les biofilms

Les interactions entre les nanoparticules (NPs) et les biofilms sont complexes et sont déterminées par les caractéristiques physicochimiques des NPs, de la matrice extracellulaire polymérique (MEP) et de l'environnement (**Shkodenko et al., 2020**). Le mécanisme d'interaction peut être considéré comme un processus en trois étapes clés :

IV.3.1 Le transfert des NPs à proximité du biofilm

Les mouvements de fluides facilitent le transfert des nanoparticules à proximité du biofilm. Les écoulements environnants génèrent des courants au sein de la structure du biofilm. Ces courants ont pour effet de transporter les nanoparticules présentes dans le milieu jusqu'à l'intérieur de la structure poreuse colonisée par les micro-organismes. Grâce à cette convection induite par les mouvements de fluide, le transfert des nanoparticules vers les zones proches du biofilm s'en trouve favorisé de manière significative (**Shkodenko et al., 2020**).

IV.3.2 L'attachement initial des NPs à la surface externe du biofilm

Principalement dû aux interactions électrostatiques entre le potentiel zêta des NPs et la charge de la MEP (**Joo et Aggarwal, 2018**).

De plus, un revêtement « corona » se formant à la surface des NPs au contact des molécules organiques de la matrice influence leurs interactions avec le biofilm. Le transport des NPs au sein de la matrice est également régi par les propriétés du milieu comme la viscosité matricielle, la densité cellulaire ou les écoulements de fluide (**Fulaz et al., 2019**).

IV.3.3 La pénétration et la migration des NPs au sein de la matrice du biofilm

Déterminées par la taille et la charge des NPs ainsi que par la composition et la structure hétérogène de la MEP (**Joo et Aggarwal, 2018**).

La diffusion joue probablement un rôle clé dans cette dernière étape, en fonction des caractéristiques de la MEP comme la taille des pores et la présence de canaux d'eau (**Shkodenko et al., 2020**).

IV.4 Inhibition du quorum sensing : mécanisme cible des nanoparticules métalliques contre les biofilms

Le quenching du quorum sensing (QS) résulte de l'intrusion dans la communication inter-bactérienne. Le QS régule divers processus comme la production de facteurs de virulence, la formation de biofilm, la sporulation, la bioluminescence et les interactions avec l'hôte. Les nanoparticules métalliques peuvent agir comme de puissants inhibiteurs anti-QS en affectant le mécanisme de communication cellule-cellule. Bien que l'inhibition du biofilm et des facteurs de virulence régulés par le QS se soit révélée comme une stratégie efficace, peu d'études ont rapporté l'implication directe des nanoparticules métalliques en tant qu'agents anti-QS. Plusieurs études ont démontré le potentiel anti-QS des nanoparticules d'argent, inhibant ainsi

la formation de biofilm et d'autres facteurs de virulence. D'autres types de nanoparticules métalliques telles que le zinc, le titane, le cérium, l'or et la silice possèdent également un potentiel anti-biofilm significatif entraînant l'inhibition du biofilm (**Cruz et al., 2024**).

MATERIEL
ET
METHODES

1.Lieu d'étude

Cette étude a été réalisée au Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agro-alimentaire, au Biomédical et l'Environnement (LAMAABE) de l'Université Abou-Bekr Bekaid-Tlemcen.

2.Prélèvements

Sur une période de 1 mois allant de 14 Février 2024 au 14 Mars 2024, 25 patients ont été inclus dans cette étude où 25 dispositifs médicaux (sondes urinaires, cathéters veineux périphériques) ont été collectés au niveau de différents services du C.H.U de Tlemcen : Service de Maternité, Chirurgie A, Traumatologie, Infectiologie et Urgences.

Les dispositifs médicaux ont été soigneusement prélevés dans des conditions d'asepsie, placées individuellement dans des tubes en verre stériles puis acheminés vers le laboratoire pour une analyse immédiate.

3.Mise en culture et isolement

L'extrémité distale de chaque dispositif médical a été coupée, placée dans 5mL de Brain Heart Infusion Broth (BHIB) stérile puis agité au vortex durant 1 minute puis incubé durant 24h à 37°C.

L'isolement bactérien consiste à mettre en culture un prélèvement clinique sur un milieu de culture solide de manière à obtenir des colonies bactériennes isolées les unes des autres

4.Identification des souches bactériennes

Après la purification, l'identification morphologique et biochimique des souches bactériennes a été réalisée.

4.1 Caractères morphologiques

4.1.1 Examen macroscopique des caractères cultureux

Les caractéristiques macroscopiques de la culture bactérienne sont observées. Cela comprend l'examen de la forme, de la taille, de la couleur, de la texture et de tout autre aspect visible de la colonie bactérienne.

4.2 Caractères biochimiques

L'identification biochimique a été réalisée par la galerie API 20E pour l'identification des bacilles à Gram négatif. Le système API (Appareillage et Procédé d'Identification) est une version miniaturisée et standardisée des techniques biochimiques conventionnelles pour l'identification des bactéries. La préparation et l'inoculation de la galerie sont résumées dans le tableau 04, Annexe 4.

5. Conservation des souches

Toutes les souches identifiées sont conservées en double réplique :

- **Gélose nutritive inclinée** : c'est une technique de conservation à court terme. Une fois que les tubes sont ensemencés et placés dans l'étuve à 37°C pendant 24h, ils sont conservés dans le réfrigérateur à 4°C. La vitalité de la souche se maintient pendant des durées variables, selon la température et l'espèce microbienne.
- **Le glycérol** : c'est une technique de conservation à long terme (-80°C). Elle consiste à l'ajout du glycérol aux suspensions bactériennes. Le glycérol est un cryoprotecteur permettant d'éviter au maximum les altérations cellulaires dues au refroidissement.

6. Etude de la formation de biofilm

6.1 Méthode de plaque de culture de tissus (TCP)

6.1.1 Technique

Le test TCP décrit par O'toole et al., (2000) légèrement modifié permet une évaluation quantitative de la formation du biofilm.

A partir d'une culture de 24 heures dans le milieu BHIB, les puits d'une microplaque de 96 puits (polystyrène) sont inoculés avec 150 µL de la suspension bactérienne ajustée à une DO comprise entre 0,08 et 0,1. Les microplaques sont incubées pendant 24 heures à 37°C. Les 96 puits sont lavés trois fois avec l'eau distillée stérile afin d'éliminer les bactéries libres (planctoniques). Les biofilms formés par l'adhérence des organismes sessiles sont colorés avec du cristal violet (0,5%) pendant 15 min. L'excès de colorant est ensuite rincé par un lavage en profondeur avec de l'eau distillée et les plaques sont laissées pour le séchage pendant quelques minutes. Les microplaques sont ensuite remplies avec 150 µL d'une solution d'éthanol (96%) afin d'évaluer l'importance de la coloration du biofilm (figure 7) (**Musk et al., 2005**).

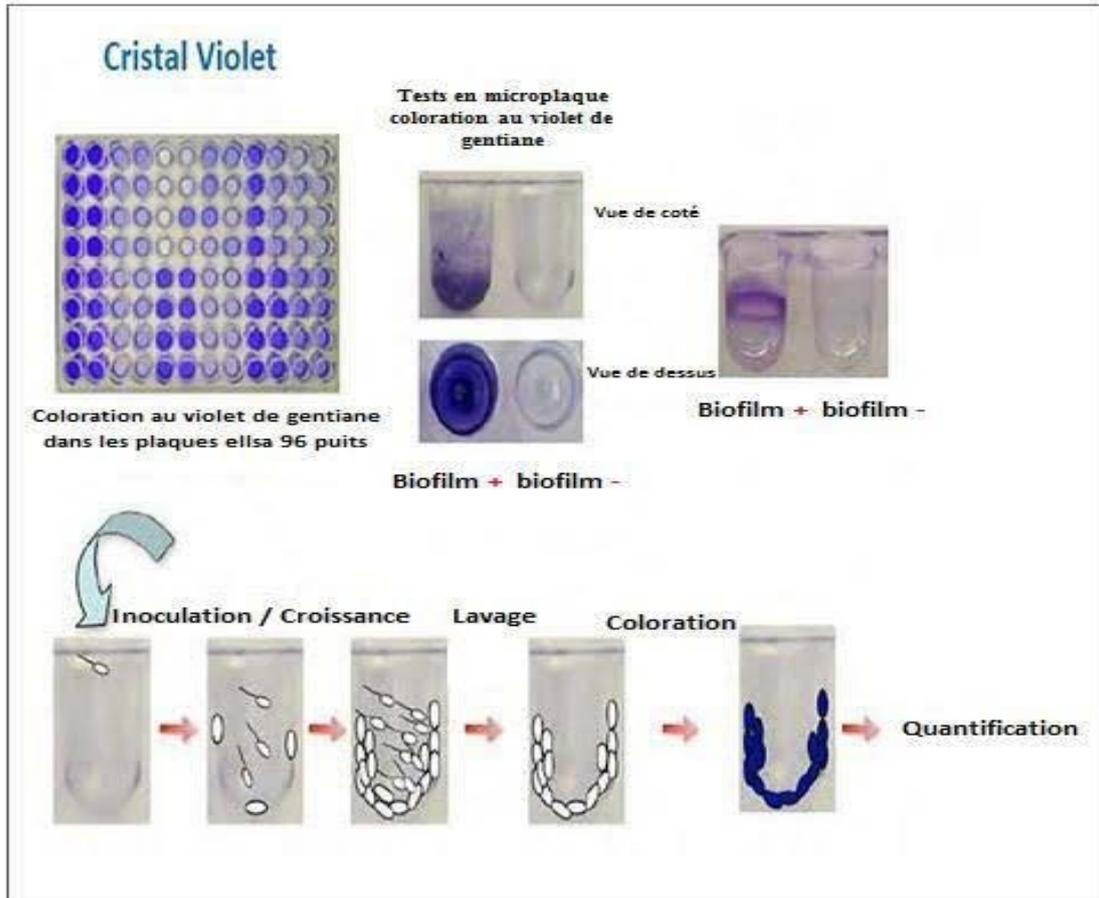


Figure 6 : Formation de biofilm en microplaque PVC

6.1.2 Lecture

La classification des résultats obtenus présente sur la base du DO témoin. Les souches ont été classées comme suit :

$DO \leq Dot$ (Témoin) : non formatrice du biofilm, $Dot < DO \leq 2x Dot$: souche faiblement formatrice de biofilm, $Dot \times 2 \leq DO \leq Dot \times 4$: Modérée, $Dot \times 4 \leq DO$: Fortement formatrice du biofilm (Musk et al., 2005).

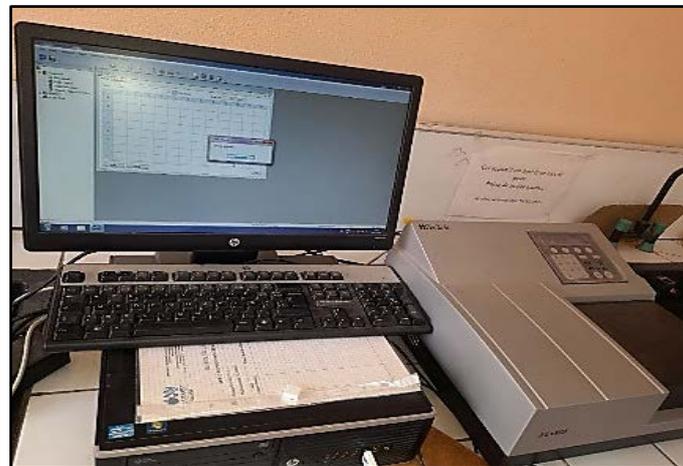


Figure 7 : Lecteur ELISA

7. Biosynthèse de nanoparticules d'argent et de magnésium par *Bacillus* spp

Des souches bactériennes de *Bacillus* spp ont été testées pour leurs potentiel à biosynthétiser des nanoparticules d'argent (AgNPs) et de magnésium (MgNPs).

7.1 Biosynthèse des nanoparticules d'argent

Les étapes de la biosynthèse de nanoparticules d'argent peuvent se résumer comme suit : (Saravanan *et al.*, 2018).

7.1.1 Préparation des souches bactériennes

Les souches E2, E4 utilisées dans cette étude ont été obtenues à partir des tubes coniques sous forme de spores de *Bacillus* spp au niveau du laboratoire LAMAABE.

7.1.2 Purification des souches

Les souches sont revivifiées dans du BHIB, après un temps d'incubation de 24h à 30 °C. ces dernières sontensemencées sur la gélose nutritive et incubées à 30 °C pendant 24 h pour vérifier leurs puretés.

7.1.3 Préparation des cultures

Dans le but de préparer les cultures qui sont utilisées ensuite pour la biosynthèse des nanoparticules d'argent Une colonie pure de chaque souche E2 et E4 a étéensemencée dans 100mL de milieu BHIB, dans des flacons distincts. Ces flacons ont été incubés pendant 24h à 30°C sous agitation de 100rpm. Par la suite, le contenu des flacons a été transféré dans 10 tubes coniques pour chaque souche. Ces derniers ont été placés dans une centrifugeuse (SIGMA3.18KS) pendant 15min à 6000 trs/min. Les surnageants de E2 et E4 ont été répartis dans 4 flacons, soit 2 flacons par souche. 1mL d'eau distillée a été ajouté dans chaque tube pour faciliter la récupération des culots. Les culots de E2 et E4 ont été répartis dans 4 flacons au total, avec un volume de 5mL de culot dans chaque flacon, soit 2 flacons par souche.

7.1.4 Préparation des solutions d'argent

Une solution de nitrate d'argent AgNO_3 de concentration 2mmol (0,034g dissous dans 100mL d'eau) a été préparée. Une solution de concentration 4mmol (0,068g dissous dans 100mL) a été préparée également (Tableau 1).

Tableau 1 : Préparation des solutions de AgNO₃

Solution	Concentration souhaitée (mM)	Poids moléculaire (g/mol)	Quantité à peser (g)	Volume final (mL)
AgNO ₃	2	169,87	0,034	100
AgNO ₃	4	169,87	0,068	100

7.1.5 Biosynthèse des nanoparticules

Des volumes de solutions d'argent ont été ajoutés aux flacons pour obtenir un volume final de 100mL. Ces flacons ont été incubés à 30°C pendant 5 jours sous agitation à 100rpm à l'obscurité.

7.1.6 Purification et récupération des nanoparticules

Le contenu des flacons a été transféré dans des tubes coniques, (Les surnageants ont été directement transférés dans des tubes coniques et les culots ont d'abord subi deux cycles de choc thermique dans un bain-marie à une température de 100°C puis au congélateur à -4°C pendant 15 min). Une première centrifugation à 10000trs/min pendant 10 minutes a été effectuée pour tous les tubes coniques, le surnageant a été éliminé et le culot lavé avec 2mL d'eau distillée. Une deuxième centrifugation à 10000trs/min pendant 10 minutes a été réalisée. Le surnageant a été de nouveau éliminé et le culot lavé avec 2mL d'eau distillée. Une troisième centrifugation à 10000trs/min pendant 10 minutes a été effectuée. Après cette troisième centrifugation, les culots ont été séchés dans une étuve à 100°C pendant 12 heures.

7.2 Biosynthèse des nanoparticules de Magnésium

Le même protocole expérimental a été suivi pour la synthèse des nanoparticules de magnésium, à l'exception des quantités dissoutes de sulfate de magnésium MgSO₄ pour les solutions de 2mmol (0,024g de MgSO₄ dans 100mL) et 4mmol (0,048g de MgSO₄ dans 100mL) lors de la préparation des solutions (Tableau 2).

Tableau 2 : Préparation des solutions de MgSO₄

Solution	Concentration souhaitée (mM)	Poids moléculaire (g/mol)	Quantité à peser (g)	Volume final (mL)
MgSO ₄	2	120,37	0,024	100
MgSO ₄	4	120,37	0,048	100

8. Caractérisation des nanoparticules biosynthétisées

Cette Partie a été réalisée dans le laboratoire LASNABIO sous la direction de Monsieur GHANEM.

8.1 La spectrophotométrie UV-visible

Les spectres d'absorbance UV-visible des échantillons biosynthétisés par la souche E2 ont été mesurés par un spectrophotomètre dans l'intervalle de 200 à 800 nm (Figure 8). À cet effet, la poudre des nanoparticules d'argent et magnésium lyophilisée a été dispersée dans l'eau distillée stérile et sonique pendant quelques minutes (Alsamhary, 2020).

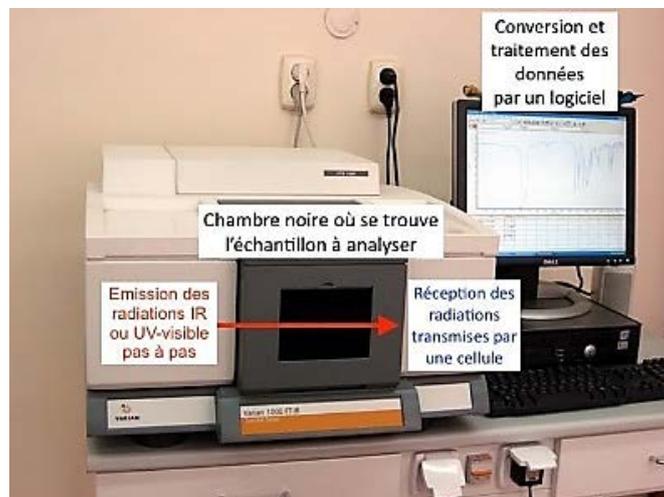


Figure 8 : La spectrophotométrie UV-visible

8.2 La spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

Les Spectres de spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) des échantillons ont été enregistrés sur un spectrophotomètre en utilisant la méthode des pastilles KBr dans la plage de $400\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$, avec la résolution de 4 cm^{-1} , (Figure 9) pour mettre en évidence les molécules bioactives responsables de la réduction et de la biosynthèse des nanoparticules (Alsamhary, 2020).



Figure 9 : La spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier

9. Activités biologiques des nanoparticules biosynthétisées

En raison de son rendement optimal dans la biosynthèse des nanoparticules, la souche E2 de *Bacillus spp* a été sélectionnée pour évaluer l'activité antibactérienne et anti-biofilm des nanoparticules produites.

9.1 L'activité antibactérienne des nanoparticules d'argent de magnésium et mélange d'argent et de magnésium sur *Klebsiella pneumoniae*

L'activité antibactérienne des nanoparticules d'argent sur *Klebsiella pneumoniae* a été évaluée par la méthode de micro-dilution en plaque. Une microplaque de 96 puits a été utilisée, dans la première ligne un volume de $200\mu\text{L}$ de milieu de culture BHIB servant de témoin négatif. Dans la deuxième ligne a été déposé un volume de $200\mu\text{L}$ d'une suspension bactérienne de *Klebsiella pneumoniae* dont la DO a été ajustée à 0,1 servant de témoin positif. Dans les 3 lignes suivantes, un volume de $100\mu\text{L}$ de BHIB stérile a été déposé dans chaque puit. La solution mère de nanoparticules d'argent a été préparée à 0,03% en pesant 0,03g de nanoparticules d'argent séchés et en les dispersant dans 1 mL d'eau distillée stérile. Un volume de $100\mu\text{L}$ de la solution mère de nanoparticules d'argent a ensuite été ajouté dans le premier puit de chaque ligne. Par successions de dilutions, $50\mu\text{L}$ du mélange du puit précédent ont été transférés dans le puit suivant jusqu'au 12ème puit, permettant d'obtenir une gamme de

concentrations décroissantes en nanoparticules d'argent. Enfin, un volume de 100µL de la suspension bactérienne ajustée à DO 0,1 a été ajouté dans tous les puits des 3 lignes testées puis une incubation a été réalisée pendant 24h à 37°C avant la lecture par ELISA. Cette méthode a permis d'évaluer la Concentration Minimale Inhibitrice des nanoparticules d'argent sur *Klebsiella pneumoniae* (John et al., 2022).

Il s'agit de la même méthode de micro-dilution en plaque utilisée précédemment pour déterminer l'activité antibactérienne des nanoparticules de magnésium. La même concentration de 0,03% a été utilisée pour préparer la solution mère de nanoparticules de magnésium, en pesant 0,03g de nanoparticules de magnésium séchés et en les dispersant dans 1 mL d'eau distillée stérile.

La même méthode a été utilisée pour tester l'activité antibactérienne d'un mélange de nanoparticules d'argent et de magnésium sur *Klebsiella pneumoniae*, en prélevant un volume de 50 µL de la solution de nanoparticules d'argent et 50 µL de la solution de nanoparticules de magnésium, de sorte que le volume final de la solution des nanoparticules égale à 100 µL.

9.2 L'activité anti-biofilm des nanoparticules d'argent de magnésium et mélange d'argent et de magnésium sur *Klebsiella pneumoniae*

L'activité anti-biofilm des nanoparticules d'argent a été étudiée selon un protocole méthodique. Initialement, un biofilm a été formé dans trois lignes de microplaque après calibration de la densité optique de la souche à 0,1. Les microplaques ont été incubées à 37°C pendant 24 heures pour permettre le développement du biofilm. Ensuite, une solution de nanoparticules d'argent a été préparée en dissolvant 0,05 g de nanoparticules d'argent dans 1mL d'eau. Après avoir retiré l'excès de liquide des microplaques à l'aide d'une micropipette, les puits ont été rincés avec 100 µL d'eau distillée stérile. Dans chaque puit, un volume de 100 µL de la solution de nanoparticules d'argent a été ajouté, puis un processus de transfert de 50 µL de contenu d'un puit à l'autre a été effectué jusqu'au 12ème puit. Trois lignes ont été utilisées pour trois temps de contact différents : 1 heure pour la première ligne, 30 minutes pour la deuxième ligne et 15 minutes pour la troisième ligne. Après chaque temps de contact, l'argent a été éliminé en rinçant les puits avec de l'eau distillée et en ajoutant 100 µL de cristal violet, laissant agir pendant 15 minutes. Ensuite, les puits ont été rincés à l'eau distillée, et 100 µL d'éthanol ont été ajoutés dans chaque puits, laissant agir pendant 10 minutes avant la lecture par ELISA (John et al., 2022).

Concernant les nanoparticules de magnésium, le même protocole a été suivi avec une concentration identique de 0,05 g de nanoparticules de magnésium dans 1 mL d'eau distillée. De plus, le test d'activité anti-biofilm a également été réalisé en combinant les nanoparticules d'argent et de magnésium dans un ratio égal. Ce processus a permis de comparer l'efficacité des nanoparticules d'argent et de magnésium individuellement, ainsi que leur efficacité combinée contre les biofilms bactériens, tout en conservant une attention particulière à la gestion des volumes pour maintenir la cohérence expérimentale. De plus, des microplaques distinctes ont été utilisées pour les témoins, où une ligne était dédiée à la souche seule sous forme de biofilm et une autre ligne était utilisée pour le milieu BHIB, offrant ainsi une comparaison exhaustive des résultats.

RESULTATS

ET

DISCUSSIONS

1. Prélèvements

Entre 14 Février 2024 et 14 Mars 2024, 25 prélèvements ont été analysés, soit 21 sondes urinaires, 04 cathéters veineux périphériques, prélevés chez 25 patients hospitalisés dans différents services : Maternité, Urgences, Chirurgie A, Traumatologie et Infectiologie du CHU de Tlemcen (Algérie). La figure 10 montre la répartition de ces prélèvements dans les différents services du CHU de Tlemcen où ils ont été effectués.

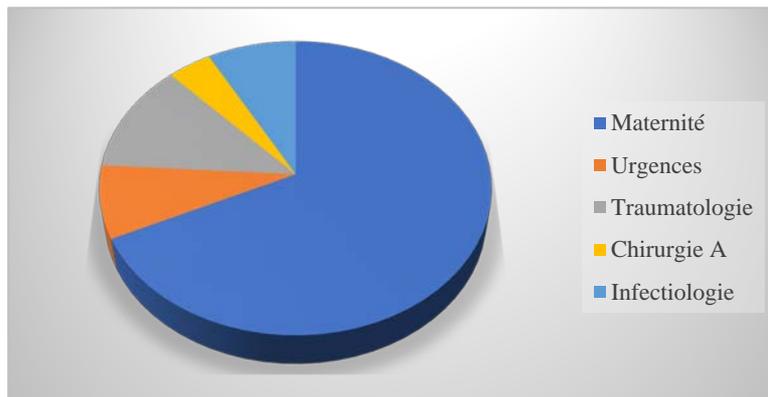


Figure 10 : Répartition des prélèvements dans les services au niveau de CHU

2. Identification des souches bactériennes

2.1 Caractères macroscopique des souches bactériennes

Les observations macroscopiques des colonies bactériennes révèlent des caractéristiques distinctes pour chaque espèce étudiée.

Par exemple, les colonies de *Klebsiella pneumoniae* présentent une apparence muqueuse et bombée, avec une consistance visqueuse (Figure 11). Cette morphologie pourrait être due à la production de capsules polysaccharidiques, une caractéristique souvent associée à *K. pneumoniae* et qui lui confère une certaine résistance aux conditions environnementales hostiles (Muthuchamy et al., 2020).



Figure 11 : Aspect macroscopique des colonies de *Klebsiella pneumoniae* sur Mac Conkey

D'autre part, les colonies d'*Enterobacter cloacae* sont décrites comme rondes, lisses et légèrement convexes, ce qui suggère une structure cellulaire bien organisée et une croissance uniforme. Cette observation pourrait être indicative de la capacité d'*Enterobacter cloacae* à former des colonies compactes (Figure 12), ce qui pourrait avoir des implications dans sa virulence et sa capacité à coloniser les surfaces dans les environnements hospitaliers (Benahmed et al., 2023).



Figure 12 : Aspect macroscopique des colonies d'*Enterobacter cloacae* sur Mac Conkey

Quant à *Acinetobacter baumannii*, ses colonies présentent une forme variable, parfois ronde et irrégulière, ce qui pourrait refléter une certaine plasticité morphologique de cette espèce (Figure 13). La consistance ferme et légèrement convexe des colonies d'*A. baumannii* pourrait indiquer une adaptation à des conditions environnementales variées, ce qui est cohérent avec sa capacité à coloniser une grande diversité de milieux et de surfaces (Barati et al., 2024).



Figure 13 : Aspect macroscopique des colonies d'*Acinetobacter baumannii* sur Mac Conkey

Enfin, les colonies d'*Escherichia coli* présentent une morphologie typique pour cette espèce, avec des colonies rondes régulières et une consistance lisse et légèrement convexe (Figure 14). Ces caractéristiques sont souvent associées à *E. coli* et sont importantes pour son identification dans les échantillons cliniques et environnementaux (Vysakh et al., 2018).



Figure 14 : Aspect macroscopique des colonies d'*Escherichia coli* sur Mac Conkey

Ces observations macroscopiques fournissent une première indication des caractéristiques phénotypiques des souches bactériennes étudiées. Elles peuvent également être utilisées comme outil de diagnostic préliminaire pour différencier les différentes espèces bactériennes. Cependant, il est important de compléter ces observations avec des analyses supplémentaires, telles que l'identification biochimique par la galerie API20E, pour une caractérisation précise des souches isolées.

2.2 Caractères biochimiques des souches bactériennes

L'identification par la galerie API20E a permis de caractériser 23 souches des bacilles à Gram négatif, avec 8 profils numériques différents (Figure 15).

Dans cette série de prélèvements infectieux, plusieurs espèces bactériennes ont été isolées, notamment *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* et *Acinetobacter baumannii*. Ces bactéries sont souvent associées aux infections, ce qui souligne l'importance de leur identification précise pour une gestion appropriée des infections liées aux soins de santé.

Escherichia coli, identifiée dans 5 des 18 prélèvements infectieux, a été caractérisée par le biotype **7145553** selon les résultats de l'API. Cette bactérie, est une bactérie commensale de l'intestin humain. Cependant, certaines de ses souches appelées *E-coli* uropathogènes ont acquis des facteurs de virulence leur permettant de provoquer des infections extra-intestinales. Elles

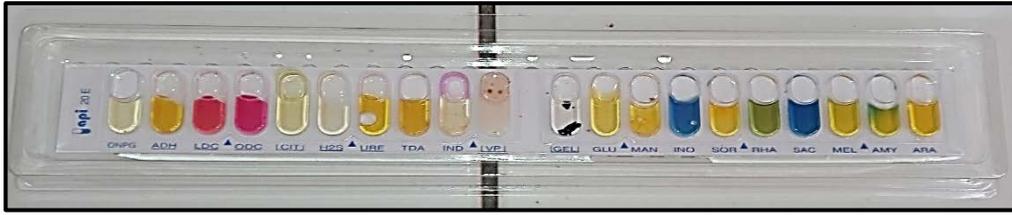
sont notamment impliquées dans les infections urinaires, qui sont favorisées par la présence de dispositifs médicaux comme les sondes ou les cathéters urinaires (Vysakh et al., 2018).

Klebsiella pneumoniae, la bactérie la plus fréquemment isolée dans cette série avec 11 prélèvements sur 18, a été caractérisée par plusieurs biotypes différents, notamment le biotype **0205773 (3 isolats)**, le biotype **1205773 (5 isolats)** et le biotype **7215773 (3 isolats)**. Le biotype **1205773** a été le plus fréquent. *Klebsiella pneumoniae* est une bactérie à Gram négatif fréquemment identifiée dans les infections liées aux soins. Elle colonise l'homme de façon asymptomatique mais peut devenir pathogène chez les personnes hospitalisées ou immunodéprimées. Elle est impliquée dans les pneumopathies, infections du sang et urinaires nosocomiales. Elle forme facilement des biofilms sur le matériel médical, rendant les infections difficiles à soigner. Cette bactérie développe aussi des résistances aux antibiotiques comme les céphalosporines. *K. pneumoniae* représente donc un enjeu majeur de santé publique de sa participation croissante aux infections nosocomiales et sa multirésistance (Muthuchamy et al., 2020).

Enterobacter cloacae a été isolée dans 5 des 18 prélèvements, avec deux biotypes différents identifiés : le biotype **7305573 (3 isolats)** et le biotype **3103633 (2 isolats)**. C'est une bactérie appartenant à la famille des Entérobactéries, qui sont une cause majeure d'infections contractées à l'hôpital. *E. cloacae* est connue pour être un pathogène multi-résistant isolé fréquemment en milieu hospitalier. Elle est capable de former des biofilms seuls ou en association avec d'autres micro-organismes comme les levures du genre *Candida*. La présence d'*E. cloacae* dans les biofilms polymicrobiens représente un risque important d'infections nosocomiales, particulièrement lors de l'utilisation de dispositifs médicaux (Benahmed et al., 2023).

Acinetobacter baumannii, isolé dans 2 des 18 prélèvements, a été caractérisé par deux biotypes différents : le biotype **0005043** et le biotype **0205053**. *Acinetobacter baumannii* a la capacité de former des biofilms tenaces sur de nombreux dispositifs médicaux tels que les cathéters. La formation de biofilm lui permet de mieux résister aux antibiotiques et au système immunitaire de l'hôte. Les biofilms d'*A. baumannii* sur les dispositifs médicaux présentent donc un risque important d'infections nosocomiales difficiles à traiter (Barati et al., 2024).

En résumé, la présence de différentes espèces bactériennes, ainsi que la diversité des biotypes associés, soulignent l'importance de caractériser précisément les souches isolées dans les infections nosocomiales pour une prise en charge appropriée et la mise en œuvre de mesures de prévention et de contrôle efficaces.



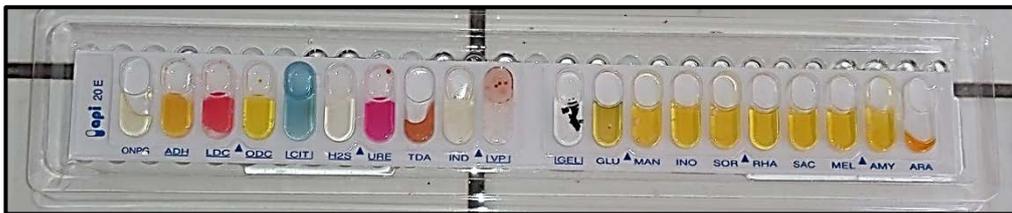
Biotype (1) 7145553



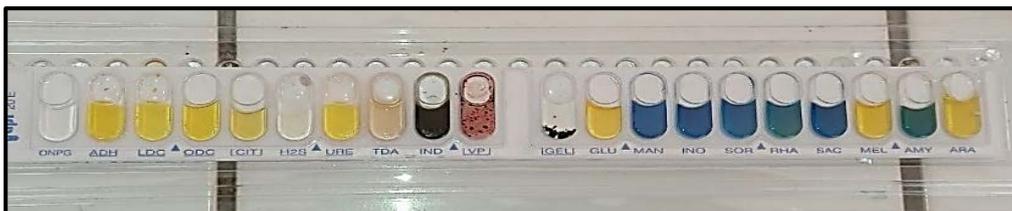
Biotype (2) 1205773



Biotype (3) 0205773



Biotype (4) 7215773



Biotype (5) 0005043

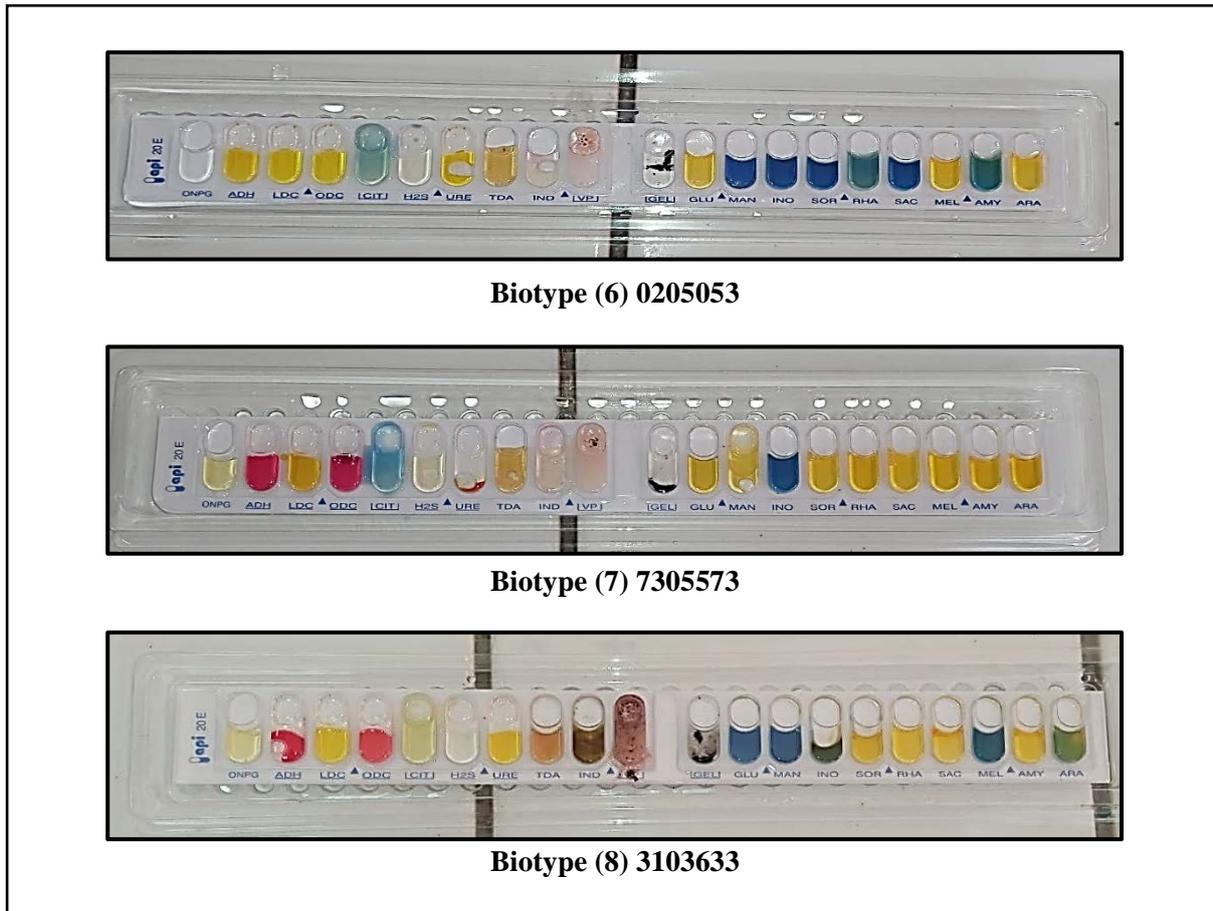


Figure 15 : Identification des souches bactériennes par la galerie API20E

Tableau 3 : Espèces bactériennes avec biotypes

Prélèvements	Code de l'API	Espèces identifiées
01	7145553	<i>Escherichia coli</i>
01	1205773	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
02	7145553	<i>Escherichia coli</i>
03	1205773	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
04	0005043	<i>Acinetobacter baumannii</i>
05	7305573	<i>Enterobacter cloacae.</i>
06	7305573	<i>Enterobacter cloacae.</i>
07	0205773	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
08	3103633	<i>Enterobacter cloacae.</i>
08	1205773	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
09	0205773	<i>Klebsiella pneumoniae</i>

09	7145553	<i>Escherichia coli</i>
10	7215773	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
10	7145553	<i>Escherichia coli</i>
11	7215773	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
11	7145553	<i>Escherichia coli</i>
12	0205053	<i>Acinetobacter baumannii</i>
13	7305573	<i>Enterobacter cloacae.</i>
14	3103633	<i>Enterobacter cloacae.</i>
15	1205773	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
16	0205773	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
17	7215773	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
18	1205773	<i>Klebsiella pneumoniae</i>

2.3 Etude de la formation de biofilm

L'étude de la formation de biofilm par la méthode du cristal violet a révélé des variations significatives dans la capacité de différentes souches bactériennes à former du biofilm mais la plupart des souches sont fortement formatrices de biofilm (Figure16).



Figure 16 : Evaluation de la production de biofilm par la méthode TCP

Les résultats montrent que *Klebsiella pneumoniae* présente une forte capacité de formation de biofilm, avec des valeurs variables de densités optiques (Figure 17). Cette variabilité intra-espèce souligne l'importance de considérer les différents isolats même au sein d'une même espèce.

(Li et al., (2024) ont montré que les souches cliniques de *K. pneumoniae* formaient un biofilm plus épais et organisé que la souche de référence, avec une abondante matrice extracellulaire conférant une résistance accrue aux antibiotiques (Lordelo et al., 2024). *K. pneumoniae* démontre donc une excellente capacité à former un biofilm mature et structuré, stratégie favorable à sa survie

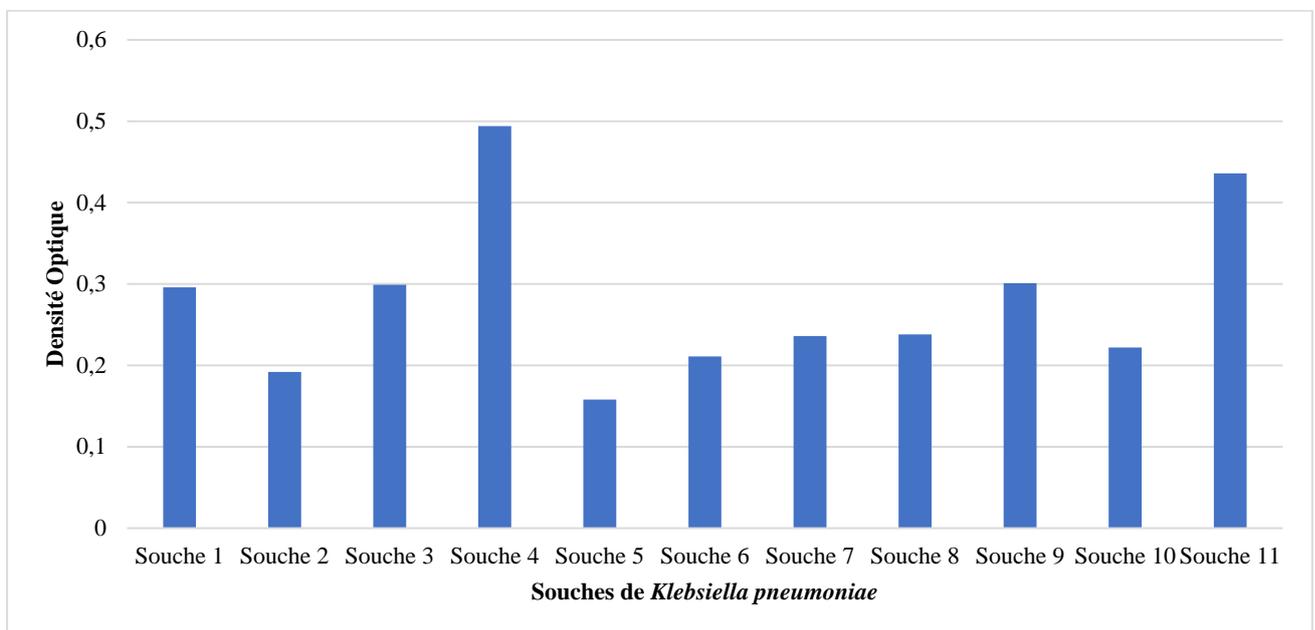


Figure 17 : Capacité de formation de biofilm chez les souches de *Klebsiella pneumoniae*

D'autre part, *Escherichia coli* et *Enterobacter cloacae* montrent généralement une forte capacité de formation de biofilm, avec des valeurs plus basses que celles de *Klebsiella pneumoniae* (figure 18-19). Ces résultats sont cohérents avec la littérature qui indique que ces espèces sont généralement moins associées à la formation de biofilm que *Klebsiella pneumoniae*. Cependant, une souche d'*E. coli* O157:H7 s'est révélée être un fort producteur de biofilm dans certaines conditions (Lebeloane et al., 2024) et selon Liu et al., (2021) *Enterobacter cloacae* possède une forte capacité de formation de biofilm, dans cette étude les résultats indiquent que la souche testée est capable de former des biofilms denses et organisés au cours du temps, avec une augmentation de la production d'exo-polysaccharides.

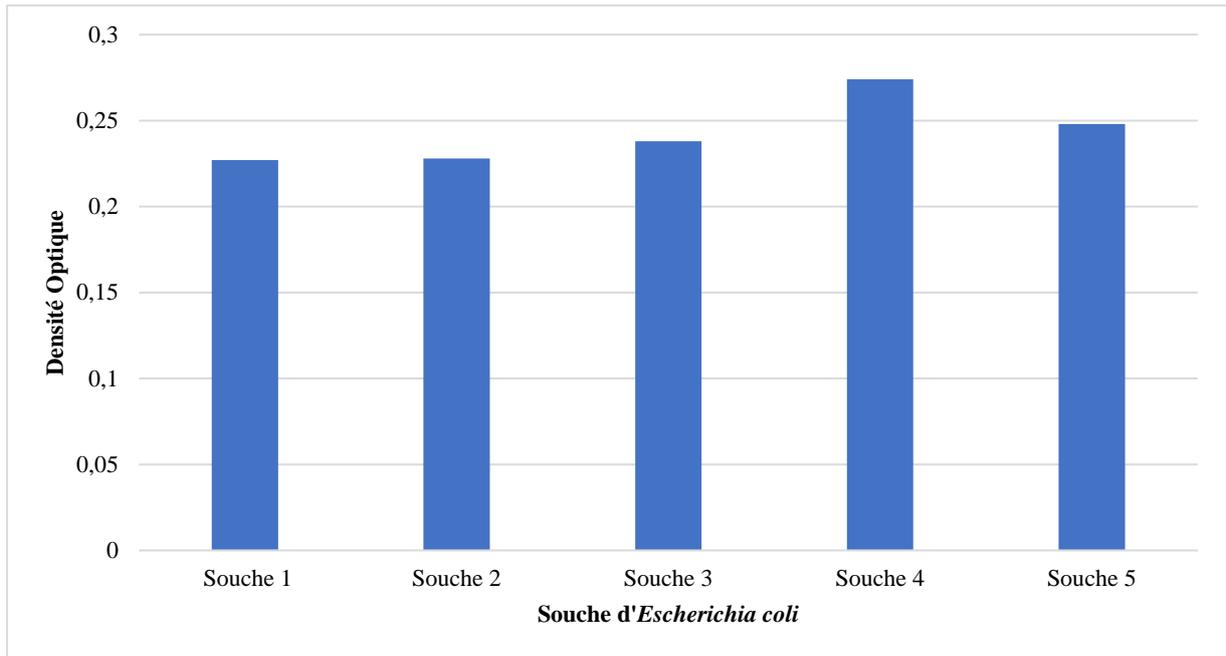


Figure 18 : Capacité de formation de biofilm chez les souches d'*Escherichia coli*

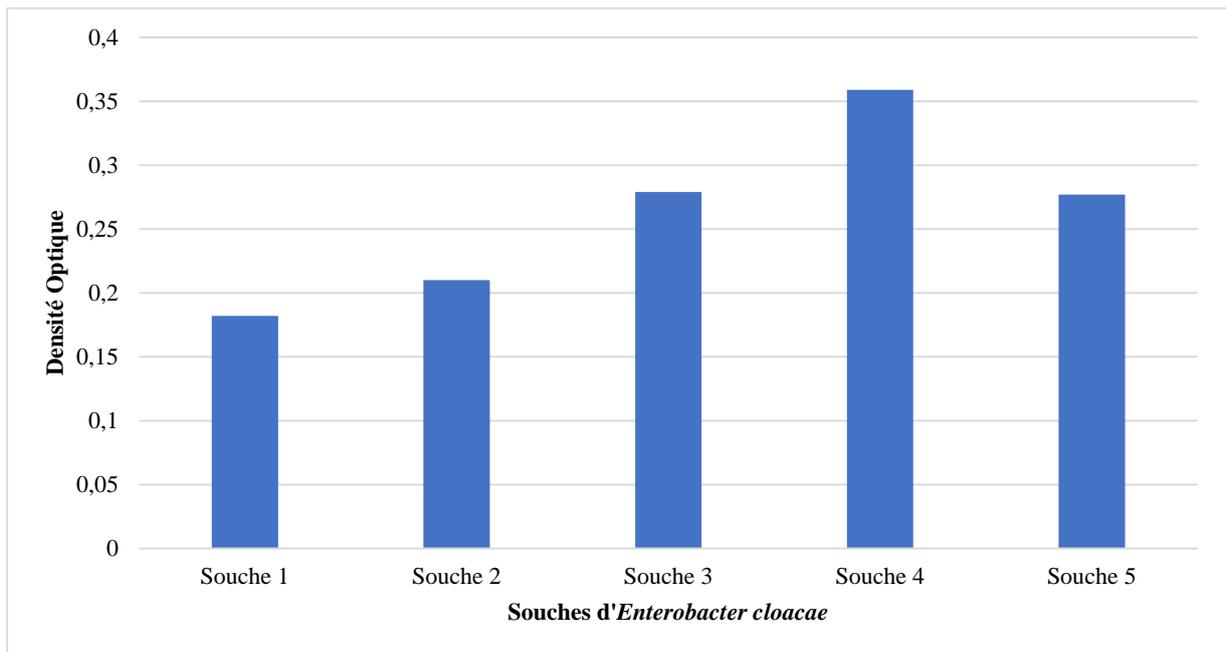


Figure 19 : Capacité de formation de biofilm chez les souches d'*Enterobacter cloacae*

Les souches d'*Acinetobacter baumannii* montrent une similitude notable dans sa capacité de formation de biofilm, la souche 01 d'*Acinetobacter baumannii* présente une capacité forte de formation de biofilm avec une DO de 0.309, tandis que la souche 02 avec une DO de 0.283 (Figure 20). Selon **Barati et al., (2024)** l'isolat clinique d'*Acinetobacter baumannii* a affiché une plus grande capacité dans la formation de biofilm, ce qui s'aligne avec son origine clinique.

Cela suggère que cet isolat clinique a une capacité accrue de former des biofilms en comparaison à d'autres souches bactériennes. Cette propriété pourrait être liée à des facteurs de virulence ou d'adaptation spécifiques à l'environnement clinique, conférant à cet isolat un avantage dans la formation de biofilms par rapport à d'autres isolats.

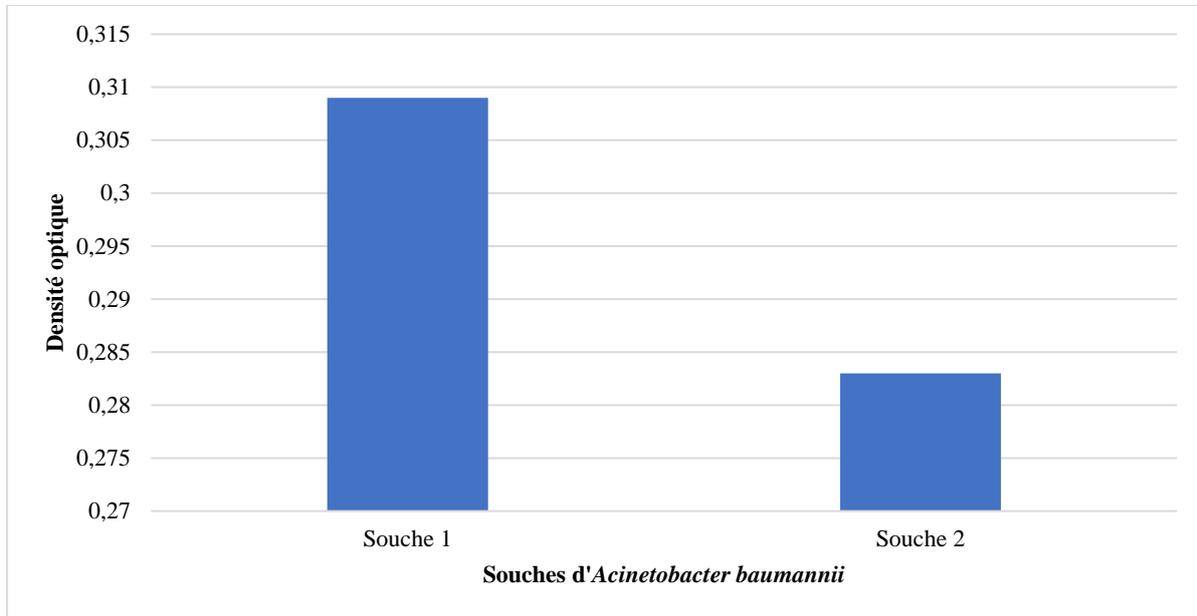


Figure 20 : Capacité de formation de biofilm chez les souches d'*Acinetobacter baumannii*

Les variations dans la capacité de formation de biofilm entre les différentes souches isolées suggèrent l'importance des conditions environnementales locales dans la formation de biofilm. Des facteurs tels que la composition du milieu de culture ou les propriétés de surface des microplaques pourraient influencer la capacité des bactéries à former du biofilm.

Cette étude met en lumière l'importance de comprendre la formation de biofilm des souches bactériennes. Les biofilms bactériens sont impliqués dans de nombreux problèmes de santé, notamment les infections associées aux soins et la résistance aux antibiotiques.

Comprendre les mécanismes de formation de biofilm pourrait ouvrir la voie au développement de stratégies efficaces pour prévenir ou éliminer les biofilms, ce qui pourrait avoir un impact significatif sur la gestion des infections et la santé publique en général.

4. Biosynthèse des nanoparticules d'argent et de magnésium

4.1 Préparation des souches productrices

La récupération des souches **E2** et **E4** du *Bacillus*, préalablement conservées au glycérol, a permis d'obtenir des suspensions homogènes après ensemencement dans le milieu BHIB et incubation dans les conditions standards de 24h à 30°C. Ce protocole s'est révélé efficace pour remettre en culture les souches de manière viable, en utilisant un mode de conservation et un milieu de culture adaptés qui ont assuré leur bon développement. Les résultats ont démontré la réussite de cette étape préliminaire, fournissant ainsi les souches bactériennes nécessaires à la poursuite des expérimentations (Figure 21-22).



Figure 22 : Aspect macroscopique de la souche E2



Figure 21 : Aspect macroscopique de la souche E4

4.2 Production des biosynthétisés

La culture des souches E2 et E4 dans 100mL de milieu BHIB a permis une croissance abondante après 24h à 30°C, avec un trouble marqué du milieu (Figure 23).



Figure 23 : Cultures bactériennes de E2 et E4

4.3 Récupération et centrifugation

La centrifugation a permis de séparer efficacement les culots bactériens des surnageants contenant les métabolites sécrétés (Figure 24).

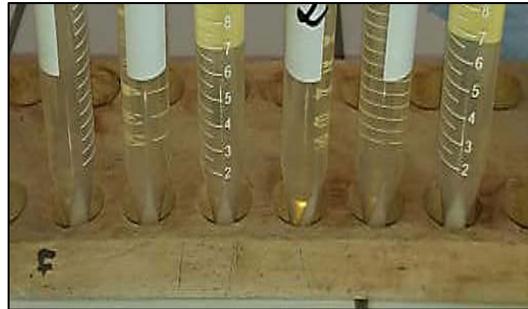


Figure 24 : Résultats de centrifugation

4.4 Préparation des solutions d'argent et de magnésium

Les solutions d'argent et de magnésium à 2mM et 4mM ont été correctement préparées et sont prêtes pour l'étape de biosynthèse (Figure 25-26).



Figure 26 : Solution de nitrate d'argent

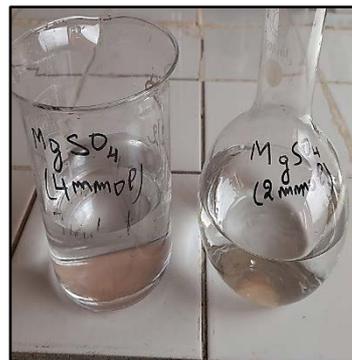


Figure 25 : Solution de sulfate de magnésium

4.5 Biosynthèse des nanoparticules

Après l'ajout de $MgSO_4$ et $AgNO_3$ en solution et l'incubation, nous avons observé des changements de couleurs dans les 2 fractions.

Dans le cas de la biosynthèse **des nanoparticules d'argent**, nous avons noté un changement progressif de couleur du milieu de culture vers le brun foncé, ce qui correspond à la formation d'AgNPs. Ce changement de couleur a été observé à la fois dans le culot et le surnageant avec les deux concentrations, indiquant que les AgNPs étaient présentes dans les deux fractions (Figure 27-28-29-30)

La biosynthèse des AgNPs par les bactéries peut être attribuée à la réduction des ions argent (Ag^+) en nanoparticules d'argent (AgNPs) par des enzymes telles que la nitrate réductase, présente à la fois dans le cytoplasme et la membrane cellulaire des bactéries. Cette réduction est facilitée par des composés organiques produits par les bactéries, tels que les protéines et les polysaccharides (Hieu *et al.*, 2022).



Figure 27 : Avant incubation ($\text{AgNO}_3/4\text{mmol}$)



Figure 28 : Après incubation ($\text{AgNO}_3/4\text{mmol}$)



Figure 29 : Avant incubation ($\text{AgNO}_3/2\text{mmol}$)



Figure 30 : Après incubation ($\text{AgNO}_3/2\text{mmol}$)

Pour la biosynthèse des nanoparticules de magnésium, un changement de couleur du milieu de culture vers une teinte laiteuse a été observé après incubation en présence de $MgSO_4$, indiquant la formation de **MgNPs**. Comme pour les AgNPs, ce changement de couleur a été observé dans les deux fractions, avec les deux concentrations suggérant que les MgNPs étaient également présentes dans le culot et le surnageant (Figure 31-32-33-34)

La biosynthèse des MgNPs par les bactéries implique probablement la réduction des ions magnésium (Mg^{2+}) en nanoparticules de magnésium (**MgNps**), catalysée par le sulfate réductase. Cette enzyme est également présente dans le cytoplasme et la membrane cellulaire des bactéries et utilise des composés réducteurs produits par ces dernières pour effectuer la réduction (**Wu et al., 2023**).



Figure 31 : Avant incubation ($MgSO_4/4mmol$)



Figure 32 : Après incubation ($MgSO_4/4mmol$)



Figure 33 : Avant incubation ($MgSO_4/2mmol$)



Figure 34 : Après incubation ($MgSO_4/2mmol$)

Ces résultats suggèrent que *Bacillus spp* est capable de biosynthétiser efficacement des nanoparticules métalliques en utilisant ses mécanismes métaboliques respectifs.

4.6 Purification et récupération des nanoparticules

Les étapes successives de centrifugation et de séchage ont permis d'éliminer les déchets cellulaires et récupérer les nanoparticules sous forme de culots purs (Figure 35).



Figure 35 : AgNPs sec/solution-
MgNPs sec/solution

5. Caractérisation des nanoparticules biosynthétisées

5.1 La spectrophotométrie UV-visible

Les nanoparticules métalliques peuvent être identifiées et analysées par spectrophotométrie UV-Visible. La gamme de taille entre 2 à 100 nm est généralement caractérisée par une longueur d'onde entre 200 à 800 nm (Zulfiqar et al., 2024). L'analyse par UV-Vis de deux échantillons (Figure 36) a montré :

Pour des nanoparticules d'argent (AgNPs), un pic d'absorption à 402 nm avec une absorbance de 4,45 a été observé. Ce pic correspond à la résonance plasmon de surface des AgNPs, confirmant leur synthèse.

Pour des nanoparticules de magnésium, un pic d'absorption à 329 nm avec une absorbance de 1,5 a été mesuré, également attribué à la résonance plasmon de surface. La position des pics est caractéristique de la taille et forme des nanoparticules dans chaque échantillon. L'absorbance élevée de 4,45 et 1,5 respectivement témoigne, selon la loi de Beer-Lambert où l'absorbance est proportionnelle à la concentration, d'une forte concentration en nanoparticules correspondantes dans les deux cas. En effet, plus la concentration est importante, plus la quantité de lumière absorbée est grande à la longueur d'onde de résonance plasmon, conformément à la loi de Beer-Lambert (Mayerhöfer et al., 2019).

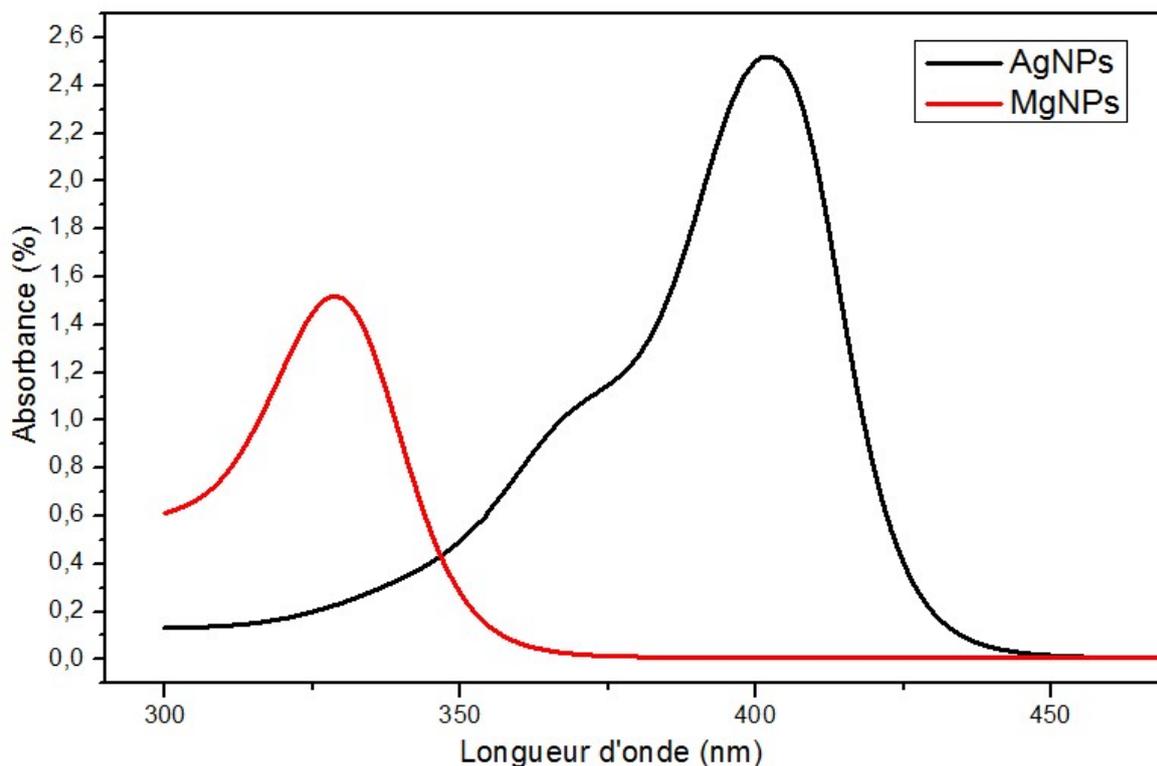


Figure 36 : Spectres d'absorption UV visible des nanoparticules d'argent et de magnésium

Ces résultats confirment donc la synthèse réussie de nanoparticules d'argent et de magnésium dans les deux échantillons analysés.

5.2 La spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

5.2.1 Les nanoparticules d'argent

Le spectre FTIR des nanoparticules d'argent (Figure 37) a montré des bandes caractéristiques à 3435 cm^{-1} , 2924 cm^{-1} et 1637 cm^{-1} correspondent respectivement aux vibrations de valence de la liaison O-H, aux élongations des liaisons C-H et à la déformation de la liaison N-H. Ces signatures spectrales caractéristiques sont attribuées à la présence d'un alcool (pic O-H intense à 3435 cm^{-1}), de chaînes carbonées (pic C-H à 2924 cm^{-1}) et potentiellement d'une amine primaire (pic N-H à 1637 cm^{-1}) utilisés comme agents réducteurs et stabilisants lors de la synthèse des nanoparticules d'argent (**Sagadevan et al., 2022**). Par conséquent, ces résultats FTIR valident avec succès la synthèse et la stabilisation de nanoparticules d'argent par des molécules organiques telles qu'un alcool, des amines ou des ligands similaires.

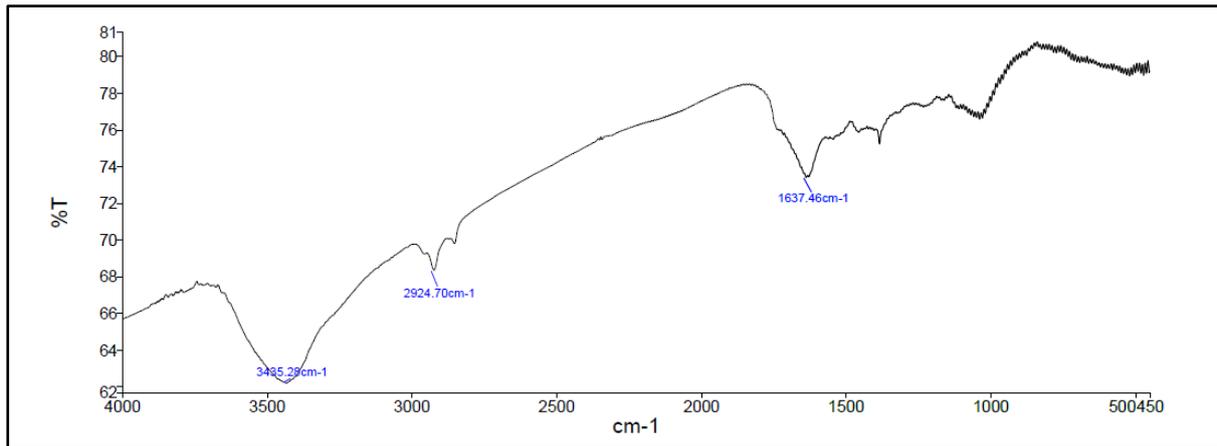


Figure 37 : Spectre FTIR de nanoparticules d'argent

5.2.2 les nanoparticules de magnésium

L'analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier a permis de caractériser les nanoparticules de magnésium synthétisées. Cette technique a mis en évidence la présence de diverses fonctions chimiques en surface grâce à l'identification de plusieurs bandes d'absorption caractéristiques (Zulfiqar et al., 2024). Les pics observés dans la figure 38 à 3436 cm⁻¹, 1633 cm⁻¹, 2092 cm⁻¹ et 666 cm⁻¹ apportent les informations suivantes : le pic à 3436 cm⁻¹ correspond à la vibration d'élongation d'un alcool O-H. Le pic à 1633 cm⁻¹ confirme la présence d'une amine jouant le rôle d'agent stabilisant. Quant au pic à 2092 cm⁻¹ pourrait provenir d'un résidu de stabilisant organique nitrile ou autre, sans certitude (Amina et al., 2020), Enfin au pic intense à 666 cm⁻¹, il caractérise la formation du cœur métallique en magnésium (Sagadevan et al., 2022). Cette analyse valide donc la synthèse de nanoparticules de structure cœur-coquille constituées d'un cœur de Mg stabilisé en surface par une amine et potentiellement des résidus organiques.

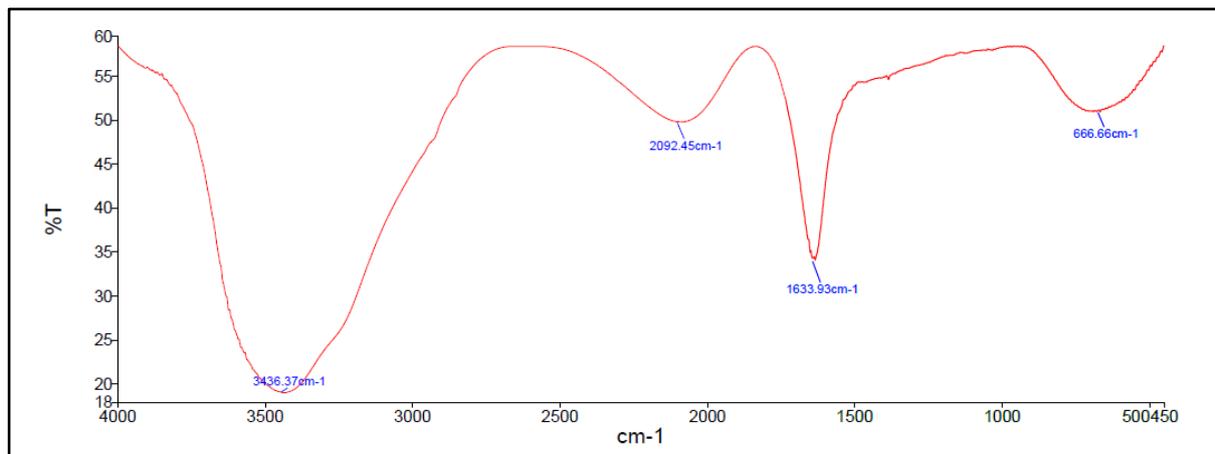


Figure 38 : Spectre FTIR de nanoparticules de magnésium

6. Activités biologiques des nanoparticules biosynthétisées

Des tests ont été effectués afin d'évaluer l'activité antibactérienne et anti-biofilm des nanoparticules d'argent (AgNPs), des nanoparticules de magnésium (MgNPs) et du mélange (AgNPs+MgNPs) récupérées de la souche E2 à cause de son meilleur rendement avec des concentrations égales et fixes, sur la souche la plus formatrice de biofilm de *Klebsiella pneumoniae* (Figure 39-40).

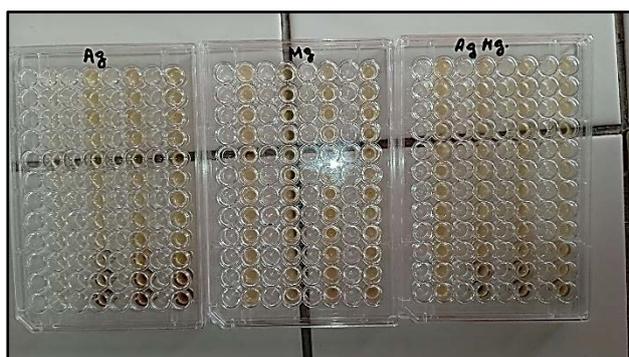


Figure 39 : Activité antibactérienne des nanoparticules biosynthétisées



Figure 40 : Activité anti-biofilm des nanoparticules biosynthétisées

6.1 Activité antibactérienne des nanoparticules biosynthétisées

6.1.1 Activité antibactérienne des nanoparticules d'argent

Dans cette étude, nous avons évalué l'activité antibactérienne des nanoparticules d'argent (AgNPs) contre *Klebsiella pneumoniae*. Nos résultats révèlent une concentration minimale inhibitrice (CMI) exceptionnellement basse à **14,64 µg/mL** pour les AgNPs, ce qui suggère un potentiel significatif dans l'inhibition de la croissance bactérienne. Cette concentration a été déterminée à partir d'une série de tests utilisant des concentrations décroissantes d'AgNPs, mettant en évidence une diminution graduelle de la densité optique (DO). Cette observation indique un effet inhibiteur croissant à des concentrations plus élevées, jusqu'à ce que la CMI soit atteinte à la concentration la plus basse testée (Figure 41)

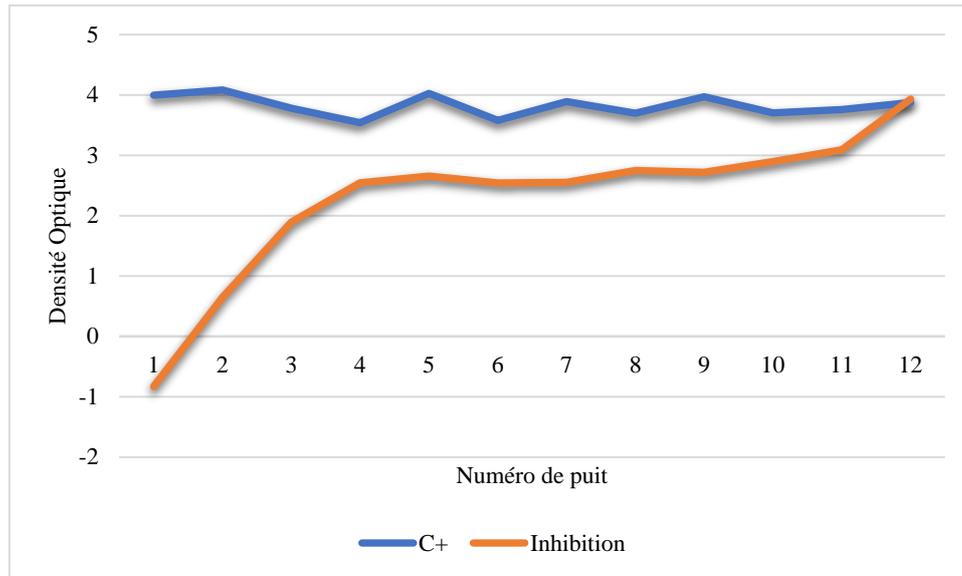


Figure 41 : Activité antibactérienne AgNPs

Comparativement, d'autres études ont également évalué l'effet des AgNPs sur *Klebsiella pneumoniae*. (Younas et al., (2023) ont rapporté une CMI de 250 µg/mL, indiquant un effet bactériostatique où la croissance bactérienne est inhibée. D'autre part, dans l'étude de (Edhari et al., 2021) ont trouvé une CMI de 31 µg/mL, où ils ont observé une efficacité bactériostatique contre les souches multi-résistantes de *Klebsiella pneumoniae* à cette concentration.

Ces divergences dans les résultats pourraient être attribuées tout d'abord, à des variations dans les méthodes expérimentales utilisées pour évaluer l'activité antibactérienne des AgNPs pourraient jouer un rôle significatif. Des différences dans les conditions de culture bactérienne, les concentrations d'AgNPs testées, les techniques de préparation des échantillons, ainsi que les paramètres de la technique elle-même pourraient tous contribuer à des résultats variables entre les études. De plus, les caractéristiques spécifiques des AgNPs biosynthétisées peuvent influencer leur efficacité contre les souches bactériennes. Des facteurs tels que la taille, la forme, la surface et la composition des AgNPs peuvent tous avoir un impact sur leurs interactions avec les micro-organismes et leur capacité à induire des effets antibactériens. Enfin, les différences observées pourraient également être attribuées aux variations dans les souches de *Klebsiella pneumoniae* testées. Les différentes souches de bactéries peuvent présenter des profils de résistance différents, ce qui peut influencer leur sensibilité aux AgNPs et contribuer aux divergences observées dans les résultats expérimentaux.

Cependant, dans notre étude, la détermination précise de la CMI fournissant des preuves solides de l'efficacité des AgNPs contre *Klebsiella pneumoniae*, offre des perspectives

prometteuses pour leur utilisation potentielle dans le développement de nouveaux agents antibactériens.

6.1.2 Activité antibactérienne des nanoparticules de magnésium

Les nanoparticules de magnésium ont émergé comme une alternative prometteuse aux antibiotiques traditionnels dans le traitement des infections bactériennes, notamment en raison de leur activité antibactérienne significative contre *Klebsiella pneumoniae* (El-Batal et al., 2022). Nos résultats montrent une inhibition totale de la croissance bactérienne à des concentrations aussi faibles que **7,32 µg/mL**, ce qui confirme l'activité antibactérienne remarquable des nanoparticules de magnésium (Figure 42).

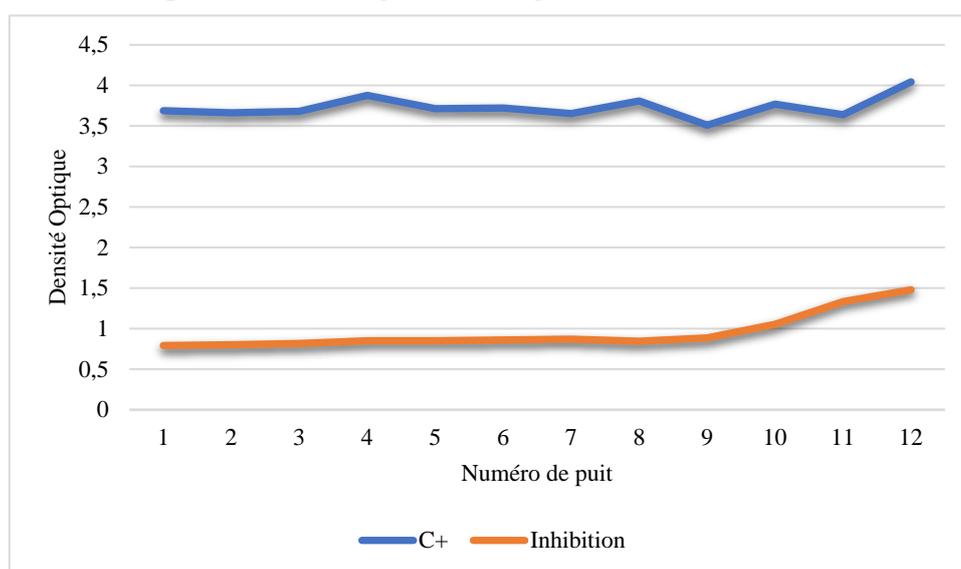


Figure 42 : Activité antibactérienne MgNPs

Les résultats de l'étude de (MubarakAli et al., 2019) ont démontré une **CMI de 12,5 µg/mL** pour les nanoparticules de magnésium contre *Klebsiella pneumoniae*, soulignant leur capacité à inhiber efficacement la croissance bactérienne.

L'étude de (El-Batal et al., 2022) a également mis en évidence l'efficacité des nanoparticules de magnésium contre différentes souches bactériennes, ce qui souligne leur polyvalence et leur potentiel en tant qu'agents antibactériens.

6.1.3 Activité antibactérienne des nanoparticules d'argent avec de magnésium

Nos résultats expérimentaux, ainsi que ceux rapportés par (Malá et al., 2021), révèlent une activité antibactérienne remarquable des nanoparticules d'argent et de magnésium (**AgNPs + MgNPs**) contre *Klebsiella pneumoniae*. Les tests ont montré une inhibition totale de la croissance bactérienne à toutes les concentrations testées, y compris à la concentration la plus faible de **7,32 µg/mL**. Cette observation suggère une activité antibactérienne puissante,

supérieure aux limites du test effectué. L'activité seule des AgNPs s'est avérée modérée contre cette bactérie (Figure 43)

Ces résultats indiquent que les nanoparticules d'argent et de magnésium pourraient être combinées pour être des agents prometteurs dans la lutte contre les infections bactériennes, en particulier celles causées par *Klebsiella pneumoniae*.

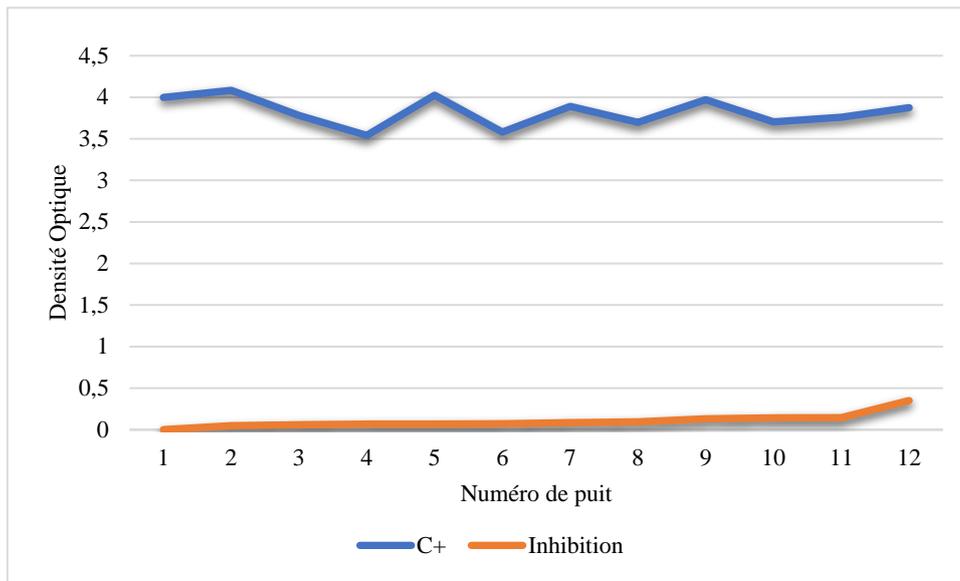


Figure 43 : Activité antibactérienne AgNPs+MgNPs

6.2 Activité anti-biofilm des nanoparticules biosynthétisées

6.2.1 Activité anti-biofilm des nanoparticules d'argent

D'après une analyse approfondie de la littérature sur l'activité anti-biofilm des nanoparticules d'argent (AgNPs) contre *Klebsiella pneumoniae*, il est clair que ces nanoparticules présentent un potentiel prometteur dans la lutte contre les biofilms formés par cette bactérie pathogène. Les études ont révélé une variabilité dans les concentrations minimales nécessaires pour inhiber ou éradiquer les biofilms de *K. pneumoniae*, ainsi que dans les temps de contact optimaux.

Tout d'abord, nos résultats montrent que pour cette souche, la concentration minimale inhibitrice de biofilm est de seulement **12,2 µg/mL**, avec un temps de contact de **15 minutes**. Cette concentration semble être efficace pour éliminer les biofilms formés par cette souche (Figure 44).

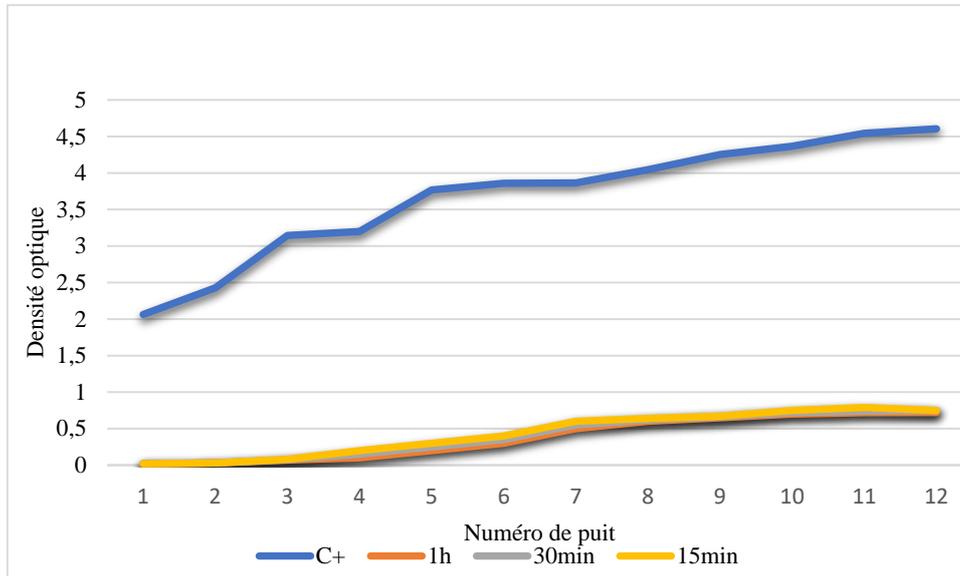


Figure 44 : Activité anti-biofilm des AgNPs

D'autre part, les travaux de **Edhari et al., (2021)** ont mis en évidence une **CMIB** de **31 µg/ml** pour une souche résistante de *K. pneumoniae*, montrant ainsi l'efficacité des **AgNPs** contre les biofilms.

Malà et ses collaborateurs ont rapporté une **CMIB** de **6,75 mg/L** pour les **AgNPs**, bien que leur efficacité seule contre *K. pneumoniae* soit modérée. Cela souligne le potentiel d'amélioration de leur activité lorsqu'ils sont combinés à d'autres molécules (**Malá et al., 2021**).

Par ailleurs, l'utilisation de nanoparticules d'argent biosynthétisées, comme décrit par **Hachem et al., (2024)**, ont montré une capacité à inhiber la formation et à éradiquer les biofilms préformés de *K. pneumoniae*, avec une **CMIB** de **62,25 µg/mL** et un temps de contact de **3 heures**.

En outre, les résultats de **Gouda et al., (2024)** suggèrent que les **AgNPs** peuvent empêcher efficacement la formation de biofilms de *K. pneumoniae* avec une concentration de **100 mg/L**, et même un court contact de **5 minutes** semble suffisant pour prévenir l'adhésion initiale de la bactérie.

Ces études mettent en lumière la diversité des approches et des résultats concernant l'utilisation des **AgNPs** contre les biofilms de *K. pneumoniae*. Il est clair que les **AgNPs** ont un

potentiel significatif pour lutter contre ces biofilms, mais des recherches supplémentaires sont nécessaires pour déterminer les concentrations optimales et les conditions de traitement pour une efficacité maximale.

Après avoir comparé les résultats de ces différentes études, il semble que l'efficacité des nanoparticules d'argent (**AgNPs**) contre les biofilms de *Klebsiella pneumoniae* varie en fonction des souches bactériennes, des concentrations utilisées et des temps de contact. Cependant, il est intéressant de noter que la concentration minimale éradicatrice de biofilm de **12,2 µg/mL**, avec un temps de contact de **15 minutes**, obtenue dans notre étude semble être plus faible que celles rapportées dans les autres travaux. Cette concentration et ce temps de contact pourraient donc être considérés comme optimaux pour éliminer efficacement les biofilms de *K. pneumoniae*

6.2.2 Activité anti-biofilm des nanoparticules de magnésium

L'analyse approfondie des résultats obtenus à partir de différentes études sur l'activité anti-biofilm des nanoparticules de magnésium (**MgNPs**) et la discussion des résultats de notre propre étude révèlent des informations précieuses sur leur efficacité potentielle contre les biofilms de *Klebsiella pneumoniae*, ainsi que sur les phénomènes complexes tels que le modèle biphasique.

Dans notre étude, une concentration minimale éradicatrice de biofilm de seulement **12,2 µg/mL**, avec un temps d'exposition de **15 minutes**, a été identifiée comme le meilleur scénario de traitement pour éliminer efficacement les biofilms formés par une souche spécifique de *K. pneumoniae*. Cependant, l'interprétation des résultats pour des temps d'exposition plus longs, tels que **30** et **60 minutes**, semble plus ambiguë, suggérant la possibilité d'erreurs expérimentales ou de phénomènes complexes comme le modèle biphasique (Figure 45)

Le modèle biphasique, un cadre théorique souvent utilisé pour décrire les réponses dose-réponse présentant deux phases distinctes en fonction de la concentration de l'agent stressant, pourrait expliquer les résultats contradictoires observés à différentes concentrations des nanoparticules de magnésium. À des concentrations plus faibles, une inhibition de la croissance ou de la survie des biofilms peut être observée, probablement due à l'activation de mécanismes de défense ou de réparation. Cependant, à des concentrations plus élevées, les effets peuvent être inversés, avec une stimulation de la croissance ou de la survie des biofilms, voire aucun effet observable, en raison de divers processus biologiques complexes (**Murado et Vázquez, 2010**).

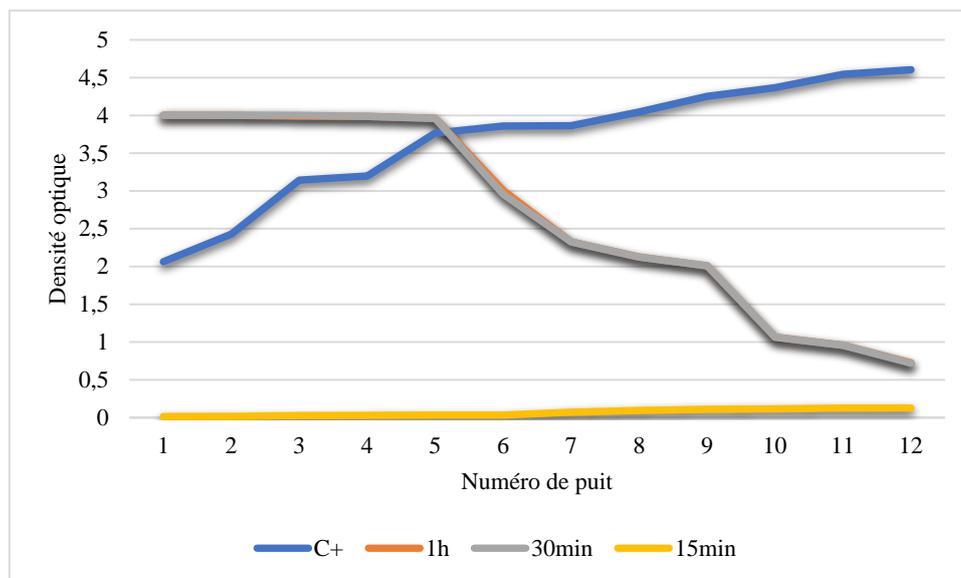


Figure 45 : Activité anti-biofilm des MgNPs

Nous suggérons que la composition des nanoparticules peut jouer un rôle crucial dans leurs effets à des concentrations élevées. Premièrement, il est important de considérer le comportement des nanoparticules à des concentrations élevées, en particulier leur tendance à l'agrégation. À des doses plus élevées, les nanoparticules ont tendance à s'agglutiner, ce qui réduit leur capacité à interagir efficacement avec les biofilms bactériens. De plus, la saturation des récepteurs des cellules bactériennes cibles par les nanoparticules peut également contribuer à leur inefficacité à forte dose. Lorsque les récepteurs sont saturés, les nanoparticules ne peuvent plus se lier aux cellules cibles de manière efficace, ce qui diminue leur activité antibactérienne et anti-biofilm. En conséquence, à des concentrations plus élevées, les effets des nanoparticules peuvent varier considérablement, allant de la stimulation de la croissance des biofilms à l'absence d'effet observable, en raison de la complexité des processus biologiques impliqués.

En outre, l'efficacité des MgNPs contre les biofilms de *K. pneumoniae* a également été documentée dans la littérature. Les études de El-Batal et al., (2022) et MubarakAli et al., (2019) ont montré que les MgNPs étaient capables de perturber la formation des biofilms et d'inhiber significativement leur viabilité, offrant ainsi une alternative prometteuse pour prévenir et traiter les infections associées aux biofilms.

En résumé, bien que les nanoparticules de magnésium présentent une activité anti-biofilm contre *K. pneumoniae*, des considérations telles que les concentrations optimales, les temps d'exposition et les phénomènes complexes comme le modèle biphasique doivent être pris en compte pour une utilisation clinique efficace de ces agents. Des recherches supplémentaires

sont nécessaires pour mieux comprendre ces aspects et optimiser l'utilisation des nanoparticules dans la lutte contre les infections bactériennes associées aux biofilms.

6.2.3 Activité anti-biofilm des nanoparticules d'argent avec de magnésium

Dans notre étude, nous avons observé une inhibition totale du biofilm de *Klebsiella pneumoniae*, même à une concentration beaucoup plus basse que **12,2 µg/mL**, pour tous les temps de contact testés. Cette observation suggère une efficacité anti-biofilm remarquable et constante de notre mélange de nanoparticules à travers différents intervalles de temps, renforçant ainsi la fiabilité de nos résultats. De plus, nous n'avons pas pu définir la concentration minimale inhibitrice de biofilm (**CMIB**) effective en raison de cette inhibition totale, soulignant ainsi la puissante activité anti-biofilm de notre mélange de nanoparticules (Figure 46).

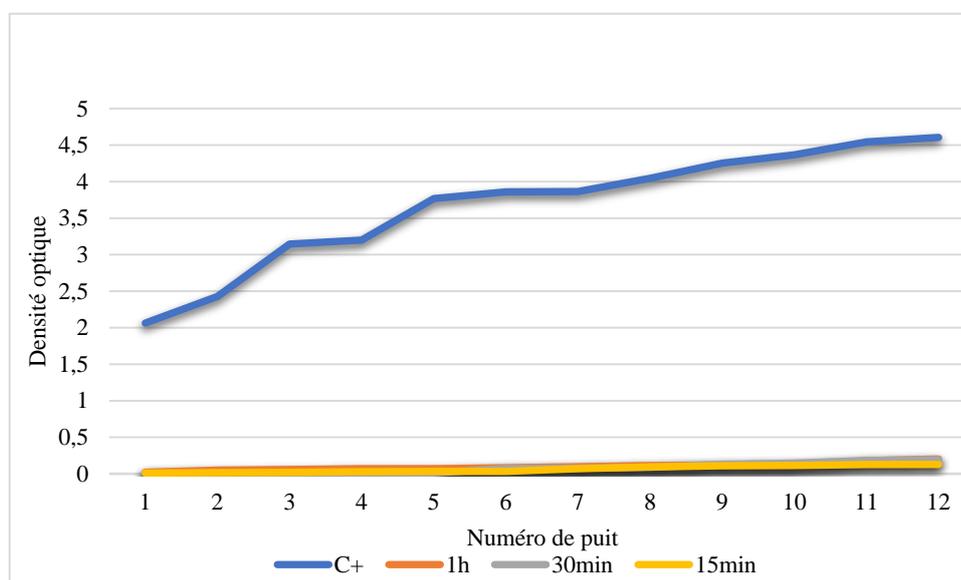


Figure 46 : Activité anti-biofilm des AgNPs+MgNPs

Sagadevan et ses collaborateurs ont mis en lumière l'effet synergique entre l'argent et le magnésium, conduisant à une production accrue d'espèces antibactériennes et à une inhibition significative de la croissance bactérienne. Cette interaction entre ces deux nanoparticules renforce leurs activité anti-biofilm par rapport aux particules individuelles, ce qui est cohérent avec nos propres observations (Sagadevan et al., 2022).

En combinant nos résultats avec ceux de Sagadevan et al., (2022), il semble que la synergie entre l'argent et le magnésium soit responsable de l'inhibition totale et constante du biofilm que nous avons observée. Cette synergie pourrait être exploitée pour développer des agents anti-biofilm plus efficaces et ciblés, ouvrant ainsi de nouvelles perspectives dans la lutte contre les

infections bactériennes, en particulier celles causées par des souches résistantes telles que *Klebsiella pneumoniae*.

CONCLUSION

En conclusion, Cette caractérisation précise des souches isolées dans les infections liées aux soins est essentielle pour une prise en charge appropriée et la mise en œuvre de mesures de prévention et de contrôle efficaces.

Les études sur la formation de biofilm ont mis en lumière l'importance de comprendre les mécanismes impliqués dans ce processus, en particulier la diversité des capacités de formation de biofilm entre les différentes espèces bactériennes. Comprendre ces mécanismes pourrait ouvrir la voie au développement de stratégies efficaces pour prévenir ou éliminer les biofilms, ayant ainsi un impact significatif sur la gestion des infections et la santé publique.

Ce travail de mémoire a permis d'évaluer le potentiel des nanoparticules biosynthétisées comme solution alternative de lutte contre les biofilms bactériens responsables d'infections liées aux soins. Les résultats obtenus ont démontré une activité antibactérienne et anti-biofilm remarquable des nanoparticules d'argent et de magnésium, en particulier contre la souche fortement formatrice de biofilm de *Klebsiella pneumoniae*, isolée à partir des prélèvements hospitaliers.

Les résultats de l'évaluation de l'activité antibactérienne et anti-biofilm des nanoparticules ont montré des perspectives prometteuses pour leur utilisation potentielle dans le développement de nouveaux agents antibactériens et anti-biofilm. La combinaison synergique des nanoparticules d'argent et de magnésium a notamment révélé une inhibition totale et constante du biofilm de *Klebsiella pneumoniae*, offrant ainsi de nouvelles perspectives dans la lutte contre les infections bactériennes résistantes.

Ce travail ouvre la voie à des futures recherches visant à mieux comprendre le mécanisme d'action des nanoparticules sur la structure du biofilm, optimiser la synthèse des nanoparticules, évaluer des traitements complémentaires aux antibiotiques, évaluer leur cytotoxicité et tester leur efficacité *in vivo* dans des modèles d'infection. L'approche développée, consistant à coupler la biosynthèse de nanoparticules au criblage de leur activité anti-biofilm, pourrait permettre de trouver de nouvelles stratégies innovantes de lutte contre les infections liées aux soins, contribuant ainsi à améliorer la prise en charge des patients et à réduire le fardeau des infections liées aux soins.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Abdu Seid, M., Mengstie, M. A., Agegnehu Teshome, A., Abdu, K., & Abteu, Y. D. (2024).** Post-operative site infections among surgical patients at Southern Ethiopia: A prospective cohort study. *Heliyon*, 10(7). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e28650>
2. **Acquier, M., De Précigout, V., Delmas, Y., Dubois, V., M'Zali, F., Zabala, A., De-La-Faille, R., Rubin, S., Cazanave, C., Puges, M., Combe, C., & Kaminski, H. (2022).** Diagnosis and treatment of catheter-related bloodstream infection in hemodialysis: 10 years later. In *Néphrologie et Thérapeutique* (Vol. 18, Issue 2, pp. 80–88). Elsevier Masson s.r.l. <https://doi.org/10.1016/j.nephro.2021.08.010>
3. **Alitonou, G., Avlessi, F., Wotto, V. D., Ahoussi, E., Dangou, J., & Sohounhloué, D. C. K. (2004).** Composition chimique, propriétés antimicrobiennes et activités sur les tiques de l'huile essentielle d'Eucalyptus tereticornis Sm. *Comptes Rendus Chimie*, 7(10–11), 1051–1055. <https://doi.org/10.1016/j.crci.2003.11.014>
4. **Alsamhary, K. I. (2020).** Eco-friendly synthesis of silver nanoparticles by *Bacillus subtilis* and their antibacterial activity. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(8), 2185–2191. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.04.026>
5. **Amina, M., Al Musayeib, N. M., Alarfaj, N. A., El-Tohamy, M. F., Oraby, H. F., Al Hamoud, G. A., Bukhari, S. I., & Moubayed, N. M. S. (2020).** Biogenic green synthesis of MgO nanoparticles using *Saussurea costus* biomasses for a comprehensive detection of their antimicrobial, cytotoxicity against MCF-7 breast cancer cells and photocatalysis potentials. *PLoS ONE*, 15(8 August). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0237567>
6. **Annappah, D., Saling, M., Prodafikas, J., & Badie, A. N. (2022).** Device-associated aortic valve endocarditis due to a complicated *Enterobacter cloacae* urinary tract infection. *IDCases*, 27. <https://doi.org/10.1016/j.idcr.2021.e01365>
7. **Asmare, Z., Erkihun, M., Abebe, W., Ashagre, A., Misganaw, T., & Feleke, S. F. (2024).** Catheter-associated urinary tract infections in Africa: Systematic review and meta-analysis. In *Infection, Disease and Health*. Australasian College for Infection Prevention and Control. <https://doi.org/10.1016/j.idh.2024.02.005>
8. **Barati, H., Fekrirad, Z., Jalali Nadoushan, M., & Rasooli, I. (2024).** Anti-OmpA antibodies as potential inhibitors of *Acinetobacter baumannii* biofilm formation, adherence to, and proliferation in A549 human alveolar epithelial cells. *Microbial Pathogenesis*, 186. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2023.106473>
9. **Ben Aissa, I., Bauer, T., Helary, G., & Migonney, V. (2009).** Polymères bactériostatiques : une nouvelle approche pour les ciments orthopédiques. *IRBM*, 30(4), 205–207. <https://doi.org/10.1016/j.irbm.2009.05.009>

10. Benahmed, A., Seghir, A., Boucherit-Otmani, Z., Tani, Z. Z. B. A. K., Aissaoui, M., kendil, W., Merabet, D. H., Lakhal, H., & Boucherit, K. (2023). In vitro evaluation of biofilm formation by *Candida parapsilosis* and *Enterobacter cloacae*. Scanning electron microscopy and efficacy of antimicrobial combinations study. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 107(1). <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2023.116003>
11. Bergeron, S., Raj, B., Nathaniel, R., Corbin, A., & LaFleur, G. (2017). Presence of antibiotic resistance genes in raw source water of a drinking water treatment plant in a rural community of USA. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 124, 3–9. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.05.024>
12. Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., Abrini, J., & Dakka, N. (2017). Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*. <https://doi.org/10.1007/s10298-017-1118-z>
13. Cangui-Panchi, S. P., Ñacato-Toapanta, A. L., Enríquez-Martínez, L. J., Reyes, J., Garzon-Chavez, D., & Machado, A. (2022). Biofilm-forming microorganisms causing hospital-acquired infections from intravenous catheter: A systematic review. *Current Research in Microbial Sciences*, 3. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2022.100175>
14. Cruz, J. N., Muzammil, S., Ashraf, A., Ijaz, M. U., Siddique, M. H., Abbas, R., Sadia, M., Saba, Hayat, S., & Lima, R. R. (2024). A review on mycogenic metallic nanoparticles and their potential role as antioxidant, antibiofilm and quorum quenching agents. In *Heliyon* (Vol. 10, Issue 8). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e29500>
15. Donskey, C. J. (2023). Empowering patients to prevent healthcare-associated infections. *American Journal of Infection Control*, 51(11), A107–A113. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2023.03.008>
16. Douarche, C., Bailleux, V., Even, C., Allain, J.-M., Regnard, C., & Raspaud, É. (2018). La mécanique des biofilms à la surface de liquides. *Reflète de La Physique*, 56, 20–24. <https://doi.org/10.1051/refdp/201856020>
17. Dousari, A. S., Hosseininasab, S. S., Akbarizadeh, M. R., Naderifar, M., & Satarzadeh, N. (2023). *Mentha pulegium* as a source of green synthesis of nanoparticles with antibacterial, antifungal, anticancer, and antioxidant applications. In *Scientia Horticulturae* (Vol. 320). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2023.112215>
18. Edhari, B. Al, Mashreghi, M., Makhdoumi, A., & Darroudi, M. (2021). Antibacterial and antibiofilm efficacy of Ag NPs, Ni NPs and Al₂O₃ NPs singly and in combination against multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 68. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2021.126840>

19. El-Batal, A. I., Al-Hazmi, N. E., Farrag, A. A., Elsayed, M. A., El-Khawaga, A. M., El-Sayyad, G. S., & Elshamy, A. A. (2022). Antimicrobial synergism and antibiofilm activity of amoxicillin loaded citric acid-magnesium ferrite nanocomposite: Effect of UV-illumination, and membrane leakage reaction mechanism. *Microbial Pathogenesis*, 164. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2022.105440>
20. Fulaz, S., Vitale, S., Quinn, L., & Casey, E. (2019). Nanoparticle–Biofilm Interactions: The Role of the EPS Matrix. In *Trends in Microbiology* (Vol. 27, Issue 11, pp. 915–926). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2019.07.004>
21. Galdiero, E., Ricciardelli, A., D’Angelo, C., de Alteriis, E., Maione, A., Albarano, L., Casillo, A., Corsaro, M. M., Tutino, M. L., & Parrilli, E. (2021). Pentadecanoic acid against *Candida albicans*-*Klebsiella pneumoniae* biofilm: towards the development of an anti-biofilm coating to prevent polymicrobial infections. *Research in Microbiology*, 172(7–8). <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2021.103880>
22. Ganz, T. (2004). Defensins: Antimicrobial peptides of vertebrates. *Comptes Rendus - Biologies*, 327(6), 539–549. <https://doi.org/10.1016/j.crvi.2003.12.007>
23. Gao, H., Sun, M., Duan, Y., Cai, Y., Dai, H., & Xu, T. (2023). Controllable synthesis of lignin nanoparticles with antibacterial activity and analysis of its antibacterial mechanism. *International Journal of Biological Macromolecules*, 246. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.125596>
24. Gebreslassie, Y. T., & Gebremeskel, F. G. (2024). Green and cost-effective biofabrication of copper oxide nanoparticles: Exploring antimicrobial and anticancer applications. In *Biotechnology Reports* (Vol. 41). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2024.e00828>
25. Gouda, M., Khalaf, M. M., Abou Taleb, M. F., & Abd El-Lateef, H. M. (2024). Fabrication of silver nanoparticles loaded acacia gum/chitosan nanogel to coat the pipe surface for sustainable inhibiting microbial adhesion and biofilm growth in water distribution systems. *International Journal of Biological Macromolecules*, 262. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.130085>
26. Gunathilaka, G. A. D. K. K., Dewasmika, W. A. P. M., Sandaruwan, U. M., Neelawala, N. G. D. A. K., Madhumali, G. E. D., Dissanayake, B. N., Priyantha, M. A. R., Prasada, D. V. P., & Dissanayake, D. R. A. (2024). Biofilm-forming ability, antibiotic resistance and phylogeny of *Escherichia coli* isolated from extra intestinal infections of humans, dogs, and chickens. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 105. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2023.102123>

27. **Hachem, Z., Kashmar, R., Abdallah, A. M., Awad, R., & Khalil, M. I. (2024).** Characterization, antioxidant, antibacterial, and antibiofilm properties of biosynthesized Ag/AgCl nanoparticles using *Origanum ehrenbergii* Boiss. *Results in Materials*, 21. <https://doi.org/10.1016/j.rinma.2024.100550>
28. **Hieu, H. N., Trang, D. T. H., Hien, V. T. T., Nghia, N. V., Lam, N. T., & Nguyen, T. M. D. (2022).** Microorganism-mediated green synthesis of silver nanoparticles using *Aspergillus niger* and *Bacillus megaterium*. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 17(1), 359–367. <https://doi.org/10.15251/DJNB.2022.171.359>
29. **Huang, G., Huang, Q., Zhang, G., Jiang, H., & Lin, Z. (2020).** Point-prevalence surveys of hospital-acquired infections in a Chinese cancer hospital: From 2014 to 2018. *Journal of Infection and Public Health*, 13(12), 1981–1987. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2020.03.003>
30. **Iseppi, R., Mariani, M., Benvenuti, S., Truzzi, E., & Messi, P. (2023).** Effects of *Melaleuca alternifolia* Chell (Tea Tree) and *Eucalyptus globulus* Labill. Essential Oils on Antibiotic-Resistant Bacterial Biofilms. *Molecules*, 28(4). <https://doi.org/10.3390/molecules28041671>
31. **Jeevanandam, J., Barhoum, A., Chan, Y. S., Dufresne, A., & Danquah, M. K. (2018).** Review on nanoparticles and nanostructured materials: History, sources, toxicity and regulations. In *Beilstein Journal of Nanotechnology* (Vol. 9, Issue 1, pp. 1050–1074). Beilstein-Institut Zur Forderung der Chemischen Wissenschaften. <https://doi.org/10.3762/bjnano.9.98>
32. **Jenkins, D. R. (2021).** Nosocomial infections and infection control. In *Medicine (United Kingdom)* (Vol. 49, Issue 10, pp. 638–642). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2021.07.007>
33. **John, M. S., Nagoth, J. A., Ramasamy, K. P., Mancini, A., Giuli, G., Miceli, C., & Pucciarelli, S. (2022).** Synthesis of Bioactive Silver Nanoparticles Using New Bacterial Strains from an Antarctic Consortium. *Marine Drugs*, 20(9). <https://doi.org/10.3390/md20090558>
34. **Joo, S. H., & Aggarwal, S. (2018).** Factors impacting the interactions of engineered nanoparticles with bacterial cells and biofilms: Mechanistic insights and state of knowledge. In *Journal of Environmental Management* (Vol. 225, pp. 62–74). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.07.084>
35. **Kadirvelu, L., Sivaramalingam, S. S., Jothivel, D., Chithiraiselvan, D. D., Karaiyagowder Govindarajan, D., & Kandaswamy, K. (2024).** A review on antimicrobial strategies in mitigating biofilm-associated infections on medical implants. In *Current Research in Microbial Sciences* (Vol. 6). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2024.100231>
36. **Kapoor, D., Maheshwari, N., Soni, N., Singhai, N. J., Sharma, M. C., Prajapati, B., Yele, S., & Maheshwari, R. (2024).** Metallic nanoparticles in cancer: Types, green synthesis,

- applications, tumor microenvironment and toxicity considerations. In *Journal of Drug Delivery Science and Technology* (Vol. 92). Editions de Sante.
<https://doi.org/10.1016/j.jddst.2023.105307>
- 37. Khadanga, V., & Mishra, P. C. (2024).** A review on toxicity mechanism and risk factors of nanoparticles in respiratory tract. In *Toxicology* (Vol. 504). Elsevier Ireland Ltd.
<https://doi.org/10.1016/j.tox.2024.153781>
- 38. Khan, I., Saeed, K., & Khan, I. (2019).** Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. In *Arabian Journal of Chemistry* (Vol. 12, Issue 7, pp. 908–931). Elsevier B.V.
<https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.05.011>
- 39. Knisely, A., Iniesta, M. D., Marten, C. A., Chisholm, G., Schmeler, K. M., & Taylor, J. S. (2024).** Metronidazole and cefazolin versus cefazolin alone for surgical site infection prophylaxis in gynecologic surgery at a comprehensive cancer center. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2024.03.043>
- 40. Kumar, V., Kaushik, N. K., Tiwari, S. K., Singh, D., & Singh, B. (2023).** Green synthesis of iron nanoparticles: Sources and multifarious biotechnological applications. In *International Journal of Biological Macromolecules* (Vol. 253). Elsevier B.V.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.127017>
- 41. Lebeloane, M. M., Famuyide, I. M., Dzoym, J. P., Adeyemo, R. O., Makhubu, F. N., Elgorashi, E. E., Kgosana, K. G., & McGaw, L. J. (2024).** Influence of selected plant extracts on bacterial motility, aggregation, hydrophobicity, exopolysaccharide production and quorum sensing during biofilm formation of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *South African Journal of Botany*, 167, 197–208. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2024.02.022>
- 42. Lequien, V. (2009).** Care-related infections in home-hospitalization. *Option/Bio*, 420, 22–23.
[https://doi.org/10.1016/s0992-5945\(09\)70172-2](https://doi.org/10.1016/s0992-5945(09)70172-2)
- 43. Li, P., Zhou, Y., Guo, G., Qin, X., Hu, Z., Li, M., Tan, Z., Liu, Y., Han, X., Ma, J., Du, H., & Zhang, W. (2024).** Efficacy of a new K3-specific bacteriophage for controlling *Klebsiella pneumoniae* in milk and its potential to disrupt biofilm formation. *Food Control*, 163.
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2024.110519>
- 44. Lin, J. Y., Zhu, Z. C., Zhu, J., Chen, L., & Du, H. (2024).** Antibiotic heteroresistance in *Klebsiella pneumoniae*: Definition, detection methods, mechanisms, and combination therapy. In *Microbiological Research* (Vol. 283). Elsevier GmbH.
<https://doi.org/10.1016/j.micres.2024.127701>

45. Liu, F., Jin, P., Sun, Z., Du, L., Wang, D., Zhao, T., & Doyle, M. P. (2021). Carvacrol oil inhibits biofilm formation and exopolysaccharide production of *Enterobacter cloacae*. *Food Control*, 119. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107473>
46. Lordelo, R., Branco, R., Gama, F., & Morais, P. V. (2024). Assessment of antimicrobial resistance, biofilm formation, and surface modification potential in hospital strains of *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae*. *Heliyon*, 10(9). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e30464>
47. Lu, L., Zhao, Y., Li, M., Wang, X., Zhu, J., Liao, L., & Wang, J. (2024). Contemporary strategies and approaches for characterizing composition and enhancing biofilm penetration targeting bacterial extracellular polymeric substances. In *Journal of Pharmaceutical Analysis* (Vol. 14, Issue 4). Xi'an Jiaotong University. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2023.11.013>
48. Malá, Z., Žárská, L., Bajgar, R., Bogdanová, K., Kolář, M., Panáček, A., Binder, S., & Kolářová, H. (2021). The application of antimicrobial photodynamic inactivation on methicillin-resistant *S. aureus* and ESBL-producing *K. pneumoniae* using porphyrin photosensitizer in combination with silver nanoparticles. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 33. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2020.102140>
49. Mayerhöfer, T. G., Pipa, A. V., & Popp, J. (2019). Beer's Law-Why Integrated Absorbance Depends Linearly on Concentration. *ChemPhysChem*, 20(21), 2748–2753. <https://doi.org/10.1002/cphc.201900787>
50. McFadden, R., Quinn, J., Buchanan, F., Carson, L., Acheson, J. G., McKillop, S., & Chan, C. W. (2023). An effective laser surface treatment method to reduce biofilm coverage of multiple bacterial species associated with medical device infection. *Surface and Coatings Technology*, 453. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2022.129092>
51. Morikane, K. (2024). Epidemiology and prevention of surgical site infection in Japan. In *Journal of Hospital Infection* (Vol. 146, pp. 192–198). W.B. Saunders Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2023.10.027>
52. MubarakAli, D., Manzoor, M. A. P., Sabarinathan, A., Anchana Devi, C., Rekha, P. D., Thajuddin, N., & Lee, S. Y. (2019). An investigation of antibiofilm and cytotoxic property of MgO nanoparticles. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 18. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101069>
53. Murado, M. A., & Vázquez, J. A. (2010). Biphasic toxicodynamic features of some antimicrobial agents on microbial growth: A dynamic mathematical model and its implications on hormesis. *BMC Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-10-220>

54. Musk, D. J., Banko, D. A., & Hergenrother, P. J. (2005). Iron salts perturb biofilm formation and disrupt existing biofilms of *Pseudomonas aeruginosa*. *Chemistry and Biology*, 12(7), 789–796. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2005.05.007>
55. Muthuchamy, M., Govindan, R., Shine, K., Thangasamy, V., Alharbi, N. S., Thillaichidambaram, M., Khaled, J. M., Wen, J. L., & Alanzi, K. F. (2020). Anti-biofilm investigation of graphene/chitosan nanocomposites against biofilm producing *P. aeruginosa* and *K. pneumoniae*. *Carbohydrate Polymers*, 230. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115646>
56. Namakka, M., Rahman, M. R., Said, K. A. M. Bin, Abdul Mannan, M., & Patwary, A. M. (2023). A review of nanoparticle synthesis methods, classifications, applications, and characterization. In *Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management* (Vol. 20). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2023.100900>
57. Nasrollahian, S., Moradi, F., Hadi, N., Ranjbar, S., & Ranjbar, R. (2024). An update on alternative therapy for *Escherichia coli* causing urinary tract infections; a narrative review. In *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* (Vol. 46). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2024.104075>
58. Nguyen, S., Dufosse, F., Dekeyser, S., & Descamps, D. (2011). Bactériémies et Programme de médicalisation des systèmes d'information: valorisation financière de l'infectiologue à l'hôpital. *Medecine et Maladies Infectieuses*, 41(7), 384–389. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2011.02.014>
59. Nyabadza, A., McCarthy, É., Makhesana, M., Heidarinasab, S., Plouze, A., Vazquez, M., & Brabazon, D. (2023). A review of physical, chemical and biological synthesis methods of bimetallic nanoparticles and applications in sensing, water treatment, biomedicine, catalysis and hydrogen storage. In *Advances in Colloid and Interface Science* (Vol. 321). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2023.103010>
60. Percival, S. L., Suleman, L., Vuotto, C., & Donelli, G. (2015). Healthcare-Associated infections, medical devices and biofilms: Risk, tolerance and control. In *Journal of Medical Microbiology* (Vol. 64, Issue 4, pp. 323–334). Microbiology Society. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000032>
61. Pourmadadi, M., Holghoomi, R., shamsabadipour, A., Maleki-baladi, R., Rahdar, A., & Pandey, S. (2024). Copper nanoparticles from chemical, physical, and green synthesis to medicinal application: A review. In *Plant Nano Biology* (Vol. 8). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.plana.2024.100070>

62. Prakash, A., Sharma, S., Ahmad, N., Ghosh, A., & Sinha, P. (2011). Synthesis of Agnps By Bacillus Cereus Bacteria and Their Antimicrobial Potential. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 02(02), 155–161. <https://doi.org/10.4236/jbnb.2011.22020>
63. Rathinam, P., Antony, S., Reshmy, R., Madhavan, A., Binod, P., Pandey, A., & Sindhu, R. (2022). Biosurfactant as an intervention for medical device associated infections. In *Green Sustainable Process for Chemical and Environmental Engineering and Science: Biomedical Application of Biosurfactant in Medical Sector* (pp. 451–465). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85146-6.00007-3>
64. Römling, U., Kjelleberg, S., Normark, S., Nyman, L., Uhlin, B. E., & Åkerlund, B. (2014). Microbial biofilm formation: A need to act. In *Journal of Internal Medicine* (Vol. 276, Issue 2, pp. 98–110). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/joim.12242>
65. Sagadevan, S., Anita Lett, J., Murugan, B., Fatimah, I., Garg, S., Motalib Hossain, M. A., Mohammad, F., Al-Lohedan, H. A., & Rafie Johan, M. (2022). Comparative studies of the biological efficacies of Ag and Ag-MgO nanocomposite formed by the green synthesis route. *Inorganic Chemistry Communications*, 135. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2021.109082>
66. Saravanan, M., Barik, S. K., MubarakAli, D., Prakash, P., & Pugazhendhi, A. (2018). Synthesis of silver nanoparticles from Bacillus brevis (NCIM 2533) and their antibacterial activity against pathogenic bacteria. *Microbial Pathogenesis*, 116, 221–226. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.01.038>
67. Shkodenko, L., Kassirov, I., & Koshel, E. (2020). Metal oxide nanoparticles against bacterial biofilms: Perspectives and limitations. In *Microorganisms* (Vol. 8, Issue 10, pp. 1–21). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8101545>
68. Simon-Deckers, A. (2009). *Biological effects of manufactured nanoparticles : influence of their characteristics*. <https://pastel.hal.science/pastel-00004918>
69. Tacconelli, E., Cataldo, M. A., Mutters, N. T., Carrara, E., Bartoloni, A., Raglio, A., Cauda, R., Mantengoli, E., Luzzaro, F., Pan, A., Beccara, L. A., Pecile, P., Tinelli, M., & Rossolini, G. M. (2019). Role of place of acquisition and inappropriate empirical antibiotic therapy on the outcome of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae infections. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 54(1), 49–54. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2019.04.007>
70. Vysakh, A., Midhun, S. J., Jayesh, K., Jyothis, M., & Latha, M. S. (2018). Studies on biofilm formation and virulence factors associated with uropathogenic Escherichia coli isolated from patient with acute pyelonephritis. *Pathophysiology*, 25(4), 381–387. <https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2018.07.004>

71. Watkin, S., Ciric, L., Kiernan, M., & Cloutman-Green, E. (2023). A proposed classification system for opportunistic pathogens for improved healthcare infection prevention and control risk assessments. In *Journal of Hospital Infection* (Vol. 135, pp. 206–207). W.B. Saunders Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2023.03.008>
72. Weber, D. J., Rutala, W. A., Anderson, D. J., & Sickbert-Bennett, E. E. (2023). Biofilms on medical instruments and surfaces: Do they interfere with instrument reprocessing and surface disinfection. *American Journal of Infection Control*, 51(11), A114–A119. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2023.04.158>
73. Williams, D. L., Kawaguchi, B., Taylor, N. B., Allyn, G., Badham, M. A., Rogers, J. C., Peterson, B. R., Sebahar, P. R., Haussener, T. J., Reddy, H. R. K., Isaacson, B. M., Pasquina, P. F., & Looper, R. E. (2020). In vivo efficacy of a unique first-in-class antibiofilm antibiotic for biofilm-related wound infections caused by *Acinetobacter baumannii*: Antibiofilm Antibiotic for Wound-Related Infection. *Biofilm*, 2. <https://doi.org/10.1016/j.biofilm.2020.100032>
74. Wu, P., Zhang, B., Nai, X., Liu, X., Dong, Y., & Li, W. (2023). Durable self-cleaning superhydrophobic coatings based on 5 Mg(OH)₂·MgSO₄·2H₂O whisker-SiO₂ nanoparticles composites. *Applied Surface Science*, 622. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2023.156940>
75. Yin, I. X., Zhang, J., Zhao, I. S., Mei, M. L., Li, Q., & Chu, C. H. (2020). The antibacterial mechanism of silver nanoparticles and its application in dentistry. In *International Journal of Nanomedicine* (Vol. 15, pp. 2555–2562). Dove Medical Press Ltd. <https://doi.org/10.2147/IJN.S246764>
76. Younas, M., Rasool, M. H., Khurshid, M., Khan, A., Nawaz, M. Z., Ahmad, I., & Lakhan, M. N. (2023). Moringa oleifera leaf extract mediated green synthesis of silver nanoparticles and their antibacterial effect against selected gram-negative strains. *Biochemical Systematics and Ecology*, 107. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2023.104605>
77. Zulfiqar, Z., Khan, R. R. M., Summer, M., Saeed, Z., Pervaiz, M., Rasheed, S., Shehzad, B., Kabir, F., & Ishaq, S. (2024). Plant-mediated green synthesis of silver nanoparticles: Synthesis, characterization, biological applications, and toxicological considerations: A review. In *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* (Vol. 57). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2024.103121>

ANNEXES

Annexe 1



Figure 47 : Prélèvements

Annexe 2

Tableau 4 : Des données relatives aux prélèvements

Prélèvements	Types de dispositifs médicaux	Sexe du patient	Durée d'utilisation	Service d'origine
Prélèvement 01	Sonde urinaire	Femme	03 jours	Maternité
Prélèvement 02	Sonde urinaire	Femme	03 jours	Maternité
Prélèvement 03	Sonde urinaire	Femme	03 jours	Maternité
Prélèvement 04	Sonde urinaire	Femme	03 jours	Maternité
Prélèvement 05	Sonde urinaire	Femme	03 jours	Maternité
Prélèvement 06	Sonde urinaire	Femme	03 jours	Maternité
Prélèvement 07	Sonde urinaire	Femme	03 jours	Maternité
Prélèvement 08	Sonde urinaire	Femme	03 jours	Maternité
Prélèvement 09	Sonde urinaire	Femme	03 jours	Maternité
Prélèvement 10	Sonde urinaire	Femme	03 jours	Maternité
Prélèvement 11	Sonde urinaire	Femme	03 jours	Maternité
Prélèvement 12	Sonde urinaire	Femme	03 jours	Maternité
Prélèvement 13	Sonde urinaire	Femme	03 jours	Maternité

Prélèvement 14	Sonde urinaire	Femme	03 jours	Maternité
Prélèvement 15	Sonde urinaire	Homme	02 jours	Chirurgie A
Prélèvement 16	Sonde urinaire	Femme	02 jours	Maternité
Prélèvement 17	Sonde urinaire	Femme	02 jours	Maternité
Prélèvement 18	Sonde urinaire	Femme	02 jours	Maternité
Prélèvement 19	Cathéter	Homme	02 jours	Traumatologie
Prélèvement 20	Sonde urinaire	Femme	02 jours	Traumatologie
Prélèvement 21	Cathéter	Homme	04 jours	Traumatologie
Prélèvement 22	Cathéter	Homme	10 jours	Urgences
Prélèvement 23	Sonde urinaire	Homme	01 jour	Urgences
Prélèvement 24	Cathéter	Femme	07 jours	Infectiologie
Prélèvement 25	Cathéter	Femme	03 jours	Infectiologie

Annexe 3

➤ **Brain Heart Infusion Broth (BHIB)**

Est un bouillon de culture liquide contenant des extraits de cerveau et de cœur de bovin comme sources de nutriments, il apporte une large gamme de nutriments comme des acides aminés, vitamines, sels minéraux permettant la croissance d'un large spectre de bactéries. C'est un milieu non sélectif, dit « riche » car favorisant une croissance riche et abondante dans de bonnes conditions.

➤ **Gélose Mac Conkey (MCA)**

Est un milieu d'isolement sélectif et de différenciation destiné à la recherche des entérobactéries (dont *Escherichia coli*), à partir de prélèvements d'origines diverses (clinique, alimentaire, pharmaceutique...).

➤ **Gélose Cétrimide (CET)**

Permet la recherche et l'isolement sélectif de *Pseudomonas aeruginosa* (bacille pyocyanique) à partir de produits biologiques (selles, urines, pus ...) en bactériologie médicale.

➤ **Gélose nutritive (GN)**

Est un milieu non sélectif contenant des extraits de cervelle et de cœur de bœuf comme source de nutriments. C'est un milieu universel permettant la croissance de la plupart des bactéries. Elle est couramment utilisée comme milieu d'isolement initial et pour le dénombrement bactérien.

➤ **Préparation des milieux de cultures**

Dans le cadre de cette étude, le protocole rigoureux suivant a été pour la préparation du milieu de culture. Tout d'abord, la poudre de milieu selon les recommandations fournies (**BHIB :37g/l ; MCA :52g/l ; CET : 46.7/g ; GN : 28g/l**) a été pesée avec précision en utilisant une balance de précision. Ensuite, un litre d'eau distillée a été mesuré à l'aide d'une éprouvette graduée, en veillant à respecter les mesures exactes. Par la suite, un erlenmeyer a été placé sur une plaque chauffante agitatrice et la quantité d'eau mesurée dans le récipient a été ajoutée. En utilisant un barreau magnétique, le mélange a été soigneusement agité pour assurer une dissolution homogène de la poudre de milieu dans l'eau. Progressivement, le reste de l'eau a été rajoutée tout en continuant l'agitation jusqu'à ce que la poudre soit entièrement dissoute. Le mélange a ensuite été laissé chauffer jusqu'à ce qu'il atteigne le point d'ébullition, confirmant ainsi la préparation du milieu. Une fois le milieu prêt, la solution a été transférée dans des flacons stériles adaptés à l'autoclave, en s'assurant de bien les fermer pour éviter toute contamination. Enfin, les flacons ont été placés dans l'autoclave et le cycle de stérilisation a été lancé pour garantir l'élimination de toute forme de vie microbienne présente dans le milieu. Cette méthodologie précise et méthodique a permis de préparer un milieu de culture optimal pour les expériences à venir.

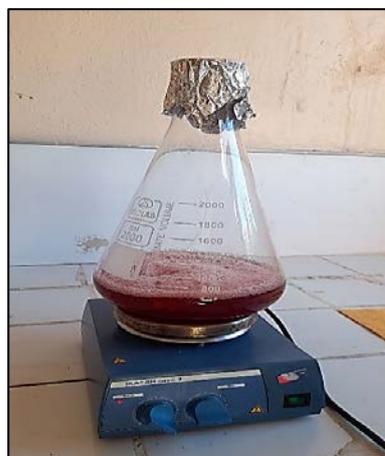


Figure 48 : Préparation de milieu de culture

Annexe 4

Tableau 5 : Préparation et l'inoculation de la galerie API20E

Type de l'API	Caractéristiques	Préparation Galerie/inoculum	Inoculation de la galerie	Lecture	Identification
API 20^E	<ul style="list-style-type: none"> - Comporte 20 tests - Destinée aux entérobactéries et à autre bacilles à Gram négatif. 	<ul style="list-style-type: none"> -Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 mL d'eau distillée et dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide -Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation - Faire une suspension bactérienne : cultures jeune dans un tube contenant 5 mL d'eau distillée stérile. 	<ul style="list-style-type: none"> - Remplir les tubes et les cupules des tests : CIT, VP, GEL avec la suspension bactérienne ; - Remplir uniquement les tubes des autres tests ; - Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H₂S en remplissant leur cupule d'huile de paraffine ; - Refermer la boîte d'incubation et la placer à 37°C pendant 18 à 24 heures. 	<ul style="list-style-type: none"> - Lecture directe ou après addition de réactifs : se référant au tableau de lecture spécifique à chaque API ; - Les tests sont regroupés en groupe de 3, et une valeur (1, 2 ou 4) est indiquée pour chacun. Additionner à l'intérieur de chaque groupe les nombres correspondants aux tests positifs. Un nombre à 7 chiffres est obtenu, il sert de code d'identification. 	<ul style="list-style-type: none"> -L'identification est obtenue à l'aide d'un logiciel d'identification apiweb TM. Enter manuellement au clavier le profil numérique à 7 chiffres

Annexe 5

Tableau 6 : Fiche technique des galeries API20E

Noms du tests	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	Biotypes
Réaction (+/-)	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	7145553
Réaction (+/-)	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1205773
Réaction (+/-)	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0205773
Réaction (+/-)	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	7215773
Réaction (+/-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	0005043
Réaction (+/-)	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	0205053
Réaction (+/-)	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	7305573

Réaction (+/-)	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	3103633
----------------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---------

Annexe 6

Tableau 7 : Capacité de formation de biofilm dans chaque microplaque DOt=0.045

Souches bactériennes	Densité optique (DO)	Capacité de formation de biofilm
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0.296	Fortement
<i>Escherichia coli</i>	0.227	Fortement
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0.309	Fortement
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0.283	Fortement
<i>Enterobacter cloacae.</i>	0.182	Fortement
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0.192	Fortement
<i>Enterobacter cloacae.</i>	0.21	Fortement

Souches bactériennes	Densité optique (DO)	Capacité de formation de biofilm
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0.299	Fortement
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0.494	Fortement
<i>Enterobacter cloacae.</i>	0.279	Fortement
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0.158	Modérément
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0.211	Fortement
<i>Escherichia coli</i>	0.228	Fortement
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0.236	Fortement

Souches bactériennes	Densité optique (DO)	Capacité de formation de biofilm
<i>Escherichia coli</i>	0.238	Fortement
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0.238	Fortement

<i>Escherichia coli</i>	0.274	Fortement
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0.301	Fortement
<i>Enterobacter cloacae</i> .	0.359	Fortement
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0.222	Fortement
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0.436	Fortement

Souches bactériennes	Densité optique (DO)	Capacité de formation de biofilm
<i>Enterobacter cloacae</i> .	0.277	Fortement
<i>Escherichia coli</i>	0.248	Fortement

Annexe 7

Voici le Poster de ma participation au 5ème Séminaire National MGBIR entre Étudiant et Investisseur. Cela s'est tenu le 06 Mai 2024 Université ABOU BEKR BELKAID de Tlemcen, Algérie.

Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen
Faculté des sciences de la nature et de la vie,
Des sciences de la terre et de l'univers
Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, et à l'Environnement
« LAMAABE »

L'INHIBITION DE LA FORMATION DE BIOFILM DES BACTERIES A GRAM NEGATIF D'ORIGINE HOSPITALIERE PAR DES AGENTS BIOACTIFS

CHOUIKHI Nedjma Djaïe ; Directrice de Mémoire Dr. Bellifa-Benammar Samia
Niveau: M2 Microbiologie Fondamentale, Email : nedjiwchouikhi94@gmail.com

Introduction
Les infections liées aux soins représentent un problème majeur de santé publique touchant des millions de patients chaque année. Ces infections sont principalement contractées lors de la mise en place de dispositifs médicaux. Un des facteurs clés impliqués dans ces infections nosocomiales est la formation de biofilms[1]. Pour lutter contre ces biofilms l'utilisation de nanoparticules produites de manière biologique par les micro-organismes [2].

Problématique
La résistance aux antibiotiques nécessite d'identifier de nouvelles approches thérapeutiques capables d'inhiber spécifiquement la formation de biofilm.

Objectifs
Isoler des souches bactériennes à Gram négatif des dispositifs médicaux contaminés caractériser leurs capacités à former des biofilms
- Evaluer le potentiel inhibiteur des Nps bio-synthétisées sur ces biofilms bactériens.

Matériels et méthodes
I. Evaluation de la capacité de formation de biofilm des souches bactériennes
II. Biosynthèse des nanoparticules d'argent et de magnésium et évaluation de leurs activités antibactériennes et antibiofilm
1. Préparation des souches productrices des nanoparticules
2. Production des bio-synthétisés
3. Biosynthèse des nanoparticules
4. Récupération des nanoparticules (Centrifugation + Séchage)
5. Activité biologique des nanoparticules sur la souche fortement formatrice de Biofilm

Résultats
1. Prélèvement et Isolation
25 Dispositifs médicaux (cathéters et sondes urinaires)
23 Souches bactériennes isolées
2. Purification et Identification
3. Formation de biofilm
4. Biosynthèse des nanoparticules 5. Récupération des nanoparticules
6. Activité biologique des nanoparticules

Identification
23 Souches bactériennes isolées

- Escherichia coli* : 05 Souches
- Klebsiella pneumoniae* : 11 Souches
- Enterobacter cloacae* : 02 Souches
- Acinetobacter baumannii* : 02 Souches

Capacité de formation de Biofilm

Nombre de Souches	Capacité de formation de Biofilm
10 Souches	Faiblement formatrices
12 Souches	Modérément Formatrices
01 Souche (<i>A. baumannii</i>)	Fortement Formatrice

Activité antibactérienne

Activité antibiofilm

Conclusion
Cette étude a permis d'isoler et de caractériser des souches bactériennes de matériel médical contaminé. L'évaluation de leur capacité de former de biofilm a mis en évidence une souche très performante. Par ailleurs, les tests quantitatifs ont montré un potentiel prometteur des nanoparticules bio-synthétisées pour éradiquer le biofilm. Ces résultats ouvrent la voie à de nouvelles stratégies de lutte contre les infections liées aux soins.

Perspectives
-Elaboration de traitements complémentaires aux antibiotiques pour prévenir la formation de biofilm.
-Compréhension approfondie des mécanismes d'action de ces nanomatériaux sur la structure des biofilms.

Références
[1] Jenkins, D. R. (2021). Nosocomial infections and infection control. *Medicine*, 49(10), 438-442.
[2] Shindekar, L., Kanare, I., & Keshab, E. (2020). *Metal ion nanoparticles against bacterial biofilms: Perspectives and limitations*. *Nanotechnology*, 49(30), 1545.

RESUMES

Abstract

Healthcare-associated infections are a major issue affecting millions of patients. They are mainly contracted during medical procedures requiring devices. The formation of biofilm on the surfaces of medical devices shelters bacteria in a protective matrix and is a key factor in the development of these infections. In order to fight these biofilms, new approaches are explored such as the use of nanoparticles biosynthesized by microorganisms. The objective of this study was to isolate Gram-negative bacterial strains from medical devices collected from 25 patients, characterize their ability to form biofilm and test the inhibition of this biofilm by biosynthesized nanoparticles. 23 Gram-negative strains were isolated and identified from clinical samples. The analysis of their ability to form biofilm revealed 20 highly producing strains and one moderately producing strain. Silver and magnesium nanoparticles were biosynthesized by microorganisms. The tests showed remarkable antibacterial and anti-biofilm activity of these nanoparticles against the highest biofilm-producing strain. These promising results underline the interest of biosynthesized nanoparticles as an alternative treatment against infections associated with bacterial biofilms. This study opens encouraging perspectives in the fight against healthcare-associated infections. Keywords: Biofilm, Gram-negative bacteria, Medical devices, Nanoparticles.

ملخص

تعد العدوى المرتبطة بالرعاية الصحية مشكلة كبرى تؤثر على ملايين المرضى. وتنتقل هذه العدوى بشكل أساسي أثناء الإجراءات الطبية التي تتطلب استخدام الأجهزة. يوفر تكوين الأغشية البكتيرية على أسطح الأجهزة الطبية ملجأ للبكتيريا داخل مصفوفة واقية وهو عامل مهم في تطور هذه العدوى. ولمحاربة هذه الأغشية، تم اكتشاف مناهج جديدة مثل استخدام الجزيئات النانوية المتخلقة حيويًا من قبل الميكروبات. كان الهدف من هذه الدراسة عزل سلالات بكتيرية سالبة الغرام من الأجهزة الطبية لـ 25 مريضًا، وتوصيف قدرتها على تكوين أغشية بكتيرية واختبار تثبيطها. تم عزل 23 سلالة وتحديد هويتها. أظهر التحليل 20 سلالات منتجة واحدة منتجة بدرجة معتدلة. تم تخليق جزيئات نانوية من الفضة والمغنسيوم. أظهرت الاختبارات نشاط مضاد للبكتيريا والأغشية تجاه السلالة الأكثر إنتاجًا. تسلط هذه النتائج الواعدة الضوء على فعالية الجزيئات النانوية المتخلقة حيويًا. تفتح الدراسة آفاقًا في مكافحة عدوى الرعاية الصحية

الكلمات المفتاحية: أغشية بكتيرية، بكتيريا سالبة الغرام، أجهزة طبية، جزيئات نانوية.

Résumé

Les infections liées aux soins sont un problème majeur touchant des millions de patients. Elles sont principalement contractées lors d'actes médicaux nécessitant des dispositifs. La formation de biofilm sur les surfaces des dispositifs médicaux abrite les bactéries dans une matrice protectrice et constitue un facteur clé dans le développement de ces infections. Afin de lutter contre ces biofilms, de nouvelles approches sont explorées telles que l'utilisation de nanoparticules biosynthétisées par des micro-organismes. L'objectif de cette étude était d'isoler des souches bactériennes à Gram négatif à partir de dispositifs médicaux prélevés de 25 patients, de caractériser leur capacité à former un biofilm et de tester l'inhibition de ce biofilm par les nanoparticules biosynthétisées. 23 souches à Gram-négatives ont été isolées et identifiées à partir des prélèvements cliniques. L'analyse de leur capacité à former un biofilm a révélé 20 souches fortement productrices et une souche modérément formatrice. Des nanoparticules d'argent et de magnésium ont été biosynthétisées par des micro-organismes. Les tests ont montré une remarquable activité antibactérienne et anti-biofilm de ces nanoparticules envers la souche la plus productrice de biofilm. Ces résultats prometteurs soulignent l'intérêt des nanoparticules biosynthétisées comme une alternative de lutte contre les infections associées aux biofilms bactériens. Cette étude ouvre des perspectives encourageantes dans la lutte contre les infections liées aux soins.

Mots clés : Biofilm, Bactéries à Gram négatif, Dispositifs médicaux, Nanoparticules.